



**UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU**

-----  
**UNITE DE FORMATION ET DE RECHERCHE**  
**SCIENCE DE LA VIE ET DE LA TERRE**

**LABORATOIRE DE BIOLOGIE MOLECULAIRE**  
**ET DE GÉNÉTIQUE MOLÉCULAIRE**  
**(LABIOGENE)**

## **Mémoire Présenté**

**Par : TRAORE Mah Alima Esther**

Pour l'obtention du Master II  
de Biologie Moléculaire et de Génétique Moléculaire Appliquées  
de l'Université de Ouagadougou

**SUR LE THEME:**

### **Caractérisation moléculaire des Papillomavirus Humains à haut risque dans les coupes histologiques de lésions précancéreuses de haut grade du col de l'utérus à Ouagadougou**

Soutenu le 29 Juillet devant le jury composé de :

Président : **Professeur Jacques SIMPORE**, Professeur Titulaire, Université de Ouagadougou

Membres : **Docteur Charlemagne C.M.R OUEDRAOGO**, Maître de Conférences agrégé, Université de Ouagadougou

**Docteur Florencia W. DJIGMA**, Assistante, Université de Ouagadougou

## ***Préface du Coordonnateur du Master BIOGEMA***

*De nos jours, les connaissances avancées en génétique et biologie moléculaires sont incontournables pour conduire des études de hautes valeurs ajoutées en sciences biologiques. Les outils de la Biologie moléculaire ont permis d'accomplir de grands progrès dans le domaine du diagnostic, de la pharmacie, de la thérapeutique, de l'agriculture et même dans l'aide à la justice par l'identification humaine. Les Universités et les laboratoires de recherche des Pays membres de l'UEMOA dans leur grande majorité, restent arrimés aux pays et laboratoires de recherche du Nord pour leurs besoins en recherches et activités en génétique et biologie moléculaires. Cet état de fait est lié au déficit en personnel qualifié et le manque de ressources financières et matériel pour conduire les recherches en local in situ. Cela a pour conséquence, une non maîtrise de la finalité ainsi que de l'utilisation des résultats et produits des recherches que nous conduisons, une surenchère du coût des examens et des études en biologie et génétique moléculaires. Un autre corollaire et non des moindres de cet état de fait est la fuite de capitaux mais également la fuite des cerveaux car les étudiants les plus compétents envoyés dans les pays du Nord ont tendance à y rester.*

*Le master en Biologie Moléculaire et en Génétique Moléculaire Appliquées (BioGeMA) a pour but de combler le vide constaté dans l'expertise en génétique et biologie moléculaires par la mise à disposition des pays de l'espace UEMOA, de personnels qualifiés, de haut niveau de compétences pour conduire des études et recherches en génétique et biologie moléculaires.*

*Le master BioGeMA est :*

- ✓ Un Master à dimension sous-régionale*
- ✓ Géré par un réseau de chercheurs et praticiens en génétique et biologie moléculaires*
- ✓ Soutenu par une plateforme technologique sous-régionale à LABIOGENE*

*Ce Master a pour objectif de former des biologistes, des pharmaciens, des vétérinaires et des médecins biologistes capables d'effectuer des diagnostics biomoléculaires dans des centres hospitaliers et d'élaborer des études d'investigations dans des structures de recherches. En outre, il ouvrira la porte d'études doctorales aux meilleurs étudiants pour permettre la formation de chercheurs et d'enseignants-chercheurs afin d'assurer la relève du corps enseignants, la constitution d'une masse critique d'experts africains et la mise en place d'un véritable réseau africain de recherche dans le domaine ci-dessus cité.*




**Professeur Jacques SIMPORE**

Professeur Titulaire de Biologie Moléculaire  
et de Génétique Moléculaire

UFR/SVT - École Doctorale Sciences et Te

## DEDICACES

Je dédie ce travail :

-  A mon Père TRAORE Si Simon et à ma Mère SORE Djènèba, pour votre amour, votre confiance, votre soutien, et vos encouragements.
  
-  A mes Frères, Sœurs, Parents et Amis pour votre soutien moral, matériels et pour vos encouragements tout au long de ces années.
  
-  A tous ceux, qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

## REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique (LABIOGENE de l'UFR-SVT), au Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA) et au Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo (CHU-YO).

Nous exprimons notre profonde gratitude :

- au Professeur **Jacques SIMPORE**, Professeur Titulaire de Biologie moléculaire et de Génétique, Directeur du CERBA, Directeur de l'Université Saint Thomas D'Aquin (USTA), Directeur de ce mémoire. Malgré ces multiples responsabilités, vous nous avez fait le grand honneur de nous encadrer et avec tout le soutien moral et matériel ;
- au Professeur **LOMPO/GOUMBRI Olga Mélanie**, Professeur titulaire d'Anatomie et Cytologie pathologique, chef de service du Laboratoire d'Anatomie et Cytologie pathologique du CHU-YO, pour avoir pris toutes les dispositions nécessaires et nous avoir permis de travailler dans de meilleures conditions ;
- au Docteur **Charlemagne C.M.R OUEDRAOGO**, Maître de conférences agrégé à l'Université de Ouagadougou, médecin gynécologue et président de l'ordre des médecins du Burkina, pour avoir accepté de juger notre travail et pour le temps qu'il a consacré à ce document.
- au Docteur **Florencia DJIGMA**, assistante à l'Université de Ouagadougou, pour avoir accepté de juger notre travail et pour le temps qu'elle a consacré à ce document, pour son encadrement et ses conseils si précieux tout au long de ce master ;
- au Docteur **Djénèba OUERMI**, maître assistante à l'Université de Ouagadougou, pour son encadrement de qualité et ses conseils ;
- au Docteur **Théodora M. ZOHONCON**, pour son encadrement technique au laboratoire avec rigueur, sa haute supervision, sa présence, son soutien et son aide inestimable qu'elle nous a témoigné tout au long de ce travail jusqu'à la réalisation de ce document;
- à mes compagnons de travail, **Prosper BADO** et **Clarisse OUEDRAOGO**, pour le sacrifice dont chacun a fait preuve pour la bonne marche de ce travail ;
- au père **Albert YONLI**, au Docteur **Issouf TAO**, et à tous les doctorants du CERBA/LABIOGENE pour leur participation à la réalisation de ce travail ; particulièrement **COMPAORE Rebecca**, **DOUAMBA Zoenabo**, **SOUBEIGA Serge**, **OUATTARA Aboul Karim**, **TRAORE Ina**, et **BAZIE Valérie**.

- à tout le personnel du laboratoire d'Anatomie Pathologie du CHU-YO et particulièrement au Docteur **OUATTARA Souleymane**, au Major **TAPSOBA Issa** et surtout à **M. ILBOUDO Nouffou** pour leur disponibilité ;
- à tous nos enseignants du Master BioGéMA pour leur encadrement de qualité;
- à toute la promotion du Master 2014 ;
- à l'Union Economique et Monétaire Ouest Africaine (UEMOA) pour le soutien financier du master BioGeMa à travers le programme PACER2 ;
- à toutes celles et tous ceux qui ont contribué au bon déroulement de ce travail et qui n'ont pas pu être cités nommément.

## RESUME

**Contexte** : Le cancer du col de l'utérus est l'un des rares cancers humains évitables. En effet, sa prévention repose sur le diagnostic très précoce des lésions bénignes ou précancéreuses dont le traitement rend en principe impossible le développement d'un cancer. C'est dans ce but que les tissus archivés qui sont une richesse inestimable pour les études rétrospectives, particulièrement dans le domaine de la biologie moléculaire et de la génétique, ont été retenus pour cette étude rétrospective.

**Méthodes** : environ 5 sections de 15 à 20 µm ont été découpés au niveau des tissus archivés fixés au formol et enrobés de paraffine. Ces sections ont ensuite été transportés au laboratoire du CERBA pour l'extraction de l'ADN à l'aide du kit « FFPE DNA Purification » de NORGEN BIOTEK Corporation. Nous avons ensuite déterminé les génotypes des HPV à haut risque par PCR multiplexe en temps réel, à l'aide du kit d'amplification SACACE permettant de caractériser 14 génotypes HPV à haut risque oncogène.

**Résultats** : sur 119 échantillons de tissus cervicaux, 76 (63,9%) ont été qualifiés d'inadéquats, 21 (17,6%) se sont révélés HPV positif, et 22 (18,5) HPV négatif. Les génotypes caractérisés dans ces lésions de haut grade étaient : HPV 39 (21,7%), HPV 35 (13%), HPV 45 (13%), HPV 33 (8,7%), HPV 51 (8,7%), HPV 52 (8,7%), HPV 56 (8,7%), HPV 18 (4,3%), HPV 59 (4,3%), HPV 68 (4,3%). Deux cas d'infection multiple entre HPV 39-45 et HPV 39-59 ont été observés. Le HPV 16 n'a pas été détecté dans cette étude.

**Conclusion** : nous avons noté une prévalence élevée de HPV 39, HPV 35 et HPV 45 ; nous avons aussi remarqué que la prévalence à HPV 18 fait partie des prévalences les plus basses de cette étude et HPV 16 est simplement absent.

**Mots clés** : HPV-HR, CIN 2,3, PCR multiplexe en temps réel, col de l'utérus, Burkina Faso.

## SAMMURY

**Background:** The cervical cancer is one of the few preventable human cancers. Indeed, its prevention is based on the very early diagnosis of benign or precancerous lesions of treatment in principle makes possible the development of a cancer. It is for this purpose that archived tissues that are an invaluable asset for retrospective studies, especially in the field of molecular biology and genetics, were selected for this retrospective study.

**Methods:** about 5 sections of 15 to 20 µm were cut at archived formalin-fixed tissues and paraffin-embedded. These sections were then transported to the laboratory "CERBA" for the DNA extraction with the kit "FFPE DNA Purification" of NORGEN BIOTEK Corporation. We then determined by multiplex PCR in real time, with the amplification kit SACACE to characterize genotypes 14 HPV high-risk oncogenic.

**Results:** Of 119 samples of cervical tissue, 76 (63.9%) were classified inadequate, 21 (17.6%) were positive HPV, and 22 (18.5) negative HPV. The genotypes characterized in these high-grade lesions were: HPV 39 (21.7%), HPV 35 (13%), HPV 45 (13%), HPV 33 (8.7%), HPV 51 (8.7%), HPV 52 (8.7%), HPV 56 (8.7%), HPV 18 (4.3%), HPV 59 (4.3%), and HPV 68 (4.3%). Two coinfection cases between HPV 39-45 and HPV 39-59 were observed.

**Conclusion:** we noted a high prevalence of HPV 39, HPV 35 and HPV 45; we also noticed that the prevalence HPV 18 is one of the lowest prevalence of this study and HPV 16 is simply missing.

**Keywords:** HR-HPV, CIN 2,3, multiplex real time PCR, cervix, Burkina Faso.



## TABLE DES MATIERES

DEDICACES .....	i
REMERCIEMENTS .....	ii
RESUME.....	iv
SAMMURY .....	v
TABLE DES MATIERES .....	vi
LISTE DES FIGURES .....	ix
LISTE DES TABLEAUX .....	ix
LISTE DES ABREVIATIONS .....	x
INTRODUCTION.....	1
1    Revue Bibliographique.....	2
1.1    Généralités sur le papillomavirus humain.....	2
1.1.1    Définition.....	2
1.1.2    Historique .....	2
1.1.3    Organisation structurale et génomique des HPV .....	3
1.1.4    Classification des HPV .....	6
1.1.5    La transmission du HPV .....	7
1.1.6    Cycle de multiplication virale du HPV.....	8
1.1.7    La carcinogénèse .....	10
1.1.8    La réponse immunitaire et l'infection à HPV.....	11
1.1.9    Epidémiologie des infections liées au HPV.....	12
1.2    Les lésions précancéreuses du cancer du col de l'utérus .....	13
1.2.1    Structure du col de l'utérus.....	13
1.2.2    Dénominations des lésions du col de l'uterus.....	14
1.2.3    Classification des lésions précancéreuses du col de l'utérus.....	14
1.2.4    Caractéristiques cliniques .....	16
1.2.5    Traitement des lésions précancéreuses .....	17

1.2.6	La prévention des lésions précancéreuses .....	18
1.3	Diagnostic des infections à HPV et des lésions du col de l'utérus .....	19
1.4	Le cancer invasif du col de l'utérus .....	21
1.4.1	Histoire naturelle .....	21
1.4.2	Classification du cancer invasif du col .....	22
1.4.3	Traitement du cancer du col utérin .....	23
2	Objectifs de l'étude .....	21
2.1	Objectif principal .....	21
2.2	Objectifs spécifiques .....	21
3	Matériel et méthodes .....	22
3.1	Cadre de l'étude .....	22
3.2	Matériel .....	23
3.2.1	Réactifs .....	23
3.2.2	Appareillage.....	23
3.2.3	Autres matériels .....	23
3.3	Méthodes.....	23
3.3.1	Type et période d'étude .....	23
3.3.2	Population d'étude .....	23
3.3.3	La collecte des échantillons .....	24
3.3.4	L'extraction de l'ADN.....	24
3.3.5	L'amplification de l'ADN par la PCR en temps réel .....	26
3.3.6	Analyse des données.....	28
3.3.7	Considérations éthiques .....	28
4	Résultats .....	29
4.1	Caractéristiques des échantillons collectés .....	29
4.2	Résultats de l'histologie et de la PCR en temps réel .....	30
4.3	Distribution des génotypes HPV .....	31

4.3.1	Fréquence des différents génotypes de HPV retrouvés .....	31
4.3.2	Relation entre le diagnostic histologique et le génotype du HPV-HR .....	32
4.4	Distribution des génotypes HPV dans les cas d'infections multiples.....	35
4.5	Répartition du portage du HPV-HR en fonction de la tranche d'âge .....	36
4.6	Etude sur le portage de différents génotypes HPV et la tranche d'âge.....	37
4.7	Répartition du nombre de génotypes HPV-HR par tranche d'âge et le résultat histologique.....	37
4.8	Relation entre le résultat histologique, la tranche d'âge, et le portage de génotype HPV-HR.....	38
5	Discussion .....	39
CONCLUSION .....		44
PERSPECTIVES.....		44
BIBLIOGRAPHIE .....		45

## LISTE DES FIGURES

Figure 1: Représentation atomique et schématique de HPV .....	3
Figure 2: Représentation schématique du génome du papillomavirus humain 16 (HPV 16) ....	4
Figure 3: Figure 1: Arbre phylogénétique de 118 types de papillomavirus construit selon l'analyse de séquences partielles du gène L1 .....	7
Figure 4: Représentation l'utérus .....	13
Figure 5: Evolution histologique des lésions précancéreuses du col de l'utérus .....	16
Figure 6: Histoire naturelle de l'infection à HPV et du cancer du col de l'utérus .....	21
Figure 7: Prévalence des infections HPV-HR selon les résultats adéquats.....	31
Figure 8: Fréquence des génotypes HPV-HR .....	32
Figure 9: Distribution des génotypes HPV-HR et intervenant dans les cas d'infections multiples .....	36
Figure 10: Portage du génotype HPV selon la tranche d'âge .....	37
Figure 11: Répartition du nombre de génotypes HPV-HR par tranche d'âge et résultat histologique .....	38

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Propriétés biologiques des des protéines de HPV-HR.....	5
Tableau II: Différentes terminologies employées pour le compte rendu des résultats de la cytologie et de l'histologie .....	14
Tableau III: Caractéristiques démographiques et type de prélèvement des échantillons.....	29
Tableau IV: Résultats histologique et PCR.....	30
Tableau V: Diagnostic histologique de CIN 2 et portage de HPV-HR.....	33
Tableau VI: Diagnostic histologique de CIN 2 à 3 et portage de HPV-HR.....	34
Tableau VII: Diagnostic histologique de CIN 3 et portage HPV-HR .....	35
Tableau VIII: Répartition HPV et tranche d'âge .....	36
Tableau IX: Relation entre résultat histologique, tranche d'âge et HPV .....	39

## LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
ARN	Acide Ribonucléique
ARV	Anti Rétro Viraux
ASC-H	Atypical Squamous Cell Hight grade
ASC-US	Atypical Squamous Cell of Undetermined Significance
CERBA	Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni
CHU-YO	Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo
CIN	Cervical Intaepithelial Neoplasia
CRPV	Cottontail Rabbit Papillomavirus
E	Early
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
FFPE	Formalin-fixed and paraffin-embedded
HLA	<i>Human Leukocyte Antigen</i>
HPV	Human Papillomavirus
HPV-HR	Papillomavirus Humain à haut risque
HSIL	high grade squamous intraepithelial lesion
IARC	International Agency for Research on Cancer
IST	Infection sexuellement transmissible
IVA	Inspection visuelle à l'acide acétique
IVL	Inspection visuelle au lugol
L	Late
LABIOGENE	Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique
LCR	Long Control Region
LIEBG	Lésion intraépithéliale épidermoïde de bas grade
LIEHG	Lésion intraépithéliale épidermoïde de haut grade
LSIL	Low grade squamous intraepithelial lesion
NCI	Néoplasie Cervicale Intra-épithéliale
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PCR	Polymerase Chain Reaction
POL	Phases Ouvertes de Lecture
PTME	Programme de Prévention de la Transmission mère enfant du VIH

PVH	Papillomavirus Humain
UEMOA	Union Economique et Monétaire Ouest Africaine
USTA	Université Saint Thomas d'Aquin
VHB	Virus de l'Hépatite B
VHC	Virus de l'Hépatite C
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VLP	<i>virus-like particles</i>

# INTRODUCTION

## **INTRODUCTION**

Les Papillomavirus Humain (PVH) ou *Human Papillomavirus* en anglais (HPV) sont impliqués dans le cancer du col de l'utérus, les cancers de la sphère ano-génitale et oropharyngée, les lésions bénignes telles que les condylomes acuminés et les verrues (Monsonogo, 2006).

L'infection génitale due aux HPV est considérée comme l'infection sexuellement transmissible (IST) la plus fréquente au monde, avec 660 millions de personnes infectées selon l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS, 2007). A l'échelle mondiale, le cancer du col de l'utérus représente la deuxième cause de mortalité par cancer chez les femmes après le cancer du sein (Hessel, 2009). En Afrique sub-saharienne, le cancer du col de l'utérus est le premier cancer de la femme et est la cause la plus commune de mortalité attribuée au cancer (Anorlu, 2008).

L'incidence annuelle mondiale du cancer du col de l'utérus est de 493 000 et 80% des femmes atteintes vivent dans les pays en développement. De même, parmi les 250 000 femmes qui en décèdent chaque année, 80% vivent dans les pays en développement (OMS, 2007) (Ly, 2009).

Les HPV-HR jouent un rôle très important dans l'apparition des cancers. Les lésions précancéreuses précèdent l'apparition du cancer (Monsonogo, 2010). Le fait que les lésions soient la conséquence ultime de l'infection chronique à HPV procure l'opportunité de les prévenir par la vaccination (Monsénégo, 2007). Le cancer du col de l'utérus est l'un des rares cancers humains évitables. En effet, sa prévention repose sur le diagnostic très précoce des lésions bénignes ou précancéreuses dont le traitement rend en principe impossible le développement d'un cancer (Monsonogo, 2006).

Les deux vaccins sur le marché sont efficaces contre les génotypes HPV 6, 11, 16 et 18 ; les génotypes HPV 16 et 18 sont les plus fréquemment retrouvés dans les cas de cancer du col de l'utérus dans le monde et notamment en Europe. Mais cette généralité ne concerne pas forcément l'Afrique et particulièrement le Burkina Faso, qui n'a pas encore pu exposer une carte claire comportant les génotypes circulants, malgré les nombreuses études réalisées à ce jour.

Pour ce travail, nous nous sommes intéressés aux lésions précancéreuses du col de l'utérus de haut grade, pour savoir lesquelles sont provoquées par le HPV et le génotype incriminé. Pour



cela, nous avons choisi d'étudier les tissus archivés au niveau du service d'anatomie pathologie du CHU/YO de Ouagadougou. Ces tissus constituent un moyen très intéressant de mener des études rétrospectives sur plusieurs années. La difficulté réside dans la qualité des échantillons et le faible taux d'acide désoxyribonucléique (ADN) qu'ils contiennent. Les tissus collectés entre 2009 et 2015 ont été recherchés et vérifiés avec nos critères.

# **REVUE BIBLIOGRAPHIQUE**

# **1 Revue Bibliographique**

## **1.1 Généralités sur le papillomavirus humain**

### **1.1.1 Définition**

Les papillomavirus humains ou HPV (Human Papilloma Virus) sont des virus nus (sans enveloppe) de petite taille (45 à 55 nm de diamètre) appartenant à la famille des *Papovaviridae* (Duport, 2008). Ce sont des virus très résistants aux conditions environnementales, et physicochimiques, à savoir le froid, les solvants organiques et les détergents. Ils sont particulièrement peu sensibles à la chaleur ou encore au chlore utilisé dans les piscines. Les HPV sont des virus ubiquitaires, très anciens et très stables, et qui ont évolués avec leurs hôtes respectifs (Coursaget and Touze, 2006). Ils sont épithéliotropes et infectent les épithéliums cutanés et muqueux (Monsénégo, 2007).

### **1.1.2 Historique**

En 1933, Shope et Hurst ont isolé l'ADN de CRPV (Cottontail Rabbit Papillomavirus) à partir d'une verrue de lapin, mettant en évidence le lien entre les papillomes cutanés observés chez les lapins et une infection virale. Par la suite, les papillomavirus humains (HPV) ont été découverts, à l'origine de tumeurs épithéliales bénignes : les papillomes cutanés (verrues) et muqueux (condylomes acuminés).

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

Dans les années 1980, l'attention s'est portée progressivement vers le HPV, avec de solides évidences issues de la biologie moléculaire impliquant certains types de virus comme agents responsables de la transformation cellulaire (Monsénégo, 1988). C'est à l'équipe de H. Zur Hausen que revient le mérite d'avoir isolé le HPV de type 16 associé à de nombreux cas de cancer du col de l'utérus (zur Hausen, 2009). En 1983, il découvre au sein de cellules cancéreuses de l'utérus, un nouveau type de papillomavirus, le HPV 16. En 1984, il clone cette souche ainsi que le HPV 18. Le risque relatif de l'association entre le HPV et le cancer du col de l'utérus est de 2 à 3 fois plus élevé que celui d'autres facteurs de risque puissants de cancer (Bosch and de Sanjose, 2003).

En 1995, l'IARC (International Agency for Research on Cancer) classe les HPV-16 et 18 comme agents carcinogènes chez les humains (IARC, 1995).

### 1.1.3 Organisation structurale et génomique des HPV

La capside des HPV est disposée selon une symétrie icosaédrique et elle est constituée de 72 capsomères d'une protéine majeure (54kDa) et d'une protéine mineure (43-50kDa). La figure 1 représente la structure du HPV.

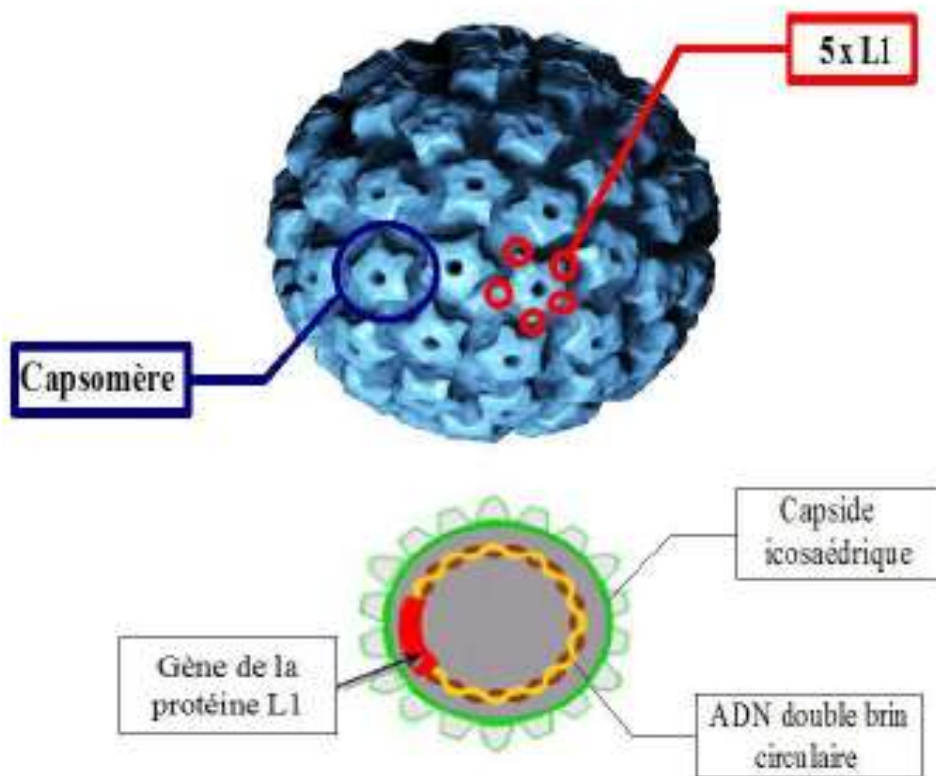


Figure 1: Représentation atomique et schématique de HPV

Source : (Modis et *al.*, 2002)

Le génome viral est constitué d'un ADN double brin circulaire, super-enroulé, d'environ 8000 paires de bases. Les séquences codant les protéines virales sont regroupées sur un seul brin d'ADN en phases ouvertes de lecture (POL). Les POL sont groupées:

- en une région précoce E (pour Early), codant pour des protéines non structurales impliquées dans la réplication de l'ADN viral (E1 et E2), la régulation de l'expression

des gènes viraux (E2), la formation des virions (E4) qui est responsable des modifications du cytosquelette associées au trafic intracellulaire des constituants viraux et qui est exprimée tout au long de la différenciation cellulaire, et pour les HPV à haut risque seulement, dans des phénomènes de carcinogénèse on a les protéines E5, E6, et E7 (Alain *et al.*, 2010);

- et en une région tardive L (pour Late), codant pour les protéines de la capsid. L1 et L2 sont les protéines de structure de la capsid. Lorsqu'elle est exprimée *in vitro*, seule ou en association avec L2, la protéine L1 s'auto-assemble pour former des pseudo-particules virales. Les protéines de structure L1 et L2, permettant l'assemblage des particules virales et l'encapsulation de l'ADN viral, sont exprimées dans les zones différenciées plus ou moins kératinisées selon l'épithélium.

Il existe une région non codante appelée LCR (long control region) qui contient principalement des séquences régulatrices de la réplication et de la transcription virale (Aubin *et al.*, 2003) (Monsonogo, 2006). La figure 2 montre la représentation schématique du génome du HPV 16.

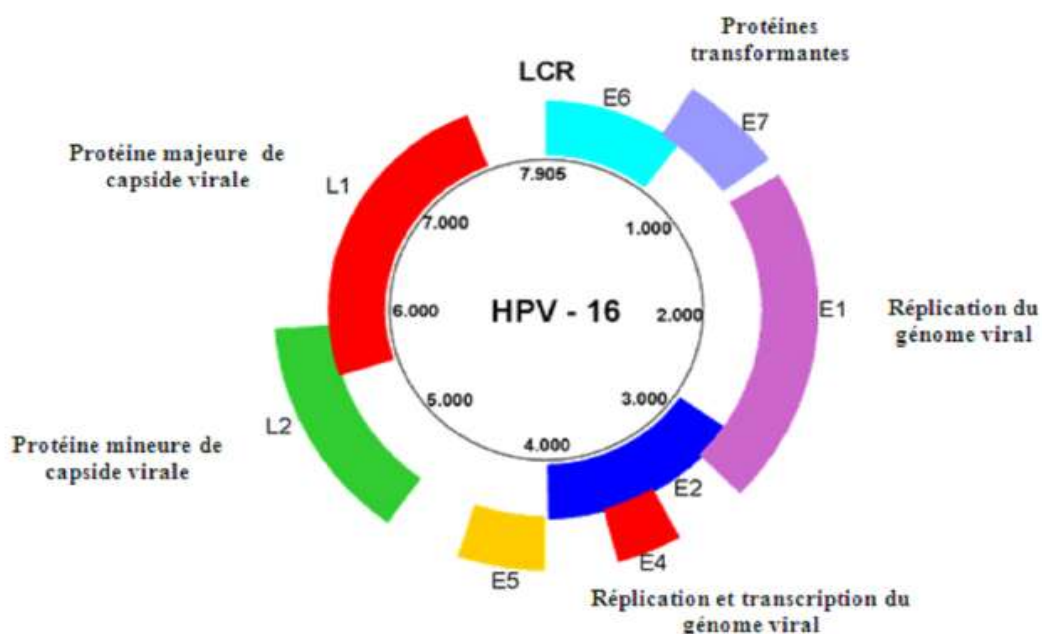


Figure 2: Représentation schématique du génome du papillomavirus humain 16 (HPV 16)

Source : (Monsonogo, 2006)

Les principales propriétés biologiques des protéines des papillomavirus à haut risque codées par les différentes POL (Monsonogo, 2006) (Monsénégo, 2007) sont résumées dans le tableau I.

Tableau I: Propriétés biologiques des des protéines de HPV-HR

Source : (Aubin et *al.*, 2003) (Monsonego, 2006) (Monsénégo, 2007)

<b>Protéine</b>	<b>Fonction</b>
E1	Activation de la réplication de l'ADN viral
E2	Localisation nucléaire: Activation de la réplication de l'ADN viral en synergie avec E1 Répression de la transcription de E6 et E7
	Localisation cytoplasmique: Induction d'apoptose, d'instabilités génomiques
E3	Pas de fonction connue
E4	Maturation des virions, facilite l'encapsidation du génome
E5	Stimulation de la prolifération cellulaire
E6	Protéine oncogène: favorise la dégradation de p <sup>53</sup> par le protéasome
E7	Protéine oncogène: favorise la dégradation de la protéine de susceptibilité au rétinoblastome p <sup>105Rb</sup>
E8	Pas de fonction connue
L1	Protéine majeure de capsid
L2	Protéine mineure de capsid

#### 1.1.4 Classification des HPV

Plus de 120 génotypes de papillomavirus humains ont été identifiés au cours des 20 dernières années. En 2004, 118 génotypes ont été totalement caractérisés et séquencés (de Villiers et al., 2004) représenté selon l'arbre phylogénétique sur la figure 3. Un grand nombre de représentants de cette famille (au moins 100) resterait encore à identifier. Les papillomavirus sont des virus ubiquitaires, très anciens et très stables, qui ont évolué avec leurs hôtes respectifs (Riethmuller et al., 2008). Les génotypes sont classés en fonction de leur tropisme (peau, muqueuses) et de leur potentiel oncogène.

Deux grandes classes de papillomavirus humains sont répertoriées :

- Les HPV préférentiellement associés aux lésions cutanées. Les HPV de types 1 et 4 par exemple sont fréquemment retrouvés dans les verrues, alors que les HPV de types 5 et 8 sont incriminés dans l'épidermodysplasie verruciforme.
- Les HPV infectant les muqueuses anogénitales (col utérin, vulve, vagin, pénis et anus), oropharyngées et œsophagiennes.

Parmi la quarantaine de virus ayant ce tropisme, certains sont dits à bas risque ou à faible potentiel oncogène : c'est le cas des HPV 6 et 11 communément retrouvés dans les condylomes génitaux, alors que d'autres sont dits à haut risque : c'est le cas des HPV 16 et 18 impliqués dans la carcinogenèse du col utérin. Dans ce dernier groupe, sont aussi inclus des HPV dits à risque intermédiaire, il s'agit des HPV 31, 33, 35, 51,52, et 58, fréquemment détectés dans les lésions anogénitales (Riethmuller et al., 2002) (Bradley and Krishnansu, 2007).

Par ailleurs, les HPV à haut risque ont été mis en évidence dans 80 à 90% des cancers du canal anal, 60% des cancers du vagin, 50% des cancers de la vulve, 40% des cancers du pénis. Et ils ont été identifiés dans presque tous les épithéliums muqueux : bouche, larynx, trachée, sinus, conjonctives, œsophage, etc.

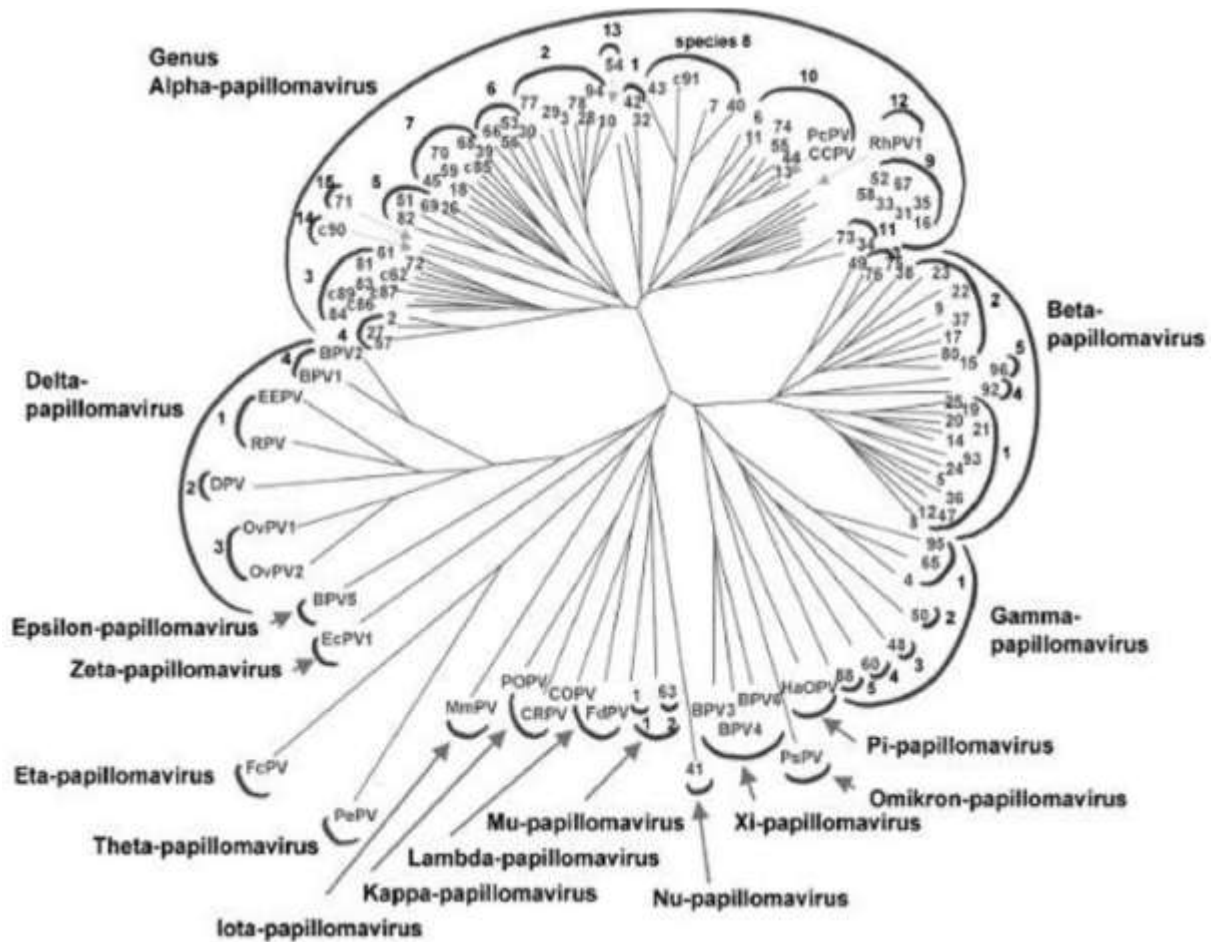


Figure 3: Figure 1: Arbre phylogénétique de 118 types de papillomavirus construit selon l'analyse de séquences partielles du gène L1

Source : (de Villiers et al., 2004)

**Légende :** Les types viraux représentés seulement par un numéro à la fin de chaque branche correspondent aux papillomavirus humains (exemple : 18 = HPV 18). Les types viraux sont regroupés en espèces et les espèces sont regroupées en différents genres viraux. Les papillomavirus humains (HPV) à haut risque appartiennent au genre Alpha-.

### 1.1.5 La transmission du HPV

L'infection par un HPV peut se transmettre, via différents contacts, à travers les micro abrasions de l'épiderme ou des muqueuses. La transmission se fait par contact direct avec des revêtements cutanés ou muqueux lésés, du sujet lui-même (l'auto-inoculation des verrues est favorisée par le grattage) ou d'une autre personne atteinte (hétéro-inoculation) (Agius, 2006). La transmission peut également être indirecte, par contact avec des objets (vêtements,



serviettes de toilette, draps...) et surfaces contaminées (piscines et douches favorisent la propagation des verrues plantaires). La transmission via les lésions ano-génitales se fait, quant à elle, principalement par voie sexuelle, plaçant les infections à HPV parmi les trois plus fréquentes infections sexuellement transmissibles (IST) avec l'herpès génital et les infections à *Chlamydia trachomatis* (DGS-CTV, 2008). Tout acte sexuel sans pénétration est aussi associé à un risque d'infection par les HPV. La transmission oro-génitale est également démontrée (Kjaer et al., 2001). Les HPV ont un tropisme exclusif pour les épithéliums malpighiens pluristratifiés comme la peau et les muqueuses génitales ou buccales. Doués d'une grande spécificité d'espèce et tissulaire, les HPV infectent les cellules épithéliales des couches basales des épithéliums stratifiés de l'épiderme ou des muqueuses. Leur cycle multiplicatif étant étroitement lié à la différenciation des kératinocytes, ils induisent un effet cytopathogène spécifique sur ces cellules transformées en koïlocytes (Boullaga, 2008).

#### **1.1.6 Cycle de multiplication virale du HPV**

Après transmission, les papillomavirus pénètrent dans les cellules de l'épithélium au niveau d'une lésion tissulaire ou d'un microtraumatisme. Les HPV vont infecter les cellules souches épithéliales présentes au niveau de la couche basale (Stanley et al., 2007).

Le cycle viral se déroule précisément ainsi : les HPV se fixent tout d'abord sur les récepteurs cellulaires des kératinocytes. Les particules virales sont adsorbées puis internalisées par endocytose (Shafti-Keramati et al., 2003). Les vésicules formées fusionnent ensuite avec des endosomes à pH acide (Bousarghin et al., 2003). Les virions plus ou moins dégradés sont relâchés dans le cytosol. Grâce à la présence de séquences de localisation nucléaire sur la protéine L1 et la protéine L2, le transfert nucléaire peut ensuite avoir lieu (Okun et al., 2001). Au niveau de la couche basale de l'épithélium et après l'entrée du génome viral dans le noyau de la cellule hôte, celui-ci subit une phase d'amplification, sous le contrôle des protéines précoces E1 et E2, jusqu'à atteindre un nombre de 50 à 100 copies par cellule, ceci constitue la phase d'établissement. Cette étape du cycle de multiplication est dite non productive car il n'y a pas de production de virions, seuls les gènes précoces sont transcrits.

Vient ensuite une phase de maintenance des génomes viraux qui correspond au maintien d'un nombre constant de génomes du HPV au fur et à mesure des divisions cellulaires. Les

génomés de HPV nouvellement synthétisés se répartissent, comme l'ADN cellulaire, dans chaque cellule fille.

Dans les épidermes non infectés par un virus, les cellules basales migrent vers les couches supra-basales où elles subissent un processus de différenciation. Elles arrêtent alors de proliférer, leur cycle cellulaire étant bloqué avant l'entrée en phase S. Les cellules infectées par un papillomavirus au contraire subissent une phase de prolifération intense, induite par les protéines virales E6 et E7, lors de leur migration vers les couches suprabasales de l'épithélium, et le processus de différenciation est ainsi retardé. Les protéines E6 et E7 sont des oncogènes viraux qui stimulent la progression en phase S du cycle cellulaire. Au fur et à mesure que les cellules épithéliales se différencient, deux processus viraux sont enclenchés, l'amplification du génome viral et l'induction de la transcription des gènes tardifs. Les gènes tardifs sont transcrits en acide ribonucléique (ARNm) codant pour les protéines de capsid. Une fois le génome viral répliqué dans le noyau, les protéines virales L1 et L2 nouvellement synthétisées dans le cytoplasme rejoignent le noyau où de nouveaux virions infectieux sont formés par encapsidation du génome. Les HPV n'étant pas des virus lytiques, la sortie des particules virales se fait via la zone de desquamation, lorsque la couche cornée superficielle de l'épiderme est éliminée. La muqueuse est alors très infectante et le risque de transmission des HPV est très important (Monsonogo et *al.*, 2008). Cette étape correspond donc à la phase productive puisque les virions sont formés.

Le cycle viral décrit ci-dessus correspond à une infection productive. Les protéines E6-E7 sont produites en petites quantités, permettant leur contrôle. Ce sont surtout les gènes viraux impliqués dans la synthèse de la capsid qui sont exprimés. Les HPV arrivent à maturation et leur génome est toujours extrachromosomique. Lors d'une infection productive, les sujets développent des tumeurs bénignes appelées condylomes plans.

Lorsque la lésion devient une lésion de haut grade (dysplasie sévère = CIN 2 à 3 ou carcinome in situ), on assiste progressivement à l'expression des gènes viraux E6-E7. A ce stade, le contrôle intercellulaire (macrophages, immunité à médiation cellulaire) est perturbé. C'est alors qu'on constate l'intégration de l'ADN viral des HPV dits à risque au génome de la cellule hôte ainsi que l'absence de production de particules virales et ce phénomène est toujours associé à la cancérisation.

Dans certains cas, l'ADN viral ne se réplique pas, ne s'intègre pas, il persiste sous forme épisomale. On parle d'infections latentes asymptomatiques qui ne conduisent à aucune

anomalie cytologique ou coloscopique. Ces infections latentes constituent des réservoirs viraux à partir desquels les HPV peuvent reprendre leur cycle de réplication suite à un événement extérieur (immunosuppression par exemple), s'intégrer et provoquer des lésions du col utérin (Mougin *et al.*, 1997) (Steenbergen *et al.*, 2005).

### **1.1.7 La carcinogénèse**

La cancérisation nécessite l'intégration de l'ADN viral des HPV-HR au génome de la cellule hôte ainsi que l'expression de gènes viraux spécifiques.

L'intégration du génome des HPV dans celui de la cellule hôte est une étape cruciale, propre aux HPV-HR. Dans le cas de lésions évoluant vers un cancer, le génome de HPV passe le plus souvent d'une forme épisomale à une forme linéaire intégrée dans l'ADN de la cellule épithéliale hôte (Monsénigo, 2007). Lors de cette intégration du génome de HPV, les gènes codant pour les protéines E6 et E7 sont toujours conservés et fonctionnels, tandis que la plupart des autres séquences virales codantes sont délétées ou non fonctionnelles. L'inactivation de la protéine E2 (absence d'expression, protéine tronquée), qui est un répresseur transcriptionnel des protéines E6 et E7, est à l'origine de la dérégulation de l'expression de ces 2 protéines. Cette intégration est un événement « terminal » dans le cycle de ces virus, car une fois leur génome intégré, la multiplication virale ne peut plus avoir lieu.

Les oncoprotéines E6 et E7 des HPV-HR, les seules protéines constamment exprimées dans les tumeurs du col utérin, sont à l'origine de l'immortalisation et de la transformation des cellules infectées.

L'oncoprotéine E7 se lie avec une forte affinité aux protéines suppresseurs de tumeur de la famille pRb qui est une protéine de régulation du cycle. Les formes hypophosphorylées de pRb agissent comme des inhibiteurs de la prolifération et empêchent l'entrée en phase S des cellules. Les protéines E7 des HPV à haut risque forment préférentiellement des complexes avec la forme hypophosphorylée de pRb. Cela conduit à l'inactivation fonctionnelle de pRb, au passage de G1/S, et à la progression dans la phase S.

L'oncoprotéine E6, en coopération avec E7, joue aussi un rôle important dans l'immortalisation et la transformation des cellules. E6 a la propriété d'interagir avec la protéine suppresseur de tumeur p53. Cette protéine fonctionne comme un intégrateur de signaux et peut percevoir un stress cellulaire tel que des agressions génotoxiques ou cytotoxiques. La

protéine p53 est notamment impliquée dans la réponse aux lésions de l'ADN et retarde la progression du cycle des cellules dont l'ADN est altéré afin de permettre sa réparation. Si les lésions sont irréversibles, p53 peut initier la voie apoptotique conduisant à la mort cellulaire. E6 favorise la dégradation de p53, ce qui stimule la prolifération cellulaire (Aubin et *al.*, 2003).

### **1.1.8 La réponse immunitaire et l'infection à HPV**

Chez la femme, l'infection génitale préférentiellement localisée aux cellules du col utérin s'accompagne d'une réponse immunitaire locale (muqueuse), puis systémique, dont la finalité est de s'opposer à la pénétration des HPV et à leur persistance. Cette réponse lymphocytaire paraît varier en fonction du stade de la lésion et du risque oncogénique du HPV infectant (Monsénégo, 2007). On distingue :

- la réponse immunitaire à médiation humorale, basée sur l'induction d'anticorps neutralisants dirigés contre les protéines structurales L1 et L2,
- la réponse immunitaire à médiation cellulaire dirigée contre les protéines précoces du virus (protéines E) et permettant la destruction des cellules infectées et des virus, ainsi que la régression des lésions associées (Luxton et *al.*, 2003).

Le polymorphisme génétique du système immunitaire de l'hôte, en particulier le polymorphisme HLA (*Human Leukocyte Antigen*) de classe II, influence la réponse immune, la persistance virale et la survenue de tumeurs, vraisemblablement en rapport avec le type viral ou certaines variantes virales (Alain et *al.*, 2010).

Une partie seulement des femmes exposées aux HPV, en particulier dans la période de vulnérabilité du col, aura des difficultés à éliminer le virus et donc un risque de développer un cancer du col plus tard en l'absence de dépistage. Il apparaît clairement que toutes les femmes ne sont pas biologiquement et immunologiquement égales face à cette infection. Plusieurs facteurs sont considérés comme des indicateurs pronostiques pour le développement de néoplasies cervicales. Ce sont :

- les facteurs viraux: génotype viral, charge virale, persistance virale ;
- les facteurs liés à l'hôte : comportement sexuel, statut immunitaire, grossesse, multiparité, type HLA ;

- facteurs environnementaux : contraceptifs oraux, tabac, IST, nutrition, niveau socioéconomique.

### 1.1.9 Epidémiologie des infections liées au HPV

Le cancer du col de l'utérus est le deuxième cancer le plus fréquent chez la femme avec près de 493 000 nouveaux cas estimés en 2002 et plus de 500 000 en 2005 (Duport, 2008).

Le cancer du col de l'utérus a provoqué en 2005 près de 260 000 décès dont près de 95% dans les pays en développement, pays dans lesquels ce cancer est la première cause de mortalité par cancer dans la population féminine (Duport, 2008).

La prévalence des génotypes HPV impliqués dans le cancer du col utérin varie en fonction des régions géographiques (Louie et *al.*, 2008). Les HPV à haut risque oncogènes : les plus fréquents sont les HPV 16, 18, 31, 33, 35, 45, 52, 58 et 59. Ils sont présents dans plus de 90% des cancers de col utérin et 70% sont dues aux HPV 16 et 18 (Franco et *al.*, 1999).

Au Burkina Faso, des études ont été menées dans les villes de Ouagadougou et de Bobo-Dioulasso sur la distribution des HPV. Ainsi, dans la population générale des femmes à Ouagadougou, (Ouedraogo et *al.*, 2011) ont trouvé une prévalence des HPV de 24,3%, tandis que cette prévalence était de 30,2% pour (Zohoncon et *al.*, 2013). A Ouagadougou, chez des femmes séropositives au VIH, (Sagna et *al.*, 2010) et (Djigma et *al.*, 2011) ont trouvé respectivement une prévalence des HPV de 59,6% et 58,33%. Toujours à Ouagadougou chez des adolescentes, (Ouedraogo et *al.*, 2015) trouvaient une prévalence de 41,5%. A Bobo-Dioulasso, (Didelot-Rousseau et *al.*, 2006) ont trouvé chez des travailleuses du sexe une prévalence des HPV de 66,1%.

La prévalence des différents génotypes au niveau du Burkina Faso semble différente de la prévalence mondiale ; mais les résultats des différentes études semblent assez concordants. Les génotypes de la famille 50'S viennent en tête dans toutes les études (Sagna et *al.*, 2010) trouvaient une prévalence de 24,1%, (Djigma et *al.*, 2011) 25%, (Ouedraogo et *al.*, 2011) 31,0%. (Zohoncon et *al.*, 2013) avec un kit pouvant détecter 12 génotypes trouvaient comme prédominants les génotypes HPV 52 (15,9%) et (Ouedraogo et *al.*, 2015) trouvaient HPV 52 (22,8%) et HPV 59 (14,0%). on constate donc que les génotypes HPV 16 et 18 ne sont pas les plus importants au Burkina. Ils sont dépassés par les génotypes de la famille 50'S et même 30'S.

## 1.2 Les lésions précancéreuses du cancer du col de l'utérus

### 1.2.1 Structure du col de l'utérus

L'histologie de la jonction squamo-cylindrique est représentée sur la figure 4 et se compose comme suit :

- L'exocol est revêtu d'un épithélium malpighien, pavimenteux, stratifié à trois couches, à renouvellement rapide.
- L'endocol est tapissé par un épithélium glandulaire, cylindrique, formé d'une seule couche cellulaire, mucosécrétante, avec quelques cellules de réserves susceptibles de différenciation malpighienne (métaplasie).
- La membrane basale est commune, horizontale et rectiligne sous l'épithélium malpighien, sinueuse sous l'épithélium glandulaire car formée de replis et d'enfoncements.
- La jonction est une zone de frontière, c'est le maillon faible du col, zone de moindre résistance aux agressions, et aux HPV en particulier. La surface de la zone de jonction entre ces deux épithéliums est variable.

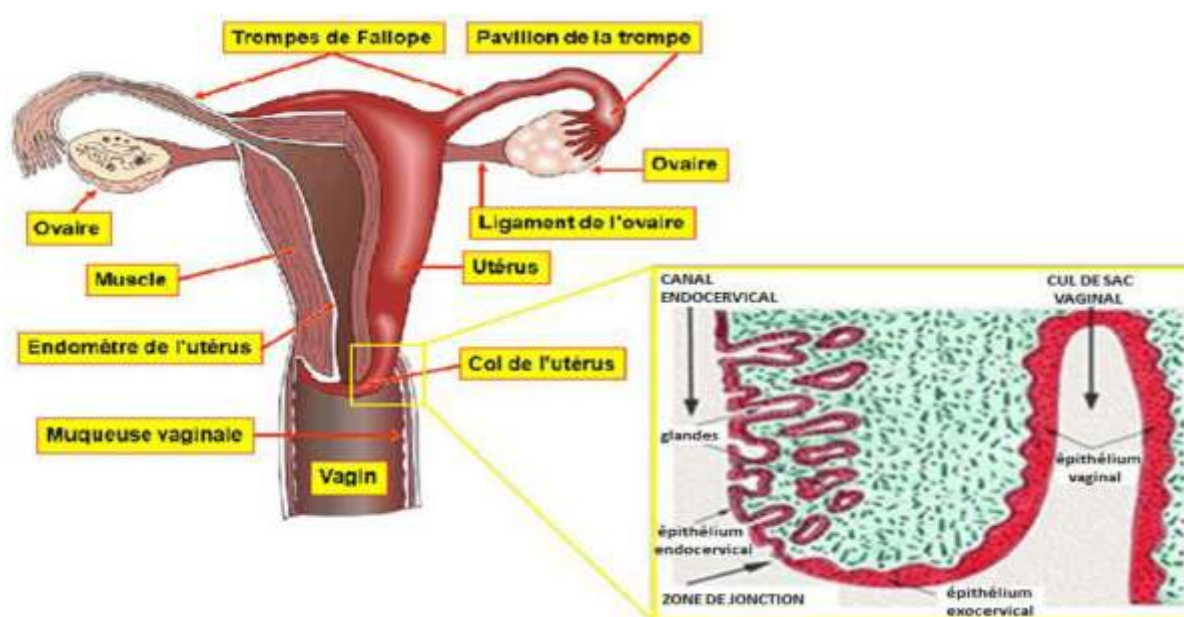


Figure 4: Représentation l'utérus

Source : (CNGOF, 2010-2011)

### **1.2.2 Dénominations des lésions du col de l'utérus**

Le concept de maladie pré-invasive du col a été introduit pour la première fois en 1947. Il a été reconnu que des transformations épithéliales ayant l'apparence d'un cancer invasif pouvaient être identifiées uniquement au niveau de l'épithélium (Pund and Nieburgs, 1947). Des études ultérieures ont montré que si ces lésions ne sont pas traitées, elles peuvent progresser vers le cancer du col (Koss et *al.*, 1963). Les progrès de la cytologie ont conduit à l'identification des lésions précoces appelées dysplasies, qui impliquent le développement probable d'un cancer.

Le concept de néoplasie cervicale intra-épithéliale du col (NCI) ou en anglais cervical intraepithelial neoplasia (CIN) a été introduit en 1968, quand Richart a indiqué que toutes les dysplasies étaient susceptibles d'évoluer vers le cancer (Narducci et *al.*, 2000). Il est actuellement admis que la plupart des CIN régressent spontanément, sans traitement (Ostor, 1993). Néanmoins, le terme CIN réfère à une lésion qui pourrait progresser vers le cancer. Ce terme est équivalent à celui de dysplasie.

### **1.2.3 Classification des lésions précancéreuses du col de l'utérus**

La « néoplasie cervicale intra-épithéliale » (CIN) était une nomenclature de plus en plus utilisée permettant de représenter le large spectre de la maladie. Dans de nombreux pays en développement, la nomenclature dysplasie/carcinome in-situ de l'OMS est toujours largement en cours. Celle de Papanicolaou est universellement abandonnée car obsolète et celle du Système Bethesda doit être utilisée pour les résultats du frottis. La classification du Système Bethesda a été modifiée en 2001 en considérant l'infection HPV (au même titre que les CIN I) comme lésions intra épithéliales pavimenteuses de bas grade (LPIBG). L'OMS recommande la classification Bethesda de 2001 pour le compte-rendu de la cytologie (OMS, 2007). Le tableau II montre les différentes terminologies employées pour le compte-rendu des résultats de la cytologie et de l'histologie.

Tableau II: Différentes terminologies employées pour le compte rendu des résultats de la cytologie et de l'histologie

Source : (OMS, 2007)

Classification cytologique (employée pour le dépistage)		Classification histologique (employée pour le diagnostic)	
Pap (frottis)	Système Bethesda	CIN	Classifications descriptives OMS
Classe I	Normal	Normal	Normal
Classe II	ASC-US ASC-H	Atypie	Atypie
Classe III	LIEBG	CIN 1, y compris condylome plan	Koilocytose dysplasie légère
Classe III	LIEHG	CIN 2	Dysplasie modérée
Classe III	LIEHG	CIN 3	Dysplasie sévère
Classe IV	LIEHG	CIN 3	Carcinome in situ
Classe V	Cancer invasif	Cancer invasif	Cancer invasif

CIN : néoplasie cervicale intraépithéliale ;

LIEBG : Lésion intraépithéliale épidermoïde de bas grade ;

LIEHG : Lésion intraépithéliale épidermoïde de haut grade ;

ASC-US : cellules épidermoïdes atypiques de signification indéterminée ;

ASC-H : cellules épidermoïdes atypiques ne permettant pas d'exclure une lésion intraépithéliale épidermoïde de haut grade.

L'histoire naturelle de l'infection à HPV s'étend sur plusieurs années ; l'évolution histologique des lésions précancéreuses du col de l'utérus est décrite dans la figure 5.



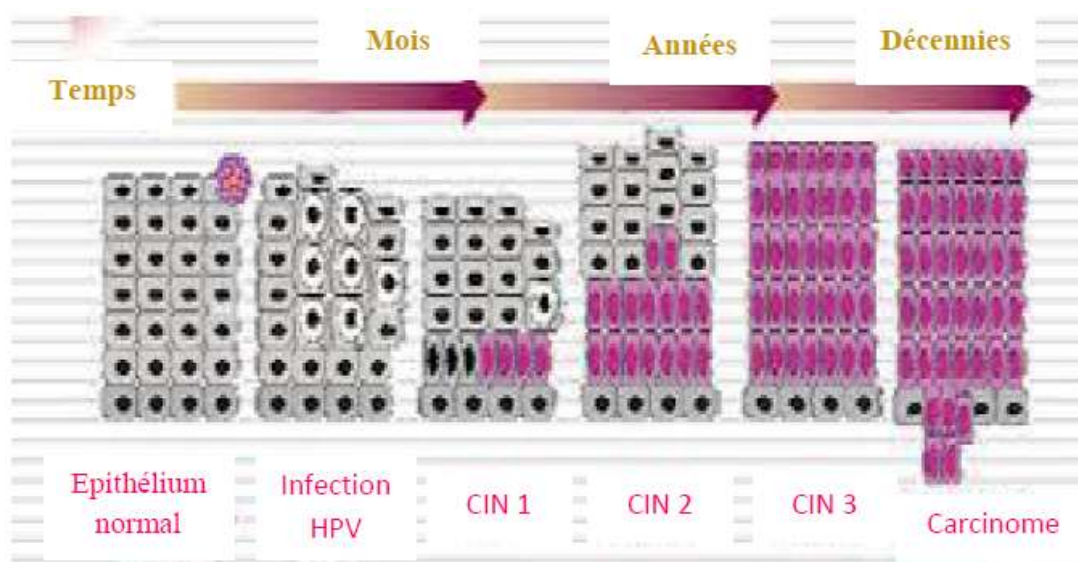


Figure 5: Evolution histologique des lésions précancéreuses du col de l'utérus

Source : (Mougin et *al.*, 1997)

La classification histologique décrit les CIN en 3 stades de gravité croissante :

- CIN 1 de bas grade, les lésions occupent le tiers basal de l'épithélium
- CIN 2 de grade intermédiaire, les lésions occupent les deux tiers de l'épithélium
- CIN 3 de haut grade, tout l'épithélium est concerné par la lésion.

La classification cytologique distingue elle :

- HSIL (high grade squamous intraepithelial lesion, en français: lésion malpighienne intraépithéliale de haut grade)
- LSIL (low grade squamous intraepithelial lesion, en français: lésion malpighienne intraépithéliale de bas grade).

Ces anomalies malpighiennes (SIL) se superposent tout ou partie avec les néoplasies cervicales intraépithéliales (CIN) suivant la classification de Bethesda.

Les tumeurs épithéliales du col utérin prennent naissance pour la plupart au niveau de la zone de transformation cervicale.

#### 1.2.4 Caractéristiques cliniques

Il n'existe pas de caractéristiques cliniques spécifiques de lésion précancéreuse du col de l'utérus pouvant être décelées à l'examen au spéculum, mais nombre de ces lésions peuvent

blanchir à l'application d'une solution fraîchement préparée d'acide acétique à 5%, ou peuvent être iodo-négatives à l'application du soluté de Lugol (puisqu'elles ne contiennent pas de glycogène). Ces lésions sont le plus souvent découvertes à l'occasion d'un examen de dépistage. Elles peuvent être associées à des signes fonctionnels (OMS, 2007) (Sellors and Sankaranarayanan, 2004) tels que les métrorragies et les leucorrhées.

### **1.2.5 Traitement des lésions précancéreuses**

Les lésions précancéreuses évoluent sur une longue période. Par conséquent, le traitement d'une CIN n'est jamais une urgence. Il ne doit pas non plus être disproportionné, s'agissant de lésions qui, pour certaines d'entre elles ont un taux très important de régression spontanée. Le plus important est la prévention. Les traitements disponibles sont en général répartis en deux catégories (OMS, 2007): les méthodes destructrices et les méthodes d'exérèse.

#### **❖ Méthodes destructrices**

Il s'agit de :

- la vaporisation au laser dont il existe deux types : le laser CO2 et le laser Argon ;
- la cryothérapie qui utilise le protoxyde d'azote qui est un gaz réfrigérant capable d'abaisser la température des cellules jusqu'à  $-40^{\circ}$  C, entraînant ainsi la cryonécrose des tissus ;
- l'électrocoagulation qui repose sur la fulguration ou la coagulation des tissus par le passage d'un courant électrique de haute fréquence.

#### **❖ Méthodes d'exérèse**

Elles ont l'avantage de permettre l'examen anatomopathologique de la pièce opératoire. Il s'agit de:

- la conisation du col au bistouri froid ;
- l'excision du col au laser : elle permet d'obtenir plus de précision dans le geste avec une bonne hémostase sans nécessité de suture cervicale ;
- l'excision du col par LEEP (loop electrosurgical excision procedure) au moyen d'une anse diathermique utilisant le courant électrique chirurgical. Il s'agit d'une procédure de mise en oeuvre simple et d'apprentissage facile ;

- l'hystérectomie en cas de lésions gynécologiques associées ou comme traitement de deuxième intention. L'hystérectomie apparaît excessive en traitement de première intention de lésion précancéreuse.

### 1.2.6 La prévention des lésions précancéreuses

#### ❖ La prévention primaire

La prévention primaire vise à empêcher l'infection par le HPV. Elle repose essentiellement sur la vaccination prophylactique et des mesures préventives à savoir l'information, la communication, l'abstinence au tabac, le respect strict des règles d'hygiène, et une gestion responsable de la sexualité.

**La vaccination prophylactique :** A l'heure actuelle, il existe deux vaccins prophylactiques anti-HPV : le vaccin Cervarix® (GlaxoSmithKline, Rixensart, Belgique/Med immune, Maryland) et le vaccin Gardasil® (Sanofi Pasteur MSD, West Point Pennsylvanie). Ces vaccins prophylactiques ont été développés grâce à la découverte de la propriété d'auto-assemblage en grande quantité de la protéine majeure de capsid L1 du HPV dans différents systèmes eucaryotes (Stanley, 2009). Cette propriété permet la formation de *virus-like particles* (VLP) qui ont la même morphologie que les virions mais ne contiennent pas d'ADN viral et, de ce fait, ne présentent aucun risque infectieux ni oncogène. Ces VLP sont bien tolérés et très immunogènes, leur injection chez l'homme conduisant à la production de titres élevés d'anticorps neutralisants dirigés contre la protéine majeure L1. Ces anticorps vont transsuder à travers les muqueuses génitales et être présents dans les sécrétions cervico-vaginales, de manière à neutraliser le virus dès la première exposition.

Le vaccin Cervarix® est un vaccin bivalent dirigé contre les génotypes 16 et 18 ; et le vaccin Gardasil® est quadrivalent, dirigé contre les génotypes 6, 11, 16 et 18 (Villa et *al.*, 2005).

Toutefois, la vaccination prophylactique ne doit pas dispenser du dépistage régulier, ainsi que de la poursuite de l'utilisation du préservatif et de l'éviction des comportements sexuels à risque, car les vaccins disponibles ne protègent pas contre tous les génotypes à haut risque du HPV.

## ❖ La prévention secondaire

La prévention secondaire fait référence au dépistage précoce et à une prise en charge adéquate des lésions précancéreuses.

Dans la mesure où le stade de cancer invasif est précédé d'une longue évolution de la maladie à un stade précancéreux, et du fait qu'il existe des traitements efficaces de ces lésions précancéreuses, le dépistage reste indispensable.

### 1.3 Diagnostic des infections à HPV et des lésions du col de l'utérus

#### – Les méthodes moléculaires pour le diagnostic des HPV

Le diagnostic virologique repose principalement sur des méthodes moléculaires permettant la détection du génome viral :

- **la PCR** (Polymerase Chain Reaction) ou réaction de polymérisation en chaîne est une technique d'amplification d'ADN in vitro. Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : la dénaturation, l'hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée puis une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase. Ce cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible. La PCR en temps réel est très sensible pour la détection de l'ADN du HPV (Arney and Bennett, 2010). Tous les systèmes de PCR en temps réel reposent sur la détection et la quantification d'un émetteur fluorescent pendant le processus d'amplification et l'augmentation du signal d'émission fluorescente est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits durant la réaction. Il existe deux principes généraux pour la détection quantitative des amplicons : les agents se liant à l'ADN double brin et les sondes fluorescentes (Poitras and Houde, 2002).
- **l'hybridation moléculaire** effectuée à partir de l'ADN extrait du prélèvement ("Southern blot") ;
- **l'hybridation in situ** sur des frottis cellulaires ou des coupes histologiques ;
- la technique de **capture d'hybrides** ADN-ARN en phase liquide ;
- **recherche de l'ARN virale** : Ce test de dépistage est basé sur la détection des ARNm des oncoprotéines virales E6 et E7 dans les cellules humaines. L'expression des

oncoprotéines virales E6 et E7 initie le processus de cancer en affectant le contrôle du cycle cellulaire

- les autres méthodes virologiques : la culture des HPV est très difficile. La microscopie électronique et la détection directe d'antigènes manquent de sensibilité. La sérologie utilise des tests ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) et des techniques de "Western blot" pour la recherche d'anticorps spécifiques des différents types de HPV. Tous ces examens restent du domaine de la recherche.

– **Le diagnostic des lésions précancéreuses**

- **Inspection simple du col** : l'inspection du col de l'utérus après la pose d'un spéculum permet de noter la largeur du col, sa longueur, l'état de l'orifice cervical ; l'aspect de la muqueuse exocervicale, de la muqueuse endocervicale, de la glaire cervicale.
- **Le test à l'acide acétique** (Inspection visuelle à l'acide acétique ou IVA) : l'examen au spéculum est amélioré par l'application de l'acide acétique à 5 %. Il s'agit d'inspecter le col utérin pour détecter les anomalies après avoir appliqué l'acide acétique dilué à 5 % qui dissout les sécrétions protéiques, permettant ainsi la mise en évidence de la zone blanchâtre d'une lésion précancéreuse ou d'un cancer. L'IVA a une très grande sensibilité, ce qui l'a fait proposer comme méthode alternative au frottis dans les contextes où les ressources sont limitées.
- **Le test de Schiller** (Inspection visuelle au lugol ou IVL) : le test de Schiller consiste à badigeonner au lugol, le col utérin exposé par le spéculum. Le col apparaît alors uniformément coloré en brun acajou. Toute zone iodo-négative située au niveau de la zone de transformation indique la pratique d'un frottis cervico-vaginal ou d'une colposcopie avec biopsie dirigée à la recherche d'une dysplasie.
- **Le frottis cervico-utérin ou pap-test** : c'est un examen microscopique des cellules cervicales sur un frottis coloré par la technique de Papanicolaou et qui permet d'identifier les CIN. Longtemps utilisé comme moyen de dépistage de masse dans les pays développés, son coût élevé reste un handicap sérieux à son accessibilité dans les pays pauvres.
- **La colposcopie et la biopsie cervicale dirigée** : il s'agit d'examen au microscope du col avec application de colorants spéciaux. Elle permet de localiser la lésion et de diriger la biopsie sur la zone suspecte du col. Elle nécessite un matériel coûteux (le colposcope) et un personnel qualifié formé et entraîné. La biopsie cervicale consiste à

prélever un fragment de tissu cervical à l'aide d'une pince à biopsie sous contrôle d'un examen colposcopique sur les zones paraissant les plus pathologiques (Blanc and Benmoura, 1993). La biopsie doit avoir intéressé la zone de transformation où la majorité des lésions précancéreuses du col débutent. Cela est confirmé à l'histologie par la présence de glandes endocervicales dans le stroma.

## 1.4 Le cancer invasif du col de l'utérus

### 1.4.1 Histoire naturelle

L'infection persistante ou chronique avec un ou plusieurs types de HPV dits à « haut risque » ou oncogéniques est la principale cause de carcinome cellulaire épidermoïde. Les différents stades de l'installation de l'infection à HPV sont décrits dans la figure 6.

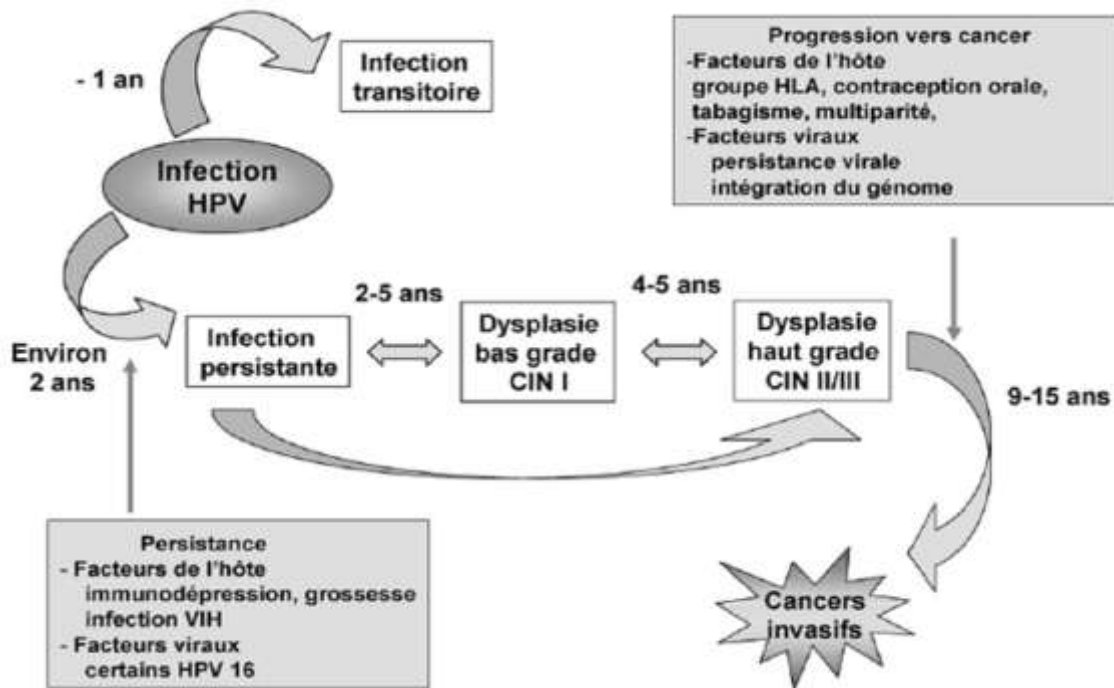


Figure 6: Histoire naturelle de l'infection à HPV et du cancer du col de l'utérus

Source : (Hantz et al., 2006)

## 1.4.2 Classification du cancer invasif du col

Lorsqu'une lésion précancéreuse persiste et qu'elle n'est pas dépistée, elle va progresser graduellement pendant un grand nombre d'années, et atteindre le stade cancer. Les cancers du col de l'utérus peuvent être de nature différente, avec un envahissement plus ou moins important. C'est pour cela qu'il existe des classifications pour les définir.

Le système de classification en stades des cancers du col actuellement utilisé est celui proposé par la Fédération internationale de gynécologie-obstétrique (FIGO) (OMS, 2007):

- ✓ Stade I : carcinome limité au col utérin
  - Stade IA : cancer invasif identifié par analyse microscopique uniquement. L'invasion est limitée à l'invasion stromale mesurée, avec une extension maximale en profondeur de 5mm et une extension latérale ne dépassant pas les 7mm.
  - Stade IB : les lésions cliniques sont limitées au col ou bien les lésions précliniques sont plus importantes que dans le stade IA. Toute lésion clinique, macroscopique, visible et confinée au col, même avec une invasion microscopique superficielle, est classée stade IB.
- ✓ Stade II : Le stade II désigne le carcinome s'étendant au-delà du col mais sans atteindre les parois pelviennes. Le carcinome a atteint le vagin, mais pas au-delà du tiers inférieur.
  - Stade IIA : pas d'atteinte paramétriale évidente. L'invasion touche les deux tiers supérieurs du vagin.
  - Stade IIB : atteinte paramétriale évidente, mais pas jusqu'à la paroi pelvienne.
- ✓ Stade III :
  - Stade IIIA : pas d'extension à la paroi pelvienne mais atteinte du tiers inférieur du vagin.
  - Stade IIIB : Extension à la paroi pelvienne ou hydronéphrose.
- ✓ Stade IV
  - Stade IVA : Extension de la tumeur aux organes pelviens adjacents.
  - Stade IVB : Extension aux organes distants.

### **1.4.3 Traitement du cancer du col utérin**

Le traitement est fonction du stade évolutif du cancer. La chirurgie et la radiothérapie associées ou non à la chimiothérapie, représentent les principales méthodes de traitement du cancer du col de l'utérus (Lansac and Lecompte, 1999) (OMS, 2007). Le pronostic global de la maladie, malgré d'indéniables avancées, n'est pas très bon. Il est directement lié au stade, à la taille de la tumeur et à l'envahissement ganglionnaire au moment du diagnostic.



# **OBJECTIFS DE L'ETUDE**

## **2 Objectifs de l'étude**

### **2.1 Objectif principal**

L'objectif principal de cette étude était de déterminer les génotypes HPV-HR des lésions précancéreuses de haut grade du col de l'utérus (CIN2 et CIN3), dans les tissus archivés fixés au formol et enrobés de paraffine de 2009 à 2015 au CHU-YO à Ouagadougou.

### **2.2 Objectifs spécifiques**

- Caractériser par la PCR en temps réel les génotypes HPV-HR circulant à Ouagadougou de 2009 à 2015.
- Déterminer la prévalence de l'infection HPV à haut risque dans les CIN 2 et CIN 3 au CHU-YO.

# **MATERIEL ET METHODES**

### **3 Matériel et méthodes**

#### **3.1 Cadre de l'étude**

Notre étude s'est déroulée à Ouagadougou, la capitale du Burkina Faso. La collecte des échantillons a été effectuée au laboratoire d'anatomie et cytologie pathologique du Centre Hospitalier Universitaire Yalgado Ouédraogo CHU-YO de Ouagadougou et les analyses de laboratoire au Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni/ Laboratoire de Biologie Moléculaire et de Génétique Moléculaire (CERBA/LABIOGENE).

Le CHU-YO est l'un des quatre hôpitaux universitaires du pays. Il comporte outre les services administratifs, des services médicaux, chirurgicaux, services de biologie et d'imagerie médicale ainsi que des services techniques. Le service de Bactériologie-Virologie, le service de Parasitologie et le service d'Hématologie, de Biochimie, d'Anatomie pathologique avec le service de Pharmacie sont réunis au sein du Département de la Pharmacie Hospitalière et des Laboratoires.

Concernant le CERBA/LABIOGENE, il relève du district sanitaire de Bogodogo. Créé par la délégation Camillienne, ce centre a pour missions premières la formation et la promotion de jeunes chercheurs en particulier dans le domaine biomoléculaire où il dispose d'un plateau technique moderne (appareils de PCR en temps réel, HPLC, séquenceur, etc.). Les activités de recherche s'articulent autour de plusieurs axes principaux. Le 1<sup>er</sup> axe qui concerne la recherche fondamentale et les sciences du génome se décompose en sous-axes sur les pathologies génétiques (hémoglobinopathies, ostéoporose, déficiences génétiques), les marqueurs de résistance génétique (résistance bactérienne aux antimicrobiens), le diagnostic moléculaire de diverses pathologies en particulier des pathologies émergentes (VIH, HPV, VHC, VHB) ainsi que sur la vaccinologie. Le 2<sup>ème</sup> axe fait intervenir des études de nature à valoriser la médecine traditionnelle (travaux sur des recettes traditionnelles fournies par des tradi-praticiens). Les deux derniers axes comprennent la recherche clinique (suivi biologique et clinique des personnes vivant avec le VIH, activités portant sur la PTME, expérimentations pharmaco-cliniques) et la recherche en nutrition (réhabilitation nutritionnelle des enfants malnutris).

## **3.2 Matériel**

### **3.2.1 Réactifs**

Kit d'extraction de l'ADN « FFPE DNA Purification Kit, Product # 47400 » de la maison NORGEN BIOTEK CORPORATION.

Kit d'amplification en temps réel : « HPV Genotype 14 Real-TM (ENG) v. 1.3 sacace » de SACACE biotechnologies® qui permet de détecter quatorze génotypes HPV-HR (HPV 16, 31, 18, 39, 45, 59, 33, 35, 56, 68, 51, 52, 58 et 66).

### **3.2.2 Appareillage**

La PCR a été réalisée à l'aide de l'appareil SaCycler-96 Real Time PCR dans sa version 7.3 de SACACE biotechnologies® et les blocs de paraffine ont été découpés avec un microtome de marque LEICA model RM2135.

### **3.2.3 Autres matériels**

D'autres matériels ont été utilisés à savoir les micropipettes, le vortex, les cônes ou embouts à filtre, des incubateurs, une centrifugeuse, une hotte de sécurité, des tubes stériles, des congélateurs, et divers autres matériels de laboratoire.

## **3.3 Méthodes**

### **3.3.1 Type et période d'étude**

Il s'agit d'une étude transversale avec une collecte rétrospective des données, qui a concerné les tissus de col de l'utérus fixés dans du formol et enrobés de paraffine, collectés et conservés au service d'anatomie pathologie du CHU-YO, entre le 17 Février 2009 et le 08 Mai 2015.

### **3.3.2 Population d'étude**

La population d'étude est constituée de 119 prélèvements de tissus archivés résultant des pièces de biopsie, d'hystérectomie ou de conisation du col de l'utérus de femmes, apportés au service d'Anatomie Pathologique au CHU-YO pour un diagnostic histologique, et dont les résultats ont confirmé une CIN2 ou CIN3.

### 3.3.3 La collecte des échantillons

Des coupes ont été faites au niveau des blocs de paraffine à l'aide d'un microtome. Des prélèvements de cinq fines feuilles d'épaisseur  $\leq$  à 20  $\mu\text{m}$  ont été réalisés sur chaque cassette, et conservés dans des tubes eppendorf stériles codés puis transportés au CERBA/LABIOGENE pour les tests moléculaires.

### 3.3.4 L'extraction de l'ADN

La procédure d'extraction du kit de NORGEN a été suivie avec cependant quelques modifications.

#### ➤ Le déparaffinage

Les lamelles découpées à partir des blocs de paraffine ont été débarrassées de l'excès de paraffine pour libérer le tissu selon la méthode suivante :

- ✓ 1 ml de xylène a été ajouté à l'échantillon, qui a ensuite été mélangé au vortex et incubé à 50°C pendant 10 minutes puis centrifugé à 14000 tours/mn pendant 2 minutes. A la sortie de la centrifugeuse, éliminer le surnageant et reprendre l'étape précédente avec le xylène pour une deuxième fois.
- ✓ Après l'étape de xylène, nous avons ajouté 1 ml d'éthanol absolu à l'échantillon que nous avons ensuite mélangé au vortex puis centrifugé à 14000 tours/mn pendant 2 minutes. Le surnageant a été jeté et l'étape à l'éthanol a été répété pour une seconde fois.
- ✓ Après l'élimination de l'éthanol la deuxième fois, nous avons ajouté 1 ml de solution de PBS 10%, que nous avons passé au vortex, puis centrifugé à 14000 tour/mn pendant 2 minutes. Nous avons éliminé le PBS et repris une deuxième fois cette opération.
- ✓ Nous avons ensuite fait sécher l'échantillon à la température ambiante car il est important de faire disparaître toute trace de PBS. Cette étape est précieuse et peut prendre environ 2 heures 30minutes.

#### ➤ Préparation du lysat

A l'échantillon séché et débarrassé de toute trace d'éthanol, nous avons ajouté 300  $\mu\text{l}$  de la solution de lyse « Digestion Buffer A » avec 10  $\mu\text{l}$  de Proteinase K reconstitué, et 1  $\mu\text{l}$  de RNase. Le tout est mélangé au vortex et incubé à 55 °C pendant 1 heure puis à 90 °C pendant 1 heure. Durant la première heure d'incubation, l'échantillon a été mélangé au vortex chaque

20 minute. Après ces 2 heures d'incubation, il est important que le plus d'échantillon soit digéré et clarifié, sans trace visible de débris. Si ce n'est pas le cas, il est préférable de centrifuger l'échantillon à 14000 tours/mn pendant 2 minutes puis transférer le surnageant dans un nouveau tube.

Nous avons ensuite ajouté 300 µl de « Buffer RL. » puis 250 µl d'éthanol absolu et entre chaque addition, on mélange au vortex.

#### ➤ **Récupération de l'ADN par la colonne**

Nous avons procédé à l'assemblage de la colonne et du tube collecteur procuré par le kit d'extraction. Nous avons prélevé 600 µl du lysat clarifié avec l'éthanol et introduit dans la colonne. Nous avons ensuite centrifugé à 14000 tours/mn et éliminer le liquide recueilli. On prélève à nouveau le reste du lysat et on reproduit la même opération.

#### ➤ **Le lavage de la colonne**

Pour le lavage, nous avons introduit 400 µl de « Wash Solution A » dans la colonne puis centrifugé à 14000 tours/mn pendant 1 minute. L'eau de lavage est éliminée et on poursuit le lavage trois fois consécutif. Après le troisième lavage, on centrifuge à 14000 tours/mn pendant 2 minutes pour éliminer toute trace de la solution de lavage, puis on jette le tube collecteur.

#### ➤ **Elution de l'ADN**

La colonne contenant l'ADN est placée dans un nouveau tube de 1.7 ml. On y ajoute 50 µl de « Elution Buffer B ». On incube l'ensemble à la température ambiante pendant 1 minute avant de centrifuger à 14000 tours/mn pendant 1 minute. Pour obtenir le maximum d'ADN, nous avons ajouté 40 µl de l'éluant et incubé à la température ambiante 1 minute puis centrifugé à 14000 tours/mn pendant 1 minute. Pour que tout l'ADN contenu dans la colonne descende dans le tube, on centrifuge pendant 2 minutes additionnelles à 14000 tours/mn.

#### ➤ **Conservation de l'ADN**

L'ADN purifié a été stocké dans un congélateur à -20°C jusqu'à la réalisation de la PCR en temps réel.

### 3.3.5 L'amplification de l'ADN par 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 reporter 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 (Tse and Capeau, 2003).

Nous avons réalisé une PCR en temps réel faite d'amplification multiplex de 4 tubes pour chaque échantillon. Chaque tube contenait des amorces dirigées contre des régions de trois (3) types de HPV et du gène de la bêta-globine a été utilisé comme contrôle interne. Nous avons quatre types de fluorescences à savoir :

- FAM pour une fluorescence de couleur verte, qui avait pour but de détecter les génotypes HPV 16, 39, 33 et 58 ;
- JOE pour une fluorescence de couleur jaune, qui détectait les génotypes HPV 31, 45, 35 et 52 ;
- ROX pour une fluorescence de couleur orange, qui détectait les génotypes HPV 18, 59, 68 et 66 ;
- et Cy5 pour une fluorescence de couleur rouge, pour les génotypes HPV 56 et 51 et les contrôles internes.

#### ➤ Préparation des échantillons pour l'amplification

Avant la manipulation, il est nécessaire de prévoir le nombre de tube PCR. Nous avons opté pour l'analyse quantitative, c'est-à-dire 4 tubes pour chaque échantillon, 4 tubes pour le standard K1, 4 tubes pour le standard K2 et 4 tubes pour le contrôle négatif.

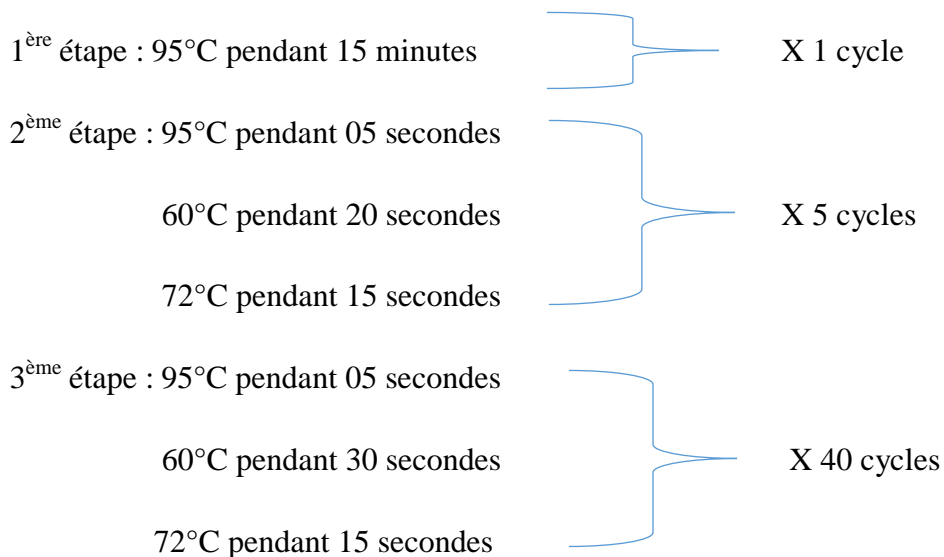
- Préparation du Mix : il a consisté à mélanger au vortex 60 µl de Hot Start DNA avec 0.6ml de PCR-buffer-FRT. Cette préparation est valable pour 132 réactions et est stable durant 3 mois lorsqu'elle est conservée à 4°C.
- Préparation de la réaction Mix : le kit « HPV Genotypes 14 Real-TM Quant » comprend 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. Selon le nombre d'échantillon à disposition, nous avons vérifié la figure 3 du protocole (SACACE, 2014), pour connaître le volume de PCR-mix-1 et le volume de la préparation mix composée de PCR-buffet-FRT et de Polymerase. Nous avons ensuite mélangé le tout au vortex.
- Pour obtenir la préparation finale pour la PCR, nous avons mis 15 µl de la réaction Mix obtenue précédemment dans chaque tube PCR en suivant l'ordre indiqué sur la figure 1 du protocole (SACACE, 2014). Nous avons ensuite ajouté 10 µl de l'ADN extrait de l'échantillon dans le tube correspondant.
- Pour le contrôle négatif, nous avons ajouté 10 µl de « l'ADN » extrait du tube choisi pour le contrôle négatif, dans les tubes situés en position 16 de la distribution indiquée sur la figure 1. Egalement pour les standards, nous avons ajouté 10 µl de chaque K1 et de chaque K2 dans les tubes PCR appropriés respectivement en position 17 et 18.
- Le volume total de la réaction a été de 25 µl et est enfin prêt pour l'amplification.

➤ **Programme d'amplification sur SaCycler-96 pour la PCR en temps réel du HPV**

Chaque programme d'amplification dure environ 1h45.



### ➤ **Interprétation des résultats**

L'interprétation des résultats a été faite à l'aide du Programme Microsoft Excel “*HPV Genotype 14 Real-TM (ENG) v.1.3 Sacace.xls*” fourni par le fabricant.

- La réaction est valide si :
  - Il y a une absence de signal de fluorescence au niveau du contrôle négatif ;
  - et une présence de signal de fluorescence dans chacun des contrôles positifs,
- Le résultat de la détection de l'ADN de HPV est considéré être :
  - Négatif, si le signal du contrôle interne  $\beta$ -globine est détecté dans les deux premiers tubes de l'échantillon.
  - 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  $\beta$ -globine humain.

### **3.3.6 Analyse des données**

Les données ont été traitées et analysées sur micro-ordinateur à l'aide du logiciel SPSS Statistics 17 .0. Le test de Chi carré a été utilisé pour les comparaisons à l'aide du logiciel Epi Info 6.04d. La différence a été significative pour  $p < 0,05$ .

### **3.3.7 Considérations éthiques**

Cette étude a obtenu l'accord du comité d'éthique pour la recherche en santé (CERS). Le respect de la confidentialité et l'anonymat par rapport aux informations obtenues dans les différents registres et les fiches des patientes sont gardés strictement confidentiel.

# **RESULTATS**

## 4 Résultats

### 4.1 Caractéristiques des échantillons collectés

Cette étude a concerné 119 tissus diagnostiqués lésions précancéreuses de haut grade selon le compte rendu du résultat d'histologie. L'âge des patientes variait de 22 à 74 ans avec une moyenne de 41,6 ans et un écart type de 9,7 ans. L'âge de deux patientes n'a pas été retrouvé au cours de cette étude. L'année 2009 est la plus représentative avec 35,3% de cas de lésions précancéreuses de haut grade. Les biopsies ont représenté 71% des prélèvements conduits au laboratoire d'anatomie pathologie pour le diagnostic histologique. La tranche d'âge, l'année de prélèvement ainsi que le type de prélèvement figurent dans le tableau III.

Tableau III: Caractéristiques démographiques et type de prélèvement des échantillons

	Nombre	Pourcentage (%)
<b>Tranche d'âge</b>		
20 à 29	11	9,2
30 à 39	42	35,3
40 à 49	41	34,5
50 à 59	17	14,3
60 et plus	6	5,0
Inconnu	2	1,7
<b>Année</b>		
2009	42	35,3
2010	21	17,6
2011	17	14,3
2012	7	5,9
2013	19	16
2014	10	8,4
2015	3	2,5
<b>Type de prélèvement</b>		
Biopsie	71	59,7
Hystérectomie	11	9,2
Conisation	37	31,1
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>100</b>

## 4.2 Résultats de l’histologie et de la PCR en temps réel

Suite à l’examen histologique, les différents échantillons ont été classés selon la classification de Bethesda comme étant des CIN 2 ou des CIN 3. Ceux n’étant pas été clairement définis ont été classés comme des CIN 1 à 2 ou des CIN 2 à 3 ; mais tous étaient considérés comme des lésions de haut grade. Parmi les échantillons, 46,2% ont présenté une cervicite (aigüe, subaigüe ou chronique).

Sont classés  $\beta$ -globine – les échantillons dont le gène du contrôle interne  $\beta$ -globine n’a pas pu être amplifié. Dans notre étude, 63,9% soit 76/119 des échantillons sont  $\beta$ -globine - ; ils ont été déclarés inadéquats. Le résultat histologique et le résultat de la PCR sont indiqués dans le tableau IV.

Tableau IV: Résultats histologiques et PCR

	Nombre	Pourcentage (%)
<b>Diagnostic Histologique</b>		
CIN 1 à 2	2	1,7
CIN 2	30	25,2
CIN 2 à 3	64	53,8
CIN 3	22	18,5
CIN 3 à CIS	1	0,8
Cervicites	55	46,2
<b>Présence de <math>\beta</math>-globine</b>		
$\beta$ -globine +	43	36,1
$\beta$ -globine -	76	63,9
<b>Statut HPV</b>		
HPV +	21	17,6
HPV -	22	18,5
Inadéquat	76	63,9
<b>Total</b>	<b>119</b>	<b>100</b>

### 4.3 Distribution des géotypes HPV

Les femmes qui étaient positives à au moins un géotype de HPV étaient au nombre de 21 sur les 119, soit une proportion de 17,6%. Cependant, en tenant compte des résultats adéquats de la PCR, sur les 43 résultats adéquats, la prévalence des infections par HPV-HR donne 48,8%. Nous ne tiendrons compte que des résultats adéquats. La figure 7 montre la prévalence des infections HPV-HR en tenant compte des résultats adéquats.

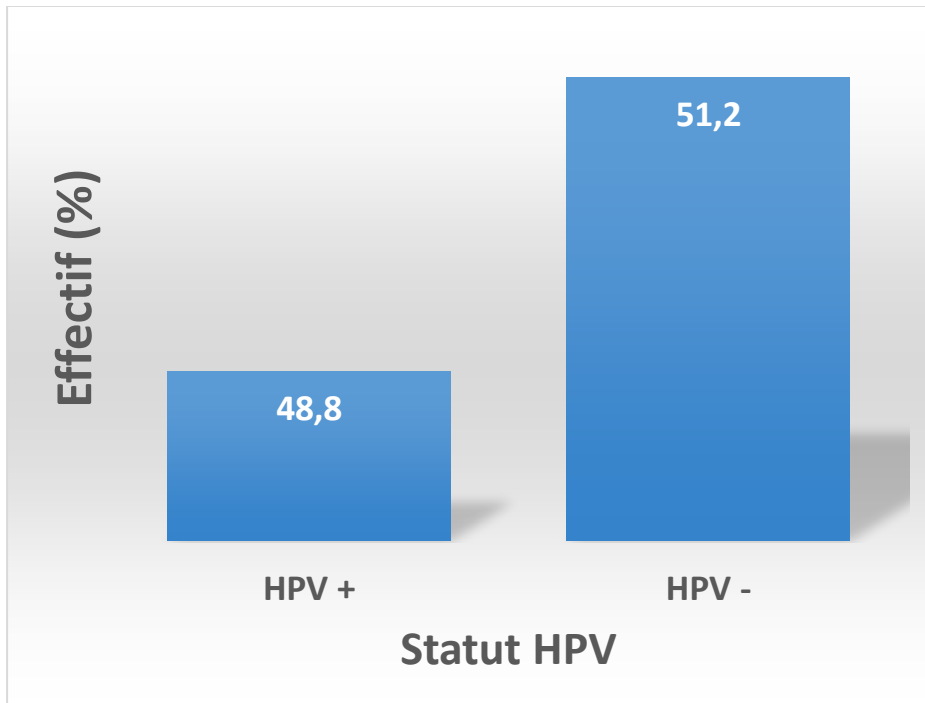


Figure 7: Prévalence des infections HPV-HR selon les résultats adéquats

#### 4.3.1 Fréquence des différents géotypes de HPV retrouvés

Le kit utilisé a permis de caractériser 14 géotypes de HPV-HR. Il s'agissait des HPV 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 66 et 68. En cumulant les géotypes de HPV, compte tenu du fait que certaines femmes étaient infectées par plus d'un géotype, le nombre total de géotypes retrouvés était de 23 et 11 types de HPV-HR ont été trouvés sur les 14 recherchés. La figure 8 montre la fréquence des différents géotypes de HPV trouvés sur les 23 géotypes de HPV.

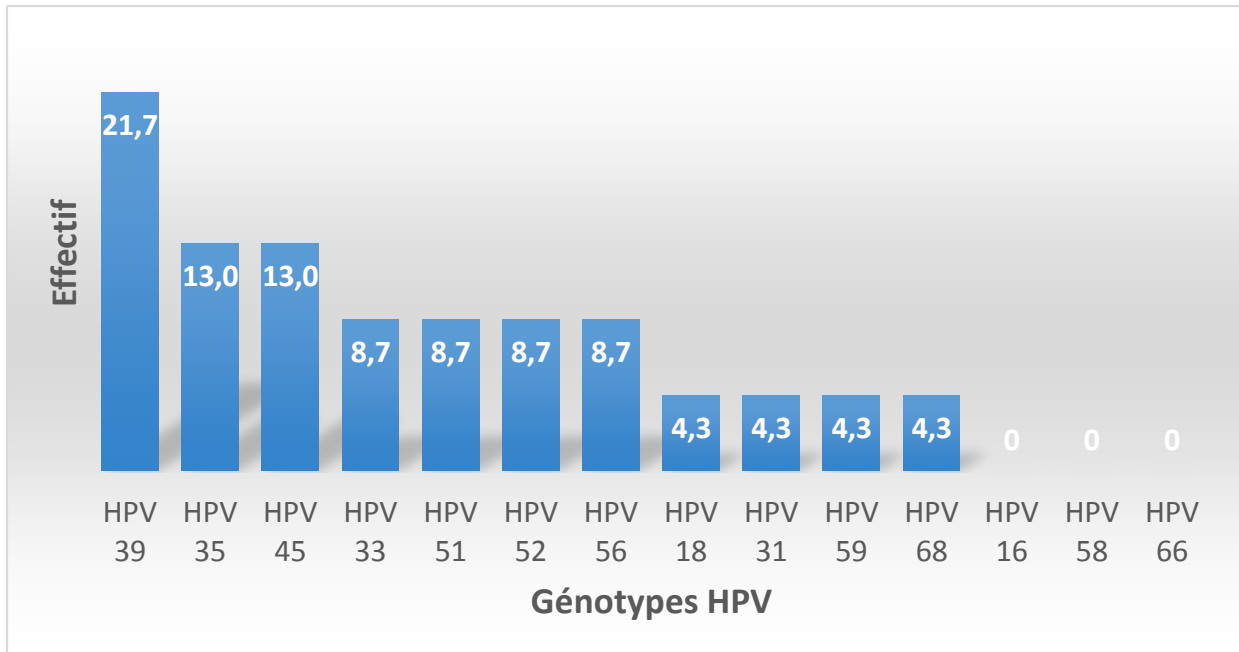


Figure 8: Fréquence des génotypes HPV-HR

La prévalence de l'infection à HPV 39 est la plus élevée avec une fréquence de 21,7. Le génotype HPV 16 n'a pas été détecté dans la population d'étude. La prévalence des génotypes HPV 35 et HPV 45 est de 13,0% chacun. Les génotypes HPV 33, 51, 52 et 56 ont également la même prévalence de 8,7%. Le reste des génotypes à savoir HPV 18, HPV 59 et HPV 68 ont 4,3% comme prévalence chacun.

#### 4.3.2 Relation entre le diagnostic histologique et le génotype du HPV-HR

Dans les cas de CIN 2, HPV 39 et 45 viennent en tête chacun avec un taux de 25% et 13% au niveau de l'ensemble des HPV. En seconde position nous avons les génotypes HPV 33, 35, 51, 56, 59 et 68. Les génotypes absents au niveau des CIN 2 sont HPV 16, 18, 31, 52, 58, et 66. Le tableau V donne les cas de CIN 2 et le portage de HPV-HR correspondant.

Tableau V: Diagnostic histologique de CIN 2 et portage de HPV-HR

CIN 2					
Génotypes HPV-HR	n	F1 (%)	IC (95%)	F2 (%)	IC (95%)
HPV 16	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 18	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 31	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 33	1	8,3	[0,44-40,25]	4,3	[0,23-23,97]
HPV 35	1	8,3	[0,44-40,25]	4,3	[0,23-23,97]
HPV 39	3	25	[6,69-57,16]	13	[3,43-34,66]
HPV 45	3	25	[6,69-57,16]	13	[3,43-34,66]
HPV 51	1	8,3	[0,44-40,25]	4,3	[0,23-23,97]
HPV 52	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 56	1	8,3	[0,44-40,25]	4,3	[0,23-23,97]
HPV 58	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 59	1	8,3	[0,44-40,25]	4,3	[0,23-23,97]
HPV 66	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 68	1	8,3	[0,44-40,25]	4,3	[0,23-23,97]
Cas d'infections isolées	8				
Cas d'infections doubles	2				

Les dysplasies modérées à sévères quant à elles ont montré une infection à sept types de HPV. En première place on a les génotypes HPV 35, 39 et 52. En deuxième position on a les génotypes HPV 18, 31, 33 et 56. Le tableau VI présente les CIN 2 0 3 et le portage de HPV-HR.



Tableau VI: Diagnostic histologique de CIN 2 à 3 et portage de HPV-HR

<b>CIN 2 à 3</b>					
<b>Génotypes HPV</b>	<b>n</b>	<b>F1 (%)</b>	<b>IC (95%)</b>	<b>F2 (%)</b>	<b>IC (95%)</b>
HPV 16	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 18	1	10	[0,52-45,89]	4,3	[0,52-45,89]
HPV 31	1	10	[0,52-45,89]	4,3	[0,52-45,89]
HPV 33	1	10	[0,52-45,89]	4,3	[0,52-45,89]
HPV 35	2	20	[3,54-55,78]	8,7	[1,52-29,51]
HPV 39	2	20	[3,54-55,78]	8,7	[1,52-29,51]
HPV 45	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 51	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 52	2	20	[3,54-55,78]	8,7	[1,52-29,51]
HPV 56	1	10	[0,52-45,89]	4,3	[0,52-45,89]
HPV 58	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 59	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 66	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 68	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
Cas d'infections isolées	10				
Cas d'infections multiples	0				

Les dysplasies sévères ont enregistré un seul type de HPV à savoir le HPV 51, qui a enregistré un pourcentage de 4,3% sur l'ensemble des génotypes. Le tableau VII montre le diagnostic histologique et le portage de HPV-HR.

Tableau VII: Diagnostic histologique de CIN 3 et portage HPV-HR

<b>CIN 3</b>					
<b>Génotypes HPV</b>	<b>n</b>	<b>F1 (%)</b>	<b>IC (95%)</b>	<b>F2 (%)</b>	<b>IC (95%)</b>
HPV 16	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 18	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 31	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 33	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 35	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 39	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 45	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 51	1	100	[5,46-100]	4,3	[0,23-23,97]
HPV 52	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 56	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 58	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 59	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 66	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
HPV 68	0	0	[0,00-0,00]	0	[0,00-0,00]
Cas d'infections simples	1				
Cas d'infections multiples	0				

#### 4.4 Distribution des génotypes HPV dans les cas d'infections multiples

Les deux cas d'infections multiples sont portés par des femmes de 31 et de 40 ans. Elles ont représentés 9,5% contre 90,5% pour les infections simples. Les deux associations étaient HPV 39 + 45 et HPV 39 + 59. Le génotype HPV 39, qui est le génotype le plus représenté est présent dans 100% des cas d'infections multiples. La figure 9 représente la répartition des trois génotypes intervenant dans les cas d'infections multiples.

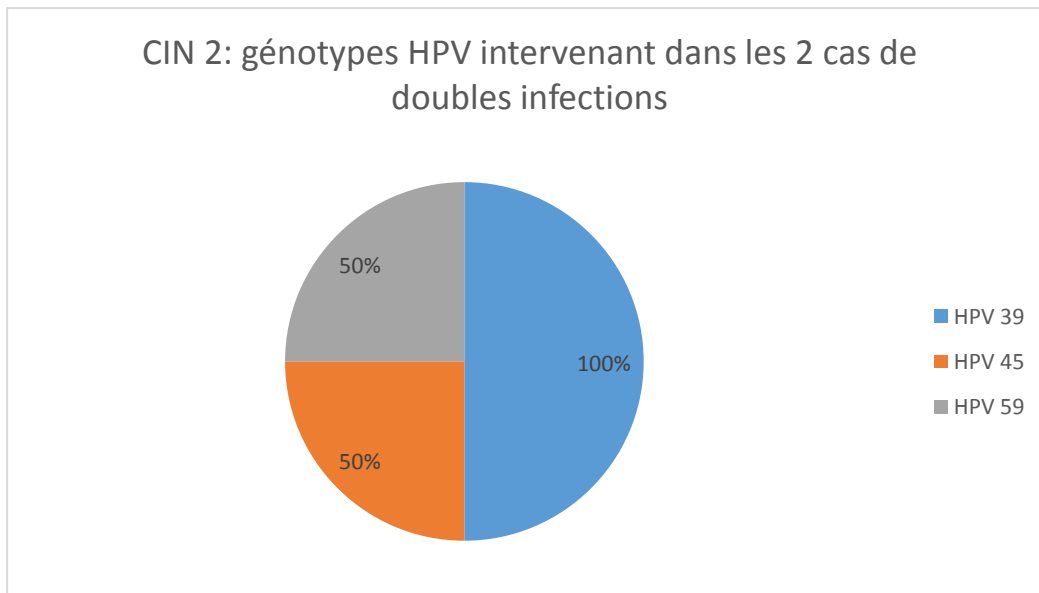


Figure 9: Distribution des génotypes HPV-HR et intervenant dans les cas d'infections multiples

#### 4.5 Répartition du portage du HPV-HR en fonction de la tranche d'âge

Les femmes de la trentaine et la quarantaine sont les plus représentées. Il n'a pas été observé de positivité à HPV dans la tranche d'âge 20 à 29 ans. Le portage ou non du HPV est représenté dans le tableau VIII :

Tableau VIII: Répartition HPV et tranche d'âge

	Tranche d'Age						Total
	20 à 29	30 à 39	40 à 49	50 à 59	60 et plus	Inconnu	
<b>HPV +</b>	0	8 (38,1)	8 (38,1)	2 (9,5)	2 (9,5)	1 (4,8)	21
<b>HPV -</b>	3 (13,6)	8 (36,4)	8 (36,4)	2 (9,1)	0	1 (4,5)	22

#### 4.6 Etude sur le portage de différents génotypes HPV et la tranche d'âge

Le génotype HPV 39 est le seul que l'on retrouve dans presque toutes les tranches d'âge. Le génotype HPV 18 est retrouvé au niveau de la tranche d'âge 30 à 39 ans. La figure 10 montre la relation entre les différents génotypes et la tranche d'âge.

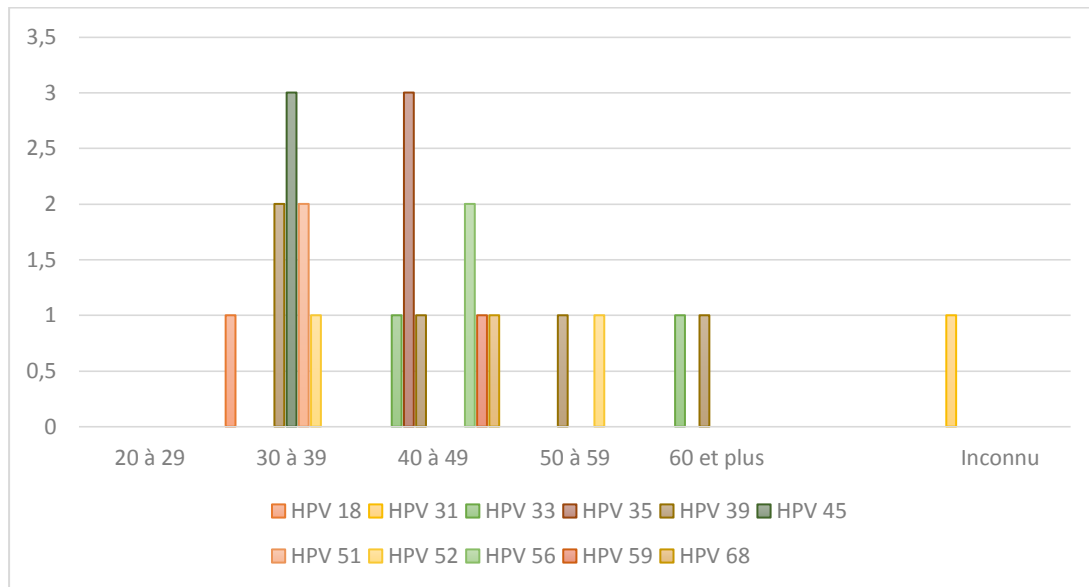


Figure 10: Portage du génotype HPV selon la tranche d'âge

#### 4.7 Répartition du nombre de génotypes HPV-HR par tranche d'âge et le résultat histologique

L'infection à HPV-HR est généralisée à toutes les tranches d'âge. Cependant, la tranche d'âge de 30 à 39 ans contient les lésions CIN 2, CIN 2 à 3 et aussi CIN 3. La figure 11 montre la relation entre les génotypes HPV-HR, la tranche d'âge et le résultat histologique.

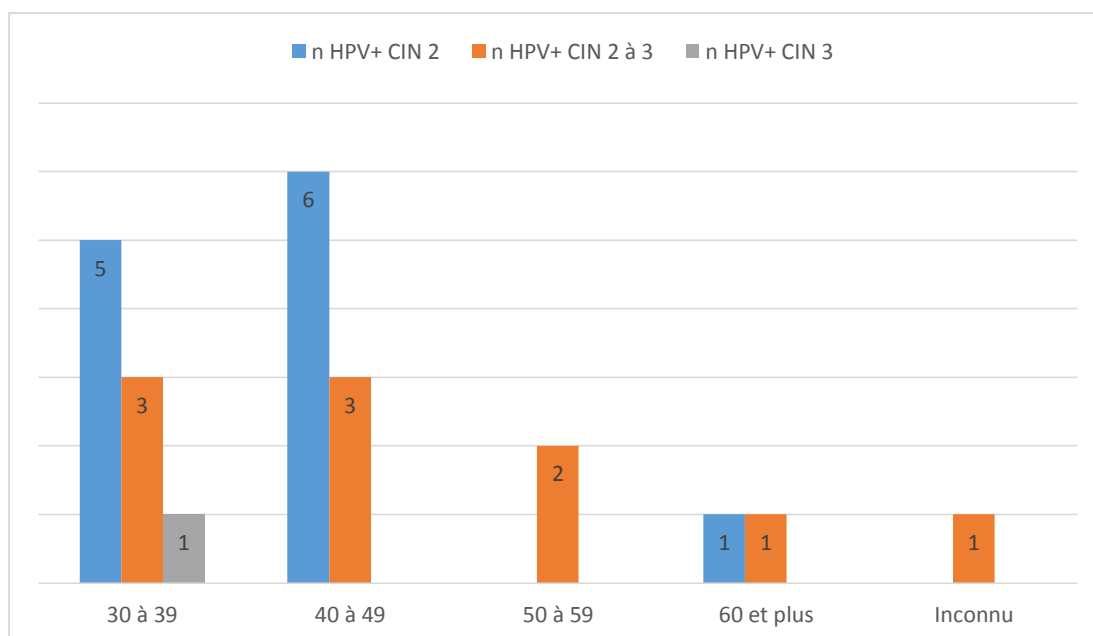


Figure 11: Répartition du nombre de génotypes HPV-HR par tranche d'âge et résultat histologique

#### 4.8 Relation entre le résultat histologique, la tranche d'âge, et le portage de génotype HPV-HR

Les femmes de 30 à 39 ans diagnostiquées ayant une dysplasie modérée CIN 2, ont totalisé 5 types de HPV, contre 3 femmes diagnostiquées CIN 2 à 3 et une femme diagnostiquée CIN 3. Six types de génotypes ont été retrouvés chez cette tranche d'âge à savoir : HPV 18, 35, 39, 45, 51 et 52.

Les femmes de la quarantaine diagnostiquées CIN 2 ont enregistré 6 génotypes HPV contre 3 femmes diagnostiquées CIN 2 à 3. Deux génotypes HPV ont été trouvés chez les femmes diagnostiquées CIN 2 à 3. Les génotypes retrouvés sont : HPV 33, 35, 39, 56, 59, et 68.

La tranche d'âge de 50 à 59 ans diagnostiqués CIN 2 et CIN 3 n'ont présenté aucun génotype. Celles diagnostiquées CIN 2 à 3 ont totalisé 2 types de HPV. On y retrouve les génotypes HPV 39 et 52.

Les femmes de plus de 60 ans et diagnostiquées CIN 2 ont présenté un type de HPV et celles diagnostiquées CIN 2 à 3 ont aussi présenté un type de HPV. Les génotypes HPV 39 et HPV 33 ont été retrouvés. Le tableau IX montre la relation entre le résultat histologique, la tranche d'âge et le portage du génotype HPV.

Tableau IX: Relation entre résultat histologique, tranche d'âge et HPV

		Tranche d'âge (ans)						
		30 à 39	40 à 49	50 à 59	60 et plus	Inconnu	Total	
<b>CIN 2</b>	HPV 33	0	1	0	0	0	1	
	HPV 35	0	1	0	0	0	1	
	HPV 39	1	1	0	1	0	3	
	HPV 45	3	0	0	0	0	3	
	HPV 51	1	0	0	0	0	1	
	HPV 56	0	1	0	0	0	1	
	HPV 59	0	1	0	0	0	1	
	HPV 68	0	1	0	0	0	1	
<b>Total</b>		<b>5</b>	<b>6</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	<b>0</b>	<b>12</b>	
<b>CIN 2 à 3</b>	HPV 18	1	0	0	0	0	1	
	HPV 31	0	0	0	0	1	1	
	HPV 33	0	0	0	1	0	1	
	HPV 35	0	2	0	0	0	2	
	HPV 39	1	0	1	0	0	2	
	HPV 52	1	0	1	0	0	2	
	HPV 56	0	1	0	0	0	1	
<b>Total</b>		<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>10</b>	
<b>CIN 3</b>	HPV 51	1	0	0	0	0	1	
<b>Total</b>		<b>1</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>1</b>	

# DISCUSSION

## 5 Discussion

Une des limites de notre étude est la petite taille des échantillons testés (119). Les échantillons de tissus fixés au formol et archivés au laboratoire d'anatomie pathologie proviennent de différents services ; la durée de fixation n'était pas uniforme et cela a probablement contribué à rendre certains échantillons inadéquats ou négatifs à HPV. En outre, l'utilisation du formol aurait pu détériorer l'ADN, d'où nos difficultés rencontrées.

Une autre limite à notre étude est que nous n'avons pas disposé d'informations sur les patientes, comme par exemple le statut sérologique VIH, qui est un des facteurs de risque pour les lésions précancéreuses du col utérin. Nous n'avons pas pu obtenir également les informations socio démographiques sur les patientes, vu qu'il s'agissait d'une étude rétrospective.

Par ailleurs, le kit de détection de l'ADN du HPV que nous avons utilisé ne ciblait que 14 génotypes à haut risque ; la présence d'autres génotypes HPV-HR n'a pas pu être déterminée.

Le diagnostic histologique n'était pas toujours satisfaisant et n'a pas permis de faire un classement adéquat et pertinent.

Malgré ces limites, les résultats de la présente étude nous paraissent importants et pertinents en termes de recherche sur le HPV et de santé publique.

Les échantillons positifs à HPV étaient de 48,8%, en considérations les résultats adéquats. Ce taux de positivité est inférieur à la plupart des résultats selon de nombreuses études. Cela amène à se demander si la qualité des échantillons n'y est pas pour quelque chose ; il y a aussi le fait que la durée de certains échantillons pourrait jouer un rôle important. Mais beaucoup d'autres études ont montré des résultats très divergents du notre.

En Zambie, une équipe (Bateman et *al.*, 2015) trouvait une prévalence des dysplasies modérées à sévères, 65 cas positifs à HPV sur 75 testés, et 69 cas jugés adéquats soit 31,0% de résultats inadéquats. ( $p < 0,001$ ). Il existe donc une différence significative entre cette étude et la nôtre. Cette étude pourtant avait également des échantillons d'une même durée d'âge que les nôtres et également à peu près le même nombre d'échantillons. Seulement, dans cette étude il n'est pas précisé si certains des échantillons contenait le bouin comme beaucoup des nôtres. Déjà dans les années 90, (Ben-Ezra et *al.*, 1991) démontraient qu'après 6 heures de fixation par le bouin, la PCR ne donnait aucun résultat. Plus tard, cette conclusion a été mise



en cause par une équipe au Brésil (Gouveia et *al.*, 2014), qui a montré avec deux protocoles différents qu'il était possible d'obtenir entre 33,3% à 80% de positivité à la PCR malgré l'utilisation d'une solution de bouin. Cette même équipe a montré que, des tissus fixés au formol donnent des taux de positivité à la PCR compris entre 87,5% et 100% ; et l'utilisation du formaldéhyde comme fixateur peut donner entre 17,6% et 73,7% de positivité. Cette équipe a extrait l'ARN au lieu de l'ADN dans notre cas. Il faut également noté que dans cette étude, le type de tissus n'a pas été précisé.

Notre taux de positivité à HPV était de 48,8% soit 21 sur 43. Au Pakistan, (Siddiqa et *al.*, 2014) trouvaient 73 sur 77 soit 94,81% de positif au HPV. Dans cette étude, il s'agissait d'échantillons de tissus cancéreux, de lésions de bas grade et de lésions de haut grade tout confondu, alors que nos échantillons concernait uniquement les lésions de haut grade.  $p < 0,001$  témoignant d'une différence significative, taux de positivité supérieur à celui de notre étude. Dans cette étude, le kit permettait de détecter 44 génotypes de HPV alors que le nôtre ne permettait de détecter que 14. En plus l'utilisation d'amorces spécifiques a sans doute permis d'obtenir un taux de positivité aussi élevé. Le kit de détection de 14 génotypes HPV a réduit nos chances de retrouver d'autres génotypes et les 43 échantillons adéquats constituent une taille très faible.

Chez des femmes danoises, une étude trouvait 276 adéquats sur 290 échantillons cervicaux de haut grade, et 100% de positivité à HPV contre 48,8% de positivité à HPV dans notre cas  $p < 0,001$  ; il existe donc une différence significative (nos résultats obtenus sont largement inférieurs à ceux obtenus chez les femmes danoises) entre ces deux études. (Kirschner et *al.*, 2013). Dans cette étude, 82,3% des échantillons avaient été diagnostiqués CIN 3 et les 17,7% étaient les CIN 2, CIN 2 à 3, et les adénocarcinomes in situ, alors dans notre étude il n'y avait que cinq CIN 3 adéquat soit 11,6% et un seul a été positif à HPV. Aussi, il faut signaler que la taille de l'échantillon dans cette étude était plus importante que dans la nôtre.

Dans notre étude, le génotype le plus fréquemment rencontré était le type 39 (21,7%). Le HPV 18 (4,3%) était moins représenté avec un seul cas au niveau de la tranche d'âge 30 à 39 ans. Le grand absent était le génotype HPV 16, pourtant retrouvé en vedette dans de nombreuses études, revenu comme une des prévalences les plus élevées et faisant partie des vaccins prophylactiques actuellement disponibles. En Zambie (Bateman et *al.*, 2015) trouvaient 55,4% de positivité à HPV 16 et 7,7% pour HPV 18. Les autres HPV-HR représentaient 40,9%.

Le génotypage de HPV-HR dans des lésions précancéreuses de haut grade chez des femmes danoises a donné des fréquences différentes des nôtres ; en effet, (Kirschner et *al.*, 2013), ont montré que les génotypes HPV 16 (54.0%), HPV 33 (13.5%), HPV 31 (10.7%), HPV 18 (7.9%) et HPV 52 (4.7%) étaient les plus représentés.

En Afrique du Sud (McDonald et *al.*, 2012) ont montré la proportion des infections attribuables aux HPV 16 (22,58% et 40,28%), HPV 35 (31,18% et 19,44%) et HPV 33 (12,90% et 12,50%), respectivement les pourcentages de CIN 2 et CIN 3, qui sont significativement élevé. Cependant, cette équipe a trouvé que les génotypes HPV 56, 59, 51 et 68 étaient bas chez les femmes CIN 2 à 3. Il faut signaler que dans cette étude, ont été incluses uniquement des femmes ayant un statut sérologique HIV négatif.

Une autre équipe à Madrid en Espagne (Garcia-Espinosa et *al.*, 2012) trouvait aussi que HPV 16 était le plus fréquent avec un taux de 45, 2% dans les CIN 2 à 3, suivi de HPV 31, HPV 52, HPV 58, HPV 18, HPV 51, HPV 68, HPV 35, HPV 39, HPV 45 et HPV 56.

A la Nouvelle Zélande, (Simonella et *al.*, 2013) ont montré que HPV 16 était le plus représenté avec 44,1% suivi de HPV 52 (16,8%), HPV 31 (15,2%), HPV 33 (13%), et HPV 18 (12%). HPV 39 qui est pourtant majoritaire dans notre étude ne représentait que 9,2% au niveau des CIN 2 et 5,4% au niveau des CIN 3.

De façon générale, surtout au niveau des études dans les pays développés, on constate que les génotypes qui reviennent à chaque fois sont les HPV 16, HPV 31, HPV 52, HPV 33 et aussi HPV 18.

Au Burkina Faso, les différentes études donnent des résultats différents des pays développés. Une étude menée sur des femmes séropositives au VIH (Sagna et *al.*, 2010), montre que les génotypes HPV dominants sont ceux de la famille 50'S (24,1%), suivi de HPV 18 (21,3%), la famille 30'S (18,4%), HPV 16 (5,7%) et HPV 6 (4,3%). L'équipe de (Djigma et *al.*, 2011) avec une population de 250 femmes séropositives au VIH, trouvait fréquemment les génotypes de la famille 50'S (25,5%) suivi de très près par HPV 18 (25%), la famille 30'S (20,8%), HPV-HR (8,5%), HPV bas risque (5,2%), HPV 16 (4,7%), HPV 6 (5,7%), HPV 45 (3,7%) et HPV 11(0,9%). Chez une population de femme suivi en consultation gynécologique, (Ouedraogo et *al.*, 2011) trouvaient comme génotype fréquemment rencontré la famille 50'S qui venait en tête avec un taux de 31%. Il est suivi de HPV 18 (14,3%), HPV 16 (10,7%), la famille 30'S (5,9%), HPV-HR (5,9%), HPV 45 (3,6%), HPV 6 (17,9%) et

HPV bas risque (10,7%). Les génotypes en tête au niveau de ces études sont la famille 50'S, 30'S, les génotypes 18 et 16. Cependant, il faut savoir que le kit de détection du HPV que ces auteurs avaient utilisé ne leur permettait pas de préciser les génotypes. En caractérisant ces échantillons, (Zohoncon et *al.*, 2013) trouvaient le type HPV 52 suivi des HPV 18, 31 et 35, et des génotypes HPV 59 et 33 comme les moins fréquents. Dans une étude réalisée à Ouagadougou chez des adolescentes (Ouedraogo et *al.*, 2015) trouvaient comme (Zohoncon et *al.*, 2013), HPV 52 comme génotype le plus fréquent avec 22,8% suivi des génotypes HPV 59, HPV 39, HPV 35 et HPV 51. Dans ces études, le statut sérologique pour la plupart des patients ainsi que les caractéristiques sociodémographiques étaient connus, ce qui est différent de notre cas. Sachant que le HIV augmente le risque de développer une néoplasie cervicale intraépithéliale (CIN), et selon certaines études (Dols et *al.*, 2012), le génotype HPV 52 serait plus fréquent chez les femmes séropositives au VIH.

Nous avons rencontré 2 cas d'infections multiples (double HPV) avec un pourcentage de 9,5%. (Garcia-Espinosa et *al.*, 2012) trouvaient 18,4% d'infections multiples. Dans cette étude, il a été trouvé 6 cas d'infections multiples entre HPV 16 et 58 (2 cas); suivi de HPV 16 et 31 (5 cas) ; HPV 16 et 18 (4 cas) et HPV 16 et 52 (1 cas). Au Pakistan, les différentes associations se sont observées entre les génotypes HPV 16, 18 et 19 (Siddiqua et *al.*, 2014). En Afrique du Sud, 24% de cas d'infections multiples ont été observé (McDonald et *al.*, 2012). Les génotypes les plus impliqués étaient HPV 35, 16 et 58 : associations HPV 35 -16 et HPV 35 - 58. Au Burkina Faso, 78,03% de cas d'infections multiples avaient été observé, mais 90,1% des patientes étaient infectées par le VIH (Zohoncon et *al.*, 2013). Plusieurs cas d'infections multiples ont été trouvés par (Ouedraogo et *al.*, 2015) ; dans ce cas, le nombre de génotypes de HPV présents dans les 35 cas d'infection multiple était de 88 sur un total de 136 génotypes (64,7%) et concernait 42,2% des femmes infectées. Le HPV 52 représentait 23,8% des génotypes présents dans ces infections multiples (21/88) ; les associations allaient de 2 à 5 types HPV dans cette étude. Tandis que dans notre étude, nous avons trouvé le génotype HPV 39 était présent dans les deux cas d'infections doubles soit 100%. Une étude en Afrique du Sud a montré que les femmes séropositives au VIH présentaient fréquemment des associations de plus de deux génotypes (Adler et *al.*, 2008). Cela pourrait expliquer le fait que les études ayant inclus des femmes infectées par le VIH présentent plus d'infections multiples.

Nous n'avons pas remarqué de corrélation entre les différentes associations de génotypes HPV. Ce phénomène n'étant pas encore bien compris.

Nous n'avons pas trouvé 'association statistiquement significative entre le résultat final d'histologie et le portage du HPV. Dans notre étude, la prévalence des lésions précancéreuses était nettement inférieure à la plupart des études (Bateman et *al.*, 2015) (Garcia-Espinosa et *al.*, 2012) (Kirschner et *al.*, 2013). Cela pourrait s'expliquer par la taille de notre échantillon mais surtout par la qualité de nos échantillons ; ou d'autres facteurs autres que HPV comme par exemple les bactéries, les parasites, les champignons, autres virus, ou simplement d'autres génotypes HPV que notre kit de détection n'a pas permis de caractériser.

La taille de notre échantillon n'est pas assez importante pour apprécier correctement cette relation entre l'âge et le portage du HPV. Cependant, nous pouvons faire quelques appréciations. Les génotypes HPV 18, 51 et 56 est représenté uniquement dans la tranche d'âge 30 à 39 ans. Quant aux génotypes HPV 56 et 35, ils étaient retrouvés uniquement au niveau de la tranche d'âge 40 à 49 ans. En Afrique du Sud, (McDonald et *al.*, 2012) avaient fait le lien que les jeunes femmes de moins de 30 ans avaient des prévalences plus élevées que les femmes plus âgées notamment les types 18 et 58. La taille des échantillons dans cette étude était bien plus importante que dans la nôtre, ce qui a facilité la comparaison entre les différentes tranches d'âge. A Ouagadougou, (Ouedraogo et *al.*, 2015) trouvaient chez des adolescentes avec un âge moyen de 18,7 ans une prévalence de 41,5%. Dans notre étude il n'y avait pas de femme de moins de 20 ans et la majorité avait entre 30 et 50. L'âge élevé dans notre étude pourrait être la raison pour laquelle nous n'avions pas trouvé certains génotypes du faite de la clairance et aussi l'explication au taux de prévalence à HPV faible.

# **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

## **CONCLUSION**

Les résultats de notre étude montrent que la répartition des types de HPV peut être déterminée en utilisant du matériel biologique archivé, tels que les blocs de paraffine, qui permettent l'évaluation des modifications au fil du temps, mais en prenant des précautions pour éviter les faux négatifs et les échantillons inadéquats. Il faudrait cependant optimiser les méthodes de conservations des échantillons d'histologie afin de garder le plus intact possible l'ADN de ces cellules.

Le cancer du col de l'utérus peut être évité par le diagnostic précoce des lésions précancéreuses et par la caractérisation moléculaire des différents génotypes circulants dans chaque zone géographique afin de mieux diriger les actions de lutte, notamment la vaccination.

Les vaccins actuellement disponibles ne ciblent que les types 16 et 18, pourtant notre étude et ainsi que les précédentes, témoignent d'autres génotypes circulants à très forte prévalence que ces deux. Nous avons trouvé HPV 39, suivi de HPV 35 et HPV 45, HPV 33, HPV 51, HPV 52 et HPV 56, HPV 18, HPV 59 et HPV 68. HPV 18 fait partie des génotypes ayant la plus faible prévalence dans notre étude et HPV 16 est absent. Ces types qui font déjà l'objet de vaccin ne devraient pas être délaissés au vu de ces résultats, mais devront être utilisés dans le but de réduire l'incidence des génotypes ciblés.

Il s'avère nécessaire de réaliser une cartographie du HPV dans la région africaine, afin d'orienter la recherche vers de nouveaux vaccins polyvalents prenant en compte les autres génotypes de HPV à haut risque qui y circulent. Ceci dans le but d'actualiser et d'optimiser les stratégies préventives contre les infections génitales à HPV et le cancer du col de l'utérus.

## **PERSPECTIVES**

Faire de la PCR un outil accessible de routine pour le dépistage et le diagnostic précoce des lésions précancéreuses ;

Rechercher les tissus archivés notamment dans les structures privées, pour une meilleure approche,

Réaliser une étude de plus grande envergure avec un échantillonnage assez représentatif afin d'avoir une cartographie claire des génotypes circulants ;

Faire le point de l'infection à HPV chez les hommes.

## BIBLIOGRAPHIE

- ADLER, D., DE BRUYN, G., LAHER, F., GRAY, G., ALLAN, B. R. & WILLIAMSON, A. L. 2008. Human papillomavirus genotype distribution among human immunodeficiency virus (HIV)-infected and non-HIV-infected women in Soweto, South Africa. *J Clin Microbiol*, 46, 4109-10.
- AGIUS, G. 2006. Infection à papillomavirus du col de l'utérus : enquête épidémiologique dans un Centre de Santé de la Sécurité Sociale, expérience diagnostique au CHU de Poitiers.
- ALAIN, S., HANTZ, S. & DENIS, F. 2010. Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection. *Médecine thérapeutique/Pédiatrie*.
- ANORLU, R. I. 2008. What is the significance of the HPV epidemic? *Can J Urol*, 15, 3860-5.
- ARNEY, A. & BENNETT, K. 2010. Molecular Diagnostics of Human Papillomavirus. *Labmedicine*, 523-530.
- AUBIN, F., PRETET, J. & MOUGIN, C. 2003. *Papillomavirus humains – Biologie et pathologie tumorale*, EM inter, TEC & DOC.
- BATEMAN, A. C., KATUNDU, K., POLEPOLE, P., SHIBEMBA, A., MWANAHAMUNTU, M., DITTMER, D. P., PARHAM, G. P. & CHIBWESHA, C. J. 2015. Identification of human papillomaviruses from formalin-fixed, paraffin-embedded pre-cancer and invasive cervical cancer specimens in Zambia: a cross-sectional study. *Virology*, 12, 2.
- BEN-EZRA, J., JOHNSON, D. A., ROSSI, J., COOK, N. & WU, A. 1991. Effect of fixation on the amplification of nucleic acids from paraffin-embedded material by the polymerase chain reaction. *J Histochem Cytochem*, 39, 351-4.
- BLANC, B. & BENMOURA, D. 1993. *Technique de colposcopie. Colposcopie et pathologie génitale*, Paris, Arnette.
- BOSCH, F. X. & DE SANJOSE, S. 2003. Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer--burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr*, 3-13.
- BOULLAGA, I. 2008. *Les papillomavirus et la régulation de la transcription* [Online]. Available: <http://www.123bio.net/revues> [Accessed Juin 2015].
- BOUSARGHIN, L., TOUZE, A., SIZARET, P. Y. & COURSAGET, P. 2003. Human papillomavirus types 16, 31, and 58 use different endocytosis pathways to enter cells. *J Virol*, 77, 3846-50.
- BRADLEY, J. M. & KRISHNANSU, S. T. 2007. The spectrum and clinical sequelae of human papillomavirus infection. *Gyn Onco*, 6-13.
- CNGOF 2010-2011. Tumeurs du col utérin, tumeurs du corps utérin : lésions bénignes du col utérin. Collège National Des Gynécologues et Obstétriciens Français.
- COURSAGET, P. & TOUZE, A. 2006. Les vaccins contre les papillomavirus.
- DE VILLIERS, E. M., FAUQUET, C., BROKER, T. R., BERNARD, H. U. & ZUR HAUSEN, H. 2004. Classification of papillomaviruses. *Virology*, 324, 17-27.
- DGS-CTV 2008. Direction générale de la santé, Comité technique des vaccinations. Edition 2008 ed.
- DIDELOT-ROUSSEAU, M. N., NAGOT, N., COSTES-MARTINEAU, V., VALLES, X., OUEDRAOGO, A., KONATE, I., WEISS, H. A., VAN DE PERRE, P., MAYAUD, P., SEGONDY, M. & YERELON STUDY, G. 2006. Human papillomavirus genotype

- distribution and cervical squamous intraepithelial lesions among high-risk women with and without HIV-1 infection in Burkina Faso. *Br J Cancer*, 95, 355-62.
- 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.
- DOLS, J. A., REID, G., BROWN, J. M., TEMPELMAN, H., BONTEKOE, T. R., QUINT, W. G. & BOON, M. E. 2012. HPV Type Distribution and Cervical Cytology among HIV-Positive Tanzanian and South African Women. *ISRN Obstet Gynecol*, 2012, 514146.
- DUPORT, N. 2008. *Données épidémiologiques sur le cancer du col de l'utérus - État des connaissances - Actualisation 2008*, Institut de Veille Sanitaire, France.
- FRANCO, E. L., ROHAN, T. E. & VILLA, L. L. 1999. Epidemiologic evidence and human papillomavirus infection as a necessary cause of cervical cancer. *J Natl Cancer Inst*, 91, 506-11.
- GARCIA-ESPINOSA, B., MORO-RODRIGUEZ, E. & ALVAREZ-FERNANDEZ, E. 2012. Genotype distribution of human papillomavirus (HPV) in histological sections of cervical intraepithelial neoplasia and invasive cervical carcinoma in Madrid, Spain. *BMC Cancer*, 12, 533.
- GOUVEIA, G. R., FERREIRA, S. C., FERREIRA, J. E., SIQUEIRA, S. A. & PEREIRA, J. 2014. Comparison of two methods of RNA extraction from formalin-fixed paraffin-embedded tissue specimens. *Biomed Res Int*, 2014, 151724.
- HANTZ, S., ALAIN, S. & DENIS, F. 2006. [Human papillomavirus prophylactic vaccines: stakes and perspectives]. *Gynecol Obstet Fertil*, 34, 647-55.
- HESSEL, L. 2009. [Introduction of vaccination against human papillomavirus in developing countries: update and perspectives]. *Med Trop (Mars)*, 69, 323-6.
- IARC 1995. Monograph on the evaluation of carcinogenic risks to human. Lyon.
- KIRSCHNER, B., SCHLEDERMANN, D., HOLL, K., ROSENLUND, M., RAILLARD, A., QUINT, W., MOLIJN, A., JENKINS, D. & JUNGE, J. 2013. HPV-genotypes in high-grade intraepithelial cervical lesions in Danish women. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 92, 1032-40.
- KJAER, S. K., CHACKERIAN, B., VAN DEN BRULE, A. J., SVARE, E. I., PAULL, G., WALBOMERS, J. M., SCHILLER, J. T., BOCK, J. E., SHERMAN, M. E., LOWY, D. R. & MEIJER, C. L. 2001. High-risk human papillomavirus is sexually transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*, 10, 101-6.
- KOSS, L. G., STEWART, F., FOOTE, F. W., JORDAN, M. J., BADER, G. M. & DAY, E. 1963. Some Histological Aspects of Behavior of Epidermoid Carcinoma in Situ and Related Lesions of the Uterine Cervix. A Long-Term Prospective Study. *Cancer*, 16, 1160-211.
- LANSAC, J. & LECOMPTE, P. 1999. *Le cancer du col*, Paris, Masson.
- LOUIE, K., DIDELOT, M., DAMAY, A., NAGOT, N. & MAYAUD, P. 2008. Papillomavirus humains et cancers associés: aspects épidémiologiques. *Revue Francophone des Laboratoires*.
- LUXTON, J. C., NATH, R., DERIAS, N., HERBERT, A. & SHEPHERD, P. S. 2003. Human papillomavirus type 16-specific T cell responses and their association with recurrence of cervical disease following treatment. *J Gen Virol*, 84, 1063-70.



- LY, A. 2009. Le cancer du col utérin : nouveaux vaccins, nouvelles perspectives? *J. Afr. Cancer*, 1, 65-67.
- MCDONALD, A. C., DENNY, L., WANG, C., TSAI, W. Y., WRIGHT, T. C., JR. & KUHN, L. 2012. Distribution of high-risk human papillomavirus genotypes among HIV-negative women with and without cervical intraepithelial neoplasia in South Africa. *PLoS One*, 7, e44332.
- MODIS, Y., TRUS, B. L. & HARRISON, S. C. 2002. Atomic model of the papillomavirus capsid. *EMBO J*, 21, 4754-62.
- MONSENÉGO, J. 1988. *Dysplasies du col utérin et Papillomavirus humains*, Paris, Maloine.
- MONSÉNÉGO, J. 2007. *Traité des infections génitales à papillomavirus*.
- MONSONEGO, J. 2006. [Cervical cancer prevention: the impact of HPV vaccination]. *Gynecol Obstet Fertil*, 34, 189-201.
- MONSONEGO, J. 2010. [Anal cancer and human papillomaviruses: a perspective based on the cervical cancer model]. *Gynecol Obstet Fertil*, 38, 250-4.
- MONSONEGO, J., POLLINI, G., EVRARD, M. J., SEDNAOUI, P., MONFORT, L., QUINZAT, D., DACHEZ, R. & SYRJANEN, K. 2008. Linear array genotyping and hybrid capture II assay in detecting human papillomavirus genotypes in women referred for colposcopy due to abnormal Papanicolaou smear. *Int J STD AIDS*, 19, 385-92.
- MOUGIN, C., BERNARD, B. & LAB, M. 1997. [Biology of papillomavirus infections. I. General characteristics]. *Ann Biol Clin (Paris)*, 55, 555-63.
- NARDUCCI, F., OCCELLI, B., BOMAN, F., VINATIER, D. & LEROY, J. L. 2000. Positive margins after conization and risk of persistent lesion. *Gynecol Oncol*, 76, 311-4.
- OKUN, M. M., DAY, P. M., GREENSTONE, H. L., BOOY, F. P., LOWY, D. R., SCHILLER, J. T. & RODEN, R. B. 2001. L1 interaction domains of papillomavirus l2 necessary for viral genome encapsidation. *J Virol*, 75, 4332-42.
- OMS, O. M. D. L. S. 2007. *La lutte contre le cancer du col de l'utérus. Guide des pratiques essentielles. Prise en charge intégrée de la santé génésique et sexuelle et des maladies chroniques*. Genève.
- OSTOR, A. G. 1993. Natural history of cervical intraepithelial neoplasia: a critical review. *Int J Gynecol Pathol*, 12, 186-92.
- OUEDRAOGO, C. M., DJIGMA, F. W., BISSEYE, C., SAGNA, T., ZEBA, M., OUERMI, D., KAROU, S. D., PIETRA, V., BUELLI, F., GHILAT-AVOID-BELEM, N. W., SANOGO, K., SEMPORE, J., MORET, R., PIGNATELLI, S., NIKIEMA, J. B. & SIMPORE, J. 2011. [Epidemiology, characterization of genotypes of human papillomavirus in a population of women in Ouagadougou]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 40, 633-8.
- OUEDRAOGO, C. M., RAHIMY, R. M., ZOHONCON, T. M., DJIGMA, F. W., YONLI, A. T., OUERMI, D., SANNI, A., LANKOANDE, J. & SIMPORE, J. 2015. [Epidemiology and characterization of high-risk genotypes of human Papillomavirus in a population of sexually active adolescents in Ouagadougou.]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*.
- POITRAS, E. & HOUDE, A. 2002. La PCR en temps réel: principes et applications. *Rev. Biol. Biotech*, 2-11.
- PUND, E. R. & NIEBURGS, H. E. 1947. Preinvasive carcinoma of the cervix uteri; seven cases in which it was detected by examination of routine endocervical smears. *Arch Pathol (Chic)*, 44, 571-7.
- RIETHMULLER, D., GABELLE, C., RAMANAH, R., SAUTIERE, J. L., PRETET, J. L., SCHAAL, J. P., KANTELIP, B., MOUGIN, C. & MAILLET, R. 2008. [Importance

- of human papillomavirus (HPV) screening in the follow-up after CIN2-3 treatment]. *J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris)*, 37, 329-37.
- RIETHMULLER, D., SCHAAL, J. P. & MOUGIN, C. 2002. [Epidemiology and natural history of genital infection by human papillomavirus]. *Gynecol Obstet Fertil*, 30, 139-46.
- SACACE 2014. RT PCR kit/ HPV Genotypes 14 Real-TM Quant.
- SAGNA, T., DJIGMA, F., ZEBA, M., BISSEYE, C., KAROU, S. D., OUERMI, D., PIETRA, V., GNOULA, C., SANOGO, K., NIKIEMA, J. B. & SIMPORE, J. 2010. Human papillomaviruses prevalence and genital co-infections in HIV-seropositive women in Ouagadougou (Burkina Faso). *Pak J Biol Sci*, 13, 951-5.
- SELLORS, J. & SANKARANARAYANAN, R. 2004. *Colposcopie et traitement des néoplasies cervicales intraépithéliales : manuel a l'usage des debutants*, Lyon.
- SHAFTI-KERAMAT, S., HANDISURYA, A., KRIEHLBER, E., MENEGUZZI, G., SLUPETZKY, K. & KIRNBAUER, R. 2003. Different heparan sulfate proteoglycans serve as cellular receptors for human papillomaviruses. *J Virol*, 77, 13125-35.
- SIDDIQA, A., ZAINAB, M., QADRI, I., BHATTI, M. F. & PARISH, J. L. 2014. Prevalence and genotyping of high risk human papillomavirus in cervical cancer samples from Punjab, Pakistan. *Viruses*, 6, 2762-77.
- SIMONELLA, L. M., LEWIS, H., SMITH, M., NEAL, H., BROMHEAD, C. & CANFELL, K. 2013. Type-specific oncogenic human papillomavirus infection in high grade cervical disease in New Zealand. *BMC Infect Dis*, 13, 114.
- STANLEY, M. A. 2009. Immune responses to human papilloma viruses. *Indian J Med Res*, 130, 266-76.
- STANLEY, M. A., PETT, M. R. & COLEMAN, N. 2007. HPV: from infection to cancer. *Biochem Soc Trans*, 35, 1456-60.
- STEENBERGEN, R. D., DE WILDE, J., WILTING, S. M., BRINK, A. A., SNIJDERS, P. J. & MEIJER, C. J. 2005. HPV-mediated transformation of the anogenital tract. *J Clin Virol*, 32 Suppl 1, S25-33.
- TSE, C. & CAPEAU, J. 2003. Real time PCR methodology for quantification of nucleic acids. Paris.
- VILLA, L. L., COSTA, R. L., PETTA, C. A., ANDRADE, R. P., AULT, K. A., GIULIANO, A. R., WHEELER, C. M., KOUTSKY, L. A., MALM, C., LEHTINEN, M., SKJELDESTAD, F. E., OLSSON, S. E., STEINWALL, M., BROWN, D. R., KURMAN, R. J., RONNETT, B. M., STOLER, M. H., FERENCZY, A., HARPER, D. M., TAMMS, G. M., YU, J., LUPINACCI, L., RAILKAR, R., TADDEO, F. J., JANSEN, K. U., ESSER, M. T., SINGS, H. L., SAAH, A. J. & BARR, E. 2005. Prophylactic quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16, and 18) L1 virus-like particle vaccine in young women: a randomised double-blind placebo-controlled multicentre phase II efficacy trial. *Lancet Oncol*, 6, 271-8.
- ZOHONCON, T. M., BISSEYE, C., DJIGMA, F. W., YONLI, A. T., COMPAORE, 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.
- ZUR HAUSEN, H. 2009. Human papillomavirus & cervical cancer. *Indian J Med Res*, 130, 209.