



كلية الطب
والصيدلة - مراكش
FACULTÉ DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE - MARRAKECH

Année 2019

Thèses N°009

Dépistage du papillomavirus humain dans la région de Marrakech

THÈSE

PRÉSENTÉE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 16/01/2019

PAR

Mme. Fatima AIT EL HADJ

Née le 28 mars 1989 à TATA

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MÉDECINE

MOTS-CLÉS :

Papillomavirus humain - Dépistage - Génotype

JURY

M. L. BOUKHANNI

Professeur de Gynécologie-obstétrique

PRESIDENT

M. S. ZOUHAIR

Professeur de Microbiologie-Virologie

RAPPORTEUR

Mme. H. RAIS

Professeur d'Anatomo-pathologie

Co-rapporteur



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

فَأَمَّا الزَّبَدُ فَيَذْهَبُ جُفَاءً ۗ
وَأَمَّا مَا يَنْفَعُ النَّاسَ فَيَمْكُتُ فِيهِ
الْأَرْضِ

صدق الله العظيم

سورة الرعد الآية 17





Serment d'hypocrate

Au moment d'être admis à devenir membre de la profession médicale, je m'engage solennellement à consacrer ma vie au service de l'humanité.

Je traiterai mes maîtres avec le respect et la reconnaissance qui leur sont dus.

Je pratiquerai ma profession avec conscience et dignité. La santé de mes malades sera mon premier but.

Je ne trahirai pas les secrets qui me seront confiés.

Je maintiendrai par tous les moyens en mon pouvoir l'honneur et les nobles traditions de la profession médicale. Les médecins seront mes frères.

Aucune considération de religion, de nationalité, de race, aucune considération politique et sociale, ne s'interposera entre mon devoir et mon patient.

Je maintiendrai strictement le respect de la vie humaine dès sa conception.

Même sous la menace, je n'userai pas mes connaissances médicales d'une façon contraire aux lois de l'humanité.

Je m'y engage librement et sur mon honneur.

Déclaration Genève, 1948





*LISTE
DES PROFESSEURS*



UNIVERSITE CADI AYYAD
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
MARRAKECH

Doyens Honoraires : Pr. Badie Azzaman MEHADJI
: Pr. Abdelhaq ALAOUI YAZIDI

ADMINISTRATION

Doyen : Pr. Mohammed BOUSKRAOUI
Vice doyen à la Recherche et la Coopération : Pr. Mohamed AMINE
Vice doyen aux Affaires Pédagogiques : Pr. Redouane EL FEZZAZI
Secrétaire Générale : Mr. Azzeddine EL HOUDAIGUI

Professeurs de l'enseignement supérieur

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABKARI Imad	Traumato-orthopédie B	ESSAADOUNI Lamiaa	Médecine interne
ABOU EL HASSAN Taoufik	Anesthésie-réanimation	FINECH Benasser	Chirurgie – générale
ABOULFALAH Abderrahim	Gynécologie-obstétrique	FOURAIJI Karima	Chirurgie pédiatrique B
ABOUSSAIR Nisrine	Génétique	GHANNANE Houssine	Neurochirurgie
ADERDOUR Lahcen	Oto- rhino- laryngologie	HAJJI Ibtissam	Ophtalmologie
ADMOU Brahim	Immunologie	HOCAR Ouafa	Dermatologie
AGHOUTANE El Mouhtadi	Chirurgie pédiatrique A	JALAL Hicham	Radiologie
AIT BENALI Said	Neurochirurgie	KHALLOUKI Mohammed	Anesthésie-réanimation

AIT BENKADDOUR Yassir	Gynécologie- obstétrique A	KHATOURI Ali	Cardiologie
AIT-SAB Imane	Pédiatrie	KHOUCHANI Mouna	Radiothérapie
AKHDARI Nadia	Dermatologie	KISSANI Najib	Neurologie
AMAL Said	Dermatologie	KOULALI IDRISSE Khalid	Traumato- orthopédie
AMINE Mohamed	Epidémiologie- clinique	KRATI Khadija	Gastro- entérologie
AMMAR Haddou	Oto-rhino- laryngologie	LAGHMARI Mehdi	Neurochirurgie
AMRO Lamyae	Pneumo- phtisiologie	LAKMICH Mohamed Amine	Urologie
ARSALANE Lamiae	Microbiologie - Virologie	LAOUAD Inass	Néphrologie
ASMOUKI Hamid	Gynécologie- obstétrique B	LOUZI Abdelouahed	Chirurgie – générale
ASRI Fatima	Psychiatrie	MADHAR Si Mohamed	Traumato- orthopédie A
BENCHAMKHA Yassine	Chirurgie réparatrice et plastique	MAHMAL Lahoucine	Hématologie - clinique
BENELKHAIAT BENOMAR Ridouan	Chirurgie - générale	MANOUDI Fatiha	Psychiatrie
BENJILALI Laila	Médecine interne	MANSOURI Nadia	Stomatologie et chiru maxillo faciale
BOUAITY Brahim	Oto-rhino- laryngologie	MOUDOUNI Said Mohammed	Urologie
BOUGHALEM Mohamed	Anesthésie - réanimation	MOUTAJ Redouane	Parasitologie
BOUKHIRA Abderrahman	Biochimie - chimie	MOUTAOUAKIL Abdeljalil	Ophtalmologie
BOUMZEBRA Drissi	Chirurgie Cardio- Vasculaire	NAJEB Youssef	Traumato- orthopédie
BOURROUS Monir	Pédiatrie A	NARJISS Youssef	Anesthésie- réanimation
BOUSKRAOUI Mohammed	Pédiatrie A	NEJMI Hicham	Rhumatologie
CHAFIK Rachid	Traumato- orthopédie A	NIAMANE Radouane	Oto rhino laryngologie
CHAKOUR Mohamed	Hématologie	NOURI Hassan	Radiologie
CHELLAK Saliha	Biochimie- chimie	OUALI IDRISSE Mariem	Chirurgie pédiatrique
CHERIF IDRISSE EL GANOUNI Najat	Radiologie	OULAD SAIAD Mohamed	Chirurgie générale

CHOULLI Mohamed Khaled	Neuro pharmacologie	RABBANI Khalid	Oto-rhino-laryngologie
DAHAMI Zakaria	Urologie	RAJI Abdelaziz	Traumato-orthopédie
EL ADIB Ahmed Rhassane	Anesthésie-réanimation	SAIDI Halim	Anesthésie-réanimation
EL ANSARI Nawal	Endocrinologie et maladies métaboliques	SAMKAOUI Mohamed Abdenasser	Gastro- entérologie
EL BOUCHTI Imane	Rhumatologie	SAMLANI Zouhour	Urologie
EL BOUIHI Mohamed	Stomatologie et chir maxillo faciale	SARF Ismail	Pédiatrie B
EL FEZZAZI Redouane	Chirurgie pédiatrique	SORAA Nabila	Gynécologie-obstétrique A/B
EL HAOURY Hanane	Traumato-orthopédie A	SOUMMANI Abderraouf	Maladies infectieuses
EL HATTAOUI Mustapha	Cardiologie	TASSI Noura	Anesthésie-réanimation
EL HOUDZI Jamila	Pédiatrie B	YOUNOUS Said	Médecine interne
EL KARIMI Saloua	Cardiologie	ZAHLANE Mouna	Microbiologie
ELFIKRI Abdelghani	Radiologie	ZOUHAIR Said	Chirurgie générale

Professeurs Agrégés

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABOUCHADI Abdeljalil	Stomatologie et chir maxillo faciale	FADILI Wafaa	Néphrologie
ADALI Imane	Psychiatrie	FAKHIR Bouchra	Gynécologie-obstétrique A
ADARMOUCH Latifa	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)	FAKHRI Anass	Histologie-embryologie cytogénétique
AISSAOUI Younes	Anesthésie - réanimation	GHOUNDALE Omar	Urologie
AIT AMEUR Mustapha	Hématologie Biologique	HACHIMI Abdelhamid	Réanimation médicale
AIT BATAHAR Salma	Pneumo-phtisiologie	HAROU Karam	Gynécologie-obstétrique B

ALAOUI Mustapha	Chirurgie-vasculaire périphérique	HAZMIRI Fatima Ezzahra	Histologie – Embryologie - Cytogénétique
ALJ Soumaya	Radiologie	IHBIBANE fatima	Maladies Infectieuses
ANIBA Khalid	Neurochirurgie	KAMILI El Ouafi El Aouni	Chirurgie pédiatrique B
ATMANE El Mehdi	Radiologie	KRIET Mohamed	Ophthalmologie
BAIZRI Hicham	Endocrinologie et maladies métaboliques	LAKOUICHMI Mohammed	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale
BASRAOUI Dounia	Radiologie	LOUHAB Nisrine	Neurologie
BASSIR Ahlam	Gynécologie-obstétrique A	MAOULAININE Fadl mrabih rabou	Pédiatrie (Neonatalogie)
BELBARAKA Rhizlane	Oncologie médicale	MATRANE Aboubakr	Médecine nucléaire
BELKHOU Ahlam	Rhumatologie	MEJDANE Abdelhadi	Chirurgie Générale
BEN DRISS Laila	Cardiologie	MOUAFFAK Youssef	Anesthésie - réanimation
BENHIMA Mohamed Amine	Traumatologie - orthopédie B	MOUFID Kamal	Urologie
BENJELLOUN HARZIMI Amine	Pneumo-phtisiologie	MSOUGGAR Yassine	Chirurgie thoracique
BENLAI Abdeslam	Psychiatrie	OUBAHA Sofia	Physiologie
BENZAROUEL Dounia	Cardiologie	QACIF Hassan	Médecine interne
BOUCHENTOUF Rachid	Pneumo-phtisiologie	QAMOUSS Youssef	Anesthésie-réanimation
BOUKHANNI Lahcen	Gynécologie-obstétrique B	RADA Noureddine	Pédiatrie A
BOURRAHOUEAT Aicha	Pédiatrie B	RAFIK Redda	Neurologie
BSISS Mohamed Aziz	Biophysique	RAIS Hanane	Anatomie pathologique
CHRAA Mohamed	Physiologie	RBAIBI Aziz	Cardiologie
DAROUASSI Youssef	Oto-Rhino - Laryngologie	ROCHDI Youssef	Oto-rhino-laryngologie
DRAISS Ghizlane	Pédiatrie	SAJIAI Hafsa	Pneumo- phtisiologie
EL AMRANI Moulay Driss	Anatomie	SEDDIKI Rachid	Anesthésie - Réanimation

EL BARNI Rachid	Chirurgie-générale	TAZI Mohamed Iliias	Hématologie- clinique
EL HAOUATI Rachid	Chiru Cardio vasculaire	ZAHLANE Kawtar	Microbiologie - virologie
EL IDRISSE SLITINE Nadia	Pédiatrie	ZAOUI Sanaa	Pharmacologie
EL KHADER Ahmed	Chirurgie générale	ZEMRAOUI Nadir	Néphrologie
EL KHAYARI Mina	Réanimation médicale	ZIADI Amra	Anesthésie - réanimation
EL MGHARI TABIB Ghizlane	Endocrinologie et maladies métaboliques	ZYANI Mohammed	Médecine interne
EL OMRANI Abdelhamid	Radiothérapie		

Professeurs Assistants

Nom et Prénom	Spécialité	Nom et Prénom	Spécialité
ABDELFFETTAH Youness	Rééducation et Réhabilitation Fonctionnelle	JALLAL Hamid	Cardiologie
ABDOU Abdessamad	Chiru Cardio vasculaire	JANAH Hicham	Pneumo- phtisiologie
ABIR Badreddine	Stomatologie et Chirurgie maxillo faciale	KADDOURI Said	Médecine interne
AKKA Rachid	Gastro - entérologie	LAFFINTI Mahmoud Amine	Psychiatrie
ALAOUI Hassan	Anesthésie - Réanimation	LAHKIM Mohammed	Chirurgie générale
AMINE Abdellah	Cardiologie	LALYA Issam	Radiothérapie
ARABI Hafid	Médecine physique et réadaptation fonctionnelle	LOQMAN Souad	Microbiologie et toxicologie environnementale
ARSALANE Adil	Chirurgie Thoracique	MAHFOUD Tarik	Oncologie médicale
ASSERRAJI Mohammed	Néphrologie	MARGAD Omar	Traumatologie - orthopédie
BAALLAL Hassan	Neurochirurgie	MILOUDI Mohcine	Microbiologie - Virologie
BABA Hicham	Chirurgie générale	MLIHA TOUATI Mohammed	Oto-Rhino - Laryngologie

BELARBI Marouane	Néphrologie	MOUHSINE Abdelilah	Radiologie
BELBACHIR Anass	Anatomie- pathologique	MOUNACH Aziza	Rhumatologie
BELFQUIH Hatim	Neurochirurgie	MOUZARI Yassine	Ophtalmologie
BELGHMAIDI Sarah	OPhtalmologie	NADER Youssef	Traumatologie - orthopédie
BELHADJ Ayoub	Anesthésie - Réanimation	NAOUI Hafida	Parasitologie Mycologie
BENNAOUI Fatiha	Pédiatrie (Neonatalogie)	NASSIM SABAH Taoufik	Chirurgie Réparatrice et Plastique
BOUCHENTOUF Sidi Mohammed	Chirurgie générale	NYA Fouad	Chirurgie Cardio - Vasculaire
BOUKHRIS Jalal	Traumatologie - orthopédie	OUERIAGLI NABIH Fadoua	Psychiatrie
BOUZERDA Abdelmajid	Cardiologie	REBAHI Houssam	Anesthésie - Réanimation
CHETOUI Abdelkhalek	Cardiologie	RHARRASSI Isam	Anatomie- patologique
EL KAMOUNI Youssef	Microbiologie Virologie	SALAMA Tarik	Chirurgie pédiatrique
EL MEZOUARI El Moustafa	Parasitologie Mycologie	SAOUAB Rachida	Radiologie
ELBAZ Meriem	Pédiatrie	SEBBANI Majda	Médecine Communautaire (médecine préventive, santé publique et hygiène)
ELQATNI Mohamed	Médecine interne	SERGHINI Issam	Anesthésie - Réanimation
ESSADI Ismail	Oncologie Médicale	TAMZAOURTE Mouna	Gastro - entérologie
FDIL Naima	Chimie de Coordination Bio- organique	TOURABI Khalid	Chirurgie réparatrice et plastique
FENNANE Hicham	Chirurgie Thoracique	YASSIR Zakaria	Pneumo- phtisiologie
GHAZI Mirieme	Rhumatologie	ZARROUKI Youssef	Anesthésie - Réanimation
GHOZLANI Imad	Rhumatologie	ZIDANE Moulay Abdelfettah	Chirurgie Thoracique
HAMMI Salah Eddine	Médecine interne	ZOUIZRA Zahira	Chirurgie Cardio- Vasculaire
Hammoune Nabil	Radiologie		



DÉDICACES



Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude,

L'amour, Le respect, la reconnaissance...

Aussi, c'est tout simplement que :



Je dédie cette thèse ...



A MES CHERS PARENTS MOHAMMED ET KOUMA :

Je ne saurais remercier Dieu assez de m'avoir gâtée depuis ma naissance par le don de vous avoir comme géniteurs.

Je vous dois non seulement toute mon existence mais aussi cette profession vers laquelle vous m'avez guidé. Vous avez toujours été là pour moi, quelles que soient les circonstances.

Sans vous, je ne suis rien, mais grâce à vous je deviens médecin.

J'implore Dieu qu'il vous procure santé et qu'il m'aide à vous compenser tous les malheurs passés.

Je suis le fruit de votre grande patience, de vos nombreux sacrifices, et de votre éducation.

Vous n'avez pas cessé de me soutenir et de m'encourager, votre amour, votre générosité exemplaire et votre présence constante ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui.

Vos prières ont été pour moi un grand soutien tout au long de mes études.

J'espère que vous trouverez dans ce modeste travail un témoignage de ma gratitude, ma profonde affection et mon profond respect.

A MES CHERES SOEURS NADYA, HAJAR ET IMANE :

En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments.

Je vous dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection et de mon attachement

Merci d'être dans ma vie.

A MON ADORABLE ABOOD

Nul mot ne saurait exprimer la profondeur de mes sentiments et l'estime que j'ai pour toi.

Tu m'as toujours soutenu, comprise et réconfortée.

Tu es et tu resteras toujours ma source d'inspiration. Merci pour ta tendresse, ton attention, ta patience et tes encouragements.

A MES GRANDES MERES RKIA ET AICHA

Vos prières m'ont toujours été d'un soutien remarquable. Je vous dédie ce travail en espérant que dieu le tout puissant vous procure santé et longévité.

A LA MEMOIRE DE MON GRAND PERE TAYB

J'aurais aimé que tu sois là mais dieu à voulu autrement, j'espère que tu sois fier de moi là où tu es

Que ton âme repose en paix

A MON ONCLE HACHEM

Merci de m'avoir aimé et soutenu, tu n'étais jamais comme les autres

J'espère que tu sois fier de moi

Je te dédie ce travail et je te souhaite le meilleur dans la vie

A MES MEILLEURS AMIES ZAINA, SOMYA ET IMANE

Que tous les polycopies et grands bouquins que nous avons feuilleté pendant des heures, jusqu'à réveiller nos sciatalgies, puissent être le fruit de connaissances médicales inédites et d'un grand savoir au profit de nos malades. Nos sourires et nos colères, nos motivations et nos déprimés, nos gaietés et nos déceptions constitueront à jamais mes plus belles années universitaires.

Merci d'avoir toujours été présents, et de m'avoir très souvent aidé à faire face à toutes les épreuves imposées par ce long parcours. Merci de me comprendre autant et de partager mes soucis, mes craintes, et mes ambitions. Je vous remercie pour tout ce que vous m'as apporté. En témoignage de l'amitié qui nous uni et des souvenirs de tous les moments que nous avons passé ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur. Que notre fraternité reste éternelle.

A MES CHERS AMIS : NADIA, MERJEM, MIMI, FATIMA ZAHRA, et TITIMA

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées

Je vous dédie ce travail et je vous remercie pour tous les moments inoubliables que nous avons partagés, et pour tout le bonheur que vous me procurez. Vous êtes ce que la vie offre de meilleur : des complices et des amies

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS ET QUE J'AI INVOLONTAIREMENT OMIS DE CITER,



REMERCIEMENTS



A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DE THESE :

Pr. M. BOUSKRAOUI

Nous sommes très sensibles au grand honneur que vous nous faites en acceptant avec bienveillance de présider le jury de notre thèse.

Nous avons toujours admiré la simplicité, la facilité de votre abord et largement bénéficié de l'étendue de votre savoir et de vos hauts talents pédagogiques. Vos hautes qualités humaines et professionnelles ainsi que votre sérieux ont toujours suscité notre profond respect. Veuillez trouver dans ce travail, les marques de notre profonde gratitude et l'expression d'une infinie reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET RAPPORTEUR DE THESE :

Pr. S. ZOUHAIR

Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de nous offrir l'opportunité de diriger ce travail, vous nous avez signifié par la même occasion votre confiance.

Professeur admiré par tous, et réputé pour votre rigueur, compétence, et vos qualités de pédagogue, nous avons été très impressionnés par votre grande disponibilité. Vos remarques toujours précises, associées à votre sagesse ont été importantes pour nous.

En reconnaissance des efforts que vous avez fournis en dirigeant ce travail avec autant de simplicité que de sympathie, et en espérant être digne de votre confiance, veuillez trouver ici l'expression d'un très grand respect.

A NOTRE MAITRE CO-ENCADRANT ET JUGE DE THESE :

Pr. H. ASMOUKI

L'accueil que vous nous avez réservé et la spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans ce jury nous sont allés droit au cœur.

Votre rigueur dans le travail, votre gentillesse et votre conscience professionnelle font de vous un praticien exemplaire. Permettez-nous, de vous adresser ici nos sincères remerciements.

A NOTRE MAITRE CO-ENCADRANT ET JUGE DE THESE :

Pr. H. RAIS

Nous sommes particulièrement touchés par la gentillesse avec laquelle vous avez bien voulu accepter de juger ce travail.

Votre parcours professionnel, votre compétence incontestable, votre charisme et vos qualités humaines font de vous un grand professeur et nous inspirent une grande admiration et un profond respect. Permettez-nous, Cher Maître de vous exprimer notre profond respect et notre sincère gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE DE THESE :

Pr. L. BOUKHANI

Votre présence au sein de notre jury constitue pour moi un grand honneur. Par votre modestie, vous m'avez montré la signification morale de notre profession. Nous vous remercions de votre enseignement et gentillesse. Qu'il me soit permis de vous présenter à travers ce travail le témoignage de mon grand respect et l'expression de ma profonde reconnaissance.

Dr. BARKIA AZIZ

Pour sa contribution à la mise en place du projet

*A Mr. FOUKOUS TAOUFIK, Mme. EDDEBARH
BOUCHRA et HAFFOUD AMINE*

Pour leur aide technique à la réalisation de la PCR,

*A l'équipe du service de gynéco obstétrique de l'hôpital
MERE ENFANT DU CHU MED VI*

Merci pour votre accueil et votre collaboration

*A Dr. ELHAMRI LATIFA résidente au laboratoire
d'ANATOMO PATHOLOGIE*

Pour les efforts fournis à la réalisation de l'étude cytologique

*Au comité d'éthique de la FMPM présidé par Pr. AIT
BEN ALI et ses membres Pr. AIT BATAHAR, Pr.
ADERMOUCH, Pr. BOUMZEBRA et Pr.
ABOUSSAIR*

*Pour leurs recommandations et accompagnement dans
l'élaboration du volet éthique du projet*



LISTE DES ILLUSTRATIONS



Liste des tableaux

<u>Tableau I</u> : Classification des HPV selon l'IARC, dernière mise à jour 7 avril 2015.....	07
<u>Tableau II</u> : Protéines virales et leurs principales fonctions.....	13
<u>Tableau III</u> : Types d'HPV et lésions associées.....	24
<u>Tableau IV</u> : Cancers attribuables aux HPV.....	25
<u>Tableau V</u> : profil thermique d'amplification.....	53
<u>Tableau VI</u> : Volumes de réactifs E1 et E2 à mélanger dans le flacon E en fonction du nombre d'échantillons à traiter.....	56
<u>Tableau VII</u> : Répartition du nombre total selon les tranches d'âge.....	61
<u>Tableau VIII</u> : répartition des patientes selon le niveau socio économique.....	62
<u>Tableau IX</u> : répartition des patientes selon l'utilisation de la CO.....	63
<u>Tableau X</u> : répartition des patientes selon le tabagisme.....	63
<u>Tableau XI</u> : répartition des patientes selon la présence du cancer du sein.....	64
<u>Tableau XII</u> : répartition selon la réalisation du FCV.....	65
<u>Tableau XIII</u> : répartition des résultats du typage.....	67
<u>Tableau XIV</u> : les différents génotypes détectés	68
<u>Tableau XV</u> : tableau récapitulatif des résultats du génotypage.....	70
<u>Tableau XVI</u> : répartition de HPV par tranche d'âge.....	70
<u>Tableau XVII</u> : présence de facteurs de risque pour les patientes HPV positifs.....	71
<u>Tableau XVIII</u> : infection à papillomavirus et âge.....	74
<u>Tableau XIX</u> : infection à papillomavirus et statuts social.....	75
<u>Tableau XX</u> : contraception orale et infection à papillomavirus humain.....	76
<u>Tableau XXI</u> : infection à papillomavirus et parité.....	77
<u>Tableau XXII</u> : positivité du papillomavirus chez les tabagiques.....	77
<u>Tableau XXIII</u> : répartition d'infection mycosique.....	78
<u>Tableau XXIV</u> : dépistage et infection à papillomavirus.....	79
<u>Tableau XXV</u> : fréquence des infections à papilloma virus humain.....	81

<u>Tableau XXVI</u> : répartition des infections à Papillomavirus haut risque et bas risque dans différentes études.....	81
<u>Tableau XXVII</u> : fréquence de l'infection HPV bas risque par rapport à l'âge.....	82
<u>Tableau XXVIII</u> : fréquence des infections unique et multiple dans les différentes études.....	82
<u>Tableau XXIX</u> : répartition de l'infection HPV par rapport aux lésions cytologiques.....	83
<u>Tableau XXX</u> : géotypes les plus fréquents dans différentes études.....	84

Liste des figures

Figure 1 : Arbre phylogénétique des HPV.....	06
Figure2 : Structure de la capside virale des <i>Papillomavirus</i> au microscope électronique	08
Figure3 : structure du papillomavirus.....	09
Figure 4 : Organisation du génome HPV16	09
Figure 5 : Rôles physiologiques de la protéine p53.....	12
Figure 6 : Cycle cellulaire des <i>Papillomavirus</i>	15
Figure 7 : Cycle viral des papillomavirus haut risque dans l'épithélium cervical.....	15
Figure 8 : Koilocytes.....	17
Figure 9 : Réponse immunitaire face au papillomavirus.....	21
Figure 10 : Infection active, clairance, latence et réactivation.....	22
Figure 11 : Mécanismes d'action de E6 et E7	23
Figure 12 : Conception de VLP, bases de la vaccination contre HPV.....	26
Figure 13 : anatomie de l'appareil génital féminin	30
Figure 14 : endocol et exocol montrent une muqueuse très spéciale.....	31
Figure 15 : Jonction pavimenteuse-cylindrique est le point de rencontre de l'épithélium pavimenteux de l'exocol et l'épithélium cylindrique endocervical.	31
Figure 16 : complexité cellulaire du col utérin.....	32
Figure 17 : épithélium malpighien de l'exocol.....	33
Figure18 : Les cellules basales ont légèrement un plus grand noyau et un rapport N / C plus grand. La membrane nucléaire est lisse. Les cellules basales ne sont que sporadiquement trouvées dans les frottiscervicaux.....	33
Figure 19 : cellules parabasales.....	34
Figure 20 : couche intermédiaire	34
Figure 21 : couche superficielle.....	35
Figure 22 : L'épithélium cylindrique	36

Figure 23: cyto-brosse introduite dans le col	40
Figure 24 : flacon utilisé pour conservation des frottis	40
Figure 25: l'automate NPS.....	41
Figure 26: chargement des flacons et des lames.....	42
Figure 27: positionnement des buvards.....	42
Figure 28: insertion des chambres de décantations.....	42
Figure 29: unité ordinateur-NPS50.....	43
Figure 30: logiciel NPS50	43
Figure 31: l'étuve	44
Figure 32: automate de coloration (Daco coverstainer).....	44
Figure 33: Frottis d'aspect subnormal.....	47
Figure 34: aspect des cellules endocervicales sur un frottis satisfaisant pour l'évaluation.....	47
Figure 35: frottis inflammatoire à prédominance Polynucléaire neutrophile.....	48
Figure 36: altérations parakératosiques sur un des frottis de l'étude.....	48
Figure 37: parakératose + koïlocyte chez une patiente confirmée porteuse d'HPV.....	49
Figure 38: Frottis atrophique chez une patiente âgée de notre série.....	49
Figure 39 : Anomalies intraépithéliales de signification indéterminée (ASCUS).....	50
Figure 40 : préparation des échantillons.....	51
Figure 41 : centrifugation.....	51
Figure 42 : sous la hotte, préparation du mix et les 24 tubes de PCR.....	52
Figure 43 : système de PCR en temps réel CFX 96 de BIORAD	52
Figure 44 : amplificateur CFX 96, profil thermique d'amplification.....	53
Figure 45: incubation à 95°C.....	54
Figure 46 : refroidissement des produits PCR.....	54
Figure 47 : puces HPV placées dans l'Hybrispot 12.....	55
Figure 48 : les différents réactifs utilisés.....	57
Figure 49 : système caméra-ordinateur.....	58
Figure 50 : analyse des images.....	58

Figure 51 : répartition des spots dans la puce HPV.....	59
Figure 52 : Répartition du nombre total selon les tranches d'âge.....	61
Figure 53 : répartition des participantes selon le niveau socio économique.....	62
Figure 54 : répartition des patients selon l'utilisation de la CO.....	63
Figure 55 : répartition des patientes selon le tabagisme.....	64
Figure 56 : répartition des patientes selon la présence du cancer du sein.....	64
Figure 57 : répartition selon la réalisation du FCV.....	65
Figure 58 : répartition des lésions dans l'échantillon.....	66
Figure 59 : Fréquence des FDR pour les frottis présentant des ASCUS.....	66
Figure 60 : répartition des résultats du typage.....	67
Figure 61 : répartition des HPV positif.....	68
Figure 62 : répartition des différents génotypes détectés de HPV	69
Figure 63 : figure récapitulative de la répartition des résultats de test HPV	69
Figure 64 : répartition de HPV par tranche d'âge.....	70
Figure 65 : présence de facteurs de risque pour les patientes HPV positifs.....	71
Figure 66 : Cytologie des frottis HPV positif.....	72



ABBREVIATIONS



Liste des abréviations

HPV	:	Papilloma-virus humain
HR-HPV	:	Papilloma-virus humain haut risque
CC	:	Le cancer du col de l'utérus
PCR	:	Réaction en chaîne de la polymérase
FCV	:	Frottis cervico-vaginal
AND	:	Acide désoxyribonucléique
PBS	:	Phosphate Buffered Saline / l'eau distillé
HMA	:	Hôpital militaire AVICENNE de Marrakech
CO	:	Contraception orale
FDR	:	Facteur de risque
ASCUS	:	Atypical Squamous Cells of Undetermined Significance/ cellule squameuse atypique de signification indéterminée
HR	:	Haut risque
BR	:	Bas risque
IARC	:	L'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer
ORF	:	<i>Open Reading Frame/ cadre ouvert de lecture</i>
LCR	:	<i>Long Control Region/ région de régulation non codante</i>
URR	:	<i>Upstream Regulatory Region</i>
kDa	:	kilo dalton
VADS	:	Voies aérodigestives supérieures
VLP	:	Pseudo-particules virales / <i>viral like particles</i>
IST	:	Infection sexuellement transmissible
VIH	:	Virus d'immunodéficience humain
ORL	:	Oto-rhino-laryngologique
HAS	:	Haut autorité de santé
qHPV	:	Vaccin anti HPV quadrivalent
HSIL	:	High-grade squamous intraepithelial lesion



PLAN



INTRODUCTION	01
RAPPELS ET GENERALITES	04
I. Papillomavirus humain :	05
1. Historique	05
2. Classification des papillomavirus humain	05
3. Caractères virologiques :	08
3.1. Structure du virus	08
3.2. Protéines virales	10
3.3. Cycle de multiplication	14
4. Histoire naturelle des infections à papillomavirus humain :	17
4.1. Modes de contamination	17
4.2. Réponse immunitaire :	18
4.3. Evolution de l'infection	21
5. Oncogenèse virale	23
6. Infections par papillomavirus et lésions associées	24
7. Prévention des infections à papillomavirus humain	26
7.1. Prévention spécifique : vaccin anti HPV	26
7.2. Prévention non spécifique	28
II. Le col de l'utérus:	29
1. Anatomie et histologie	29
2. Composition cytologique	31
MATERIELS ET METHODES	37
I. Type et cadre d'étude	38
II. Population étudiée	38
III. Phase pré-analytique	38
IV. Réalisation des frottis cervicaux vaginaux :	39

1.	Examen clinique	39
2.	Frottis cervico-vaginal	39
V.	Etude cytologique	41
VI.	Etude moléculaire	50
VII.	Modalités de recueil des données	59
RESULTATS		60
I.	Caractéristiques de la population étudiée :	61
1.	L'âge	61
2.	Niveau socio économique	61
3.	Contraception orale	62
4.	Tabac	63
5.	Antécédent de cancer	64
6.	Frottis cervico-vaginal	65
II.	Résultats de la cytologie	65
III.	Résultats du génotypage viral :	67
1.	Résultat global	67
2.	Répartition du papillomavirus selon le génotype	67
3.	Répartition des résultats par tranche d'âge	70
4.	Résultats selon la présence des facteurs de risque	71
5.	Cytologie des frottis HPV positif	72
DISCUSSION		73
I.	Caractéristiques de la population étudiée:	74
1.	Age	74
2.	Niveau socio économique	75
3.	Papillomavirus et contraception orale	76
4.	Parité	76

5.	Tabac	77
6.	Papillomavirus et mycoses	78
7.	Dépistage	78
II.	Caractéristiques de l'infection à papillomavirus	80
CONCLUSION		86
ANNEXES		88
RESUMES		91
BIBLIOGRAPHIE		98



INTRODUCTION



L'infection à papillomavirus humain (HPV) continue d'être l'une des infections sexuellement transmissibles les plus courantes dans le monde, 75–89% des individus sexuellement actifs seront infectés à un moment donné de leur vie, le HPV est détecté dans presque 100% des cas de cellules cancéreuses, alors qu'il n'est présent que dans 10,4% des cas de femmes saines (1). Le potentiel oncogénique de ce virus était bien établi dans les tumeurs malignes anogénitales et les cancers oropharyngés.

La plupart des infections à HPV sont aiguës, de courte durée et asymptomatique (2). Cependant, certaines femmes développeront une infection HPV associée à la maladie cervicale (3). Bien qu'une majorité de lésions de bas grade soient secondaires à une infection au HPV à haut risque (HR-HPV), la plupart d'entre elles ne progressent pas vers des lésions de haut grade, deux pour cent seulement progressent vers un cancer invasif. (4)

Chaque année, de nouveaux cas de cancer du col de l'utérus sont détectés chez ~ 528 000 femmes, et le nombre de décès du au cancer du col de l'utérus dans le monde entier est d'environ 275 000 (5). L'infection à papillomavirus humain à haut risque est la principale cause de la carcinogenèse cervicale. Plus de 200 génotypes différents du HPV ont été identifiés, il y a plus de 10% de différences dans la séquence nucléotidique L1 entre les génotypes. Un minimum de 13 génotypes du HPV à haut risque (HPV16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68) sont reconnus comme étant les agents responsables du cancer du col de l'utérus. HPV16 et HPV18 sont les deux génotypes les plus prévalents dans le cancer du col de l'utérus (CC) (5). Bien que la forte prévalence du HPV16 / 18 dans le CC soit commune dans le monde entier, la distribution d'autres types du HPV à haut risque dans la fraction restante du CC révèle des variations spécifiques à la région, notamment, dans les pays d'Asie de l'Est (y compris le Japon, la Corée du Sud, Taïwan et la Chine), l'infection à HPV52 est plus fréquente que dans les régions européennes, nord-américaines et africaines(5).

Les séquences d'ADN du HPV sont typiquement intégrées dans le génome de la cellule hôte, et la progression du cancer du col de l'utérus est significativement associée à l'intégration

du génome viral (5). Le HPV intégré peut être confirmé en utilisant un protocole basé sur la réaction en chaîne de la polymérase (PCR) pour l'amplification des transcrits d'oncogène du papillomavirus.

Le 21^{ème} siècle a été témoin de grands avancements scientifiques en oncologie préventive avec le développement des vaccins contre le HPV. Les vaccins prophylactiques contre HPV-16 et -18 sont capables d'empêcher plus des deux tiers du fardeau mondial du cancer du col invasif. (6)

L'immunisation contre le HPV a été introduite comme mesure préventive du cancer du col de l'utérus dans certains pays, mais ne remplace pas le dépistage du cancer du col de l'utérus. Même si cette vaccination a été signalée comme étant immunogène, sûr et efficace dans la prévention des infections au HPV et des néoplasies cervicales intraépithéliales, l'incertitude prévaut concernant l'efficacité clinique, la sécurité générale et l'effet sur l'immunogénicité, malgré la recommandation de l'OMS de faire vacciner les filles âgées de 9-13 ans, avant le début de la vie sexuelle. Même aux États-Unis, le taux de refus parental du vaccin contre le HPV était de 28%, huit pour cent des parents retardaient le vaccin pour leurs préadolescents. L'hésitation au vaccin montrée par les parents ainsi que les professionnels de santé a conduit à un faible taux de vaccination, même dans les pays développés. (6)

Par ailleurs, des études épidémiologiques ont montré que la prévalence du HPV, la distribution des infections et des génotypes diffère d'une région à l'autre (7). Ces études moléculaires pourraient fournir des données utiles pour justifier les stratégies de vaccination locales. Pour cette raison, notre étude s'inscrit dans cet objectif pour mettre en évidence les génotypes du HPV circulants chez les femmes saines de la région de Marrakech.



RAPPELS & GENERALITES



I. Papillomavirus humain

1. Historique :

Le terme papillomavirus tient son origine des deux mots latins « *papilla* », signifiant « bouton, mamelon, tétine », et « *oma* », désignant le caractère tumoral dans son ensemble. La première description du HPV est réalisée en microscopie électronique par Strauss *et al*, en 1949. En 1976, Harald zur

Hausen a été le premier à publier l'hypothèse du rôle des HPV dans l'étiologie du cancer du col utérin, hypothèse qu'il a confirmé par la suite. Il a également largement participé à la recherche pour la mise au point d'un vaccin. Ses travaux lui ont valu le prix Nobel de physiologie et de médecine en 2008. (8)

2. Classification des papillomavirus humain :

La classification des *Papillomaviridae* est basée sur la séquence nucléotidique du gène L1 codant pour la protéine majeure de capsid. Cette famille est composée de seize genres dont l'appartenance est définie par une homologie de séquence nucléotidique du gène L1 ne dépassant pas 60%. Ces seize genres sont désignés par une lettre grecque (α à π) mais seulement cinq (α , β , γ , μ et η) comportent des papillomavirus humains (Figure 1), les autres genres incluant uniquement des papillomavirus animaux. Ces genres sont ensuite subdivisés en espèces (papillomavirus ayant de 60 à 70% d'homologie) numérotées en chiffre arabe ; puis ces espèces renferment différents types (ayant de 71 à 89% d'homologie) qui eux-mêmes peuvent être subdivisés en sous-types (différence de 2 à 10 % par rapport au type).

Ainsi, pour qu'un nouveau type d'HPV soit reconnu, il faut que son génome complet soit séquencé et que sa séquence L1 présente une divergence de plus de 10% avec la séquence L1 du type connu le plus proche génétiquement. Aujourd'hui, près de 200 génotypes ont déjà été mis en évidence.

Une seconde classification des HPV est basée sur leur tropisme tissulaire. On peut ainsi distinguer les génotypes d'HPV à tropisme préférentiel cutané (dits « HPV cutanés ») et les génotypes d'HPV à tropisme préférentiel muqueux (dits « HPV muqueux »). Cette distinction n'est pas toujours absolue, certains types d'HPV n'ayant pas de tropisme strict pour la peau ou les muqueuses. Les HPV cutanés appartiennent surtout aux genres bêta et gamma-papillomavirus, alors que les HPV muqueux appartiennent au genre alpha-papillomavirus (Figure 1). (8)

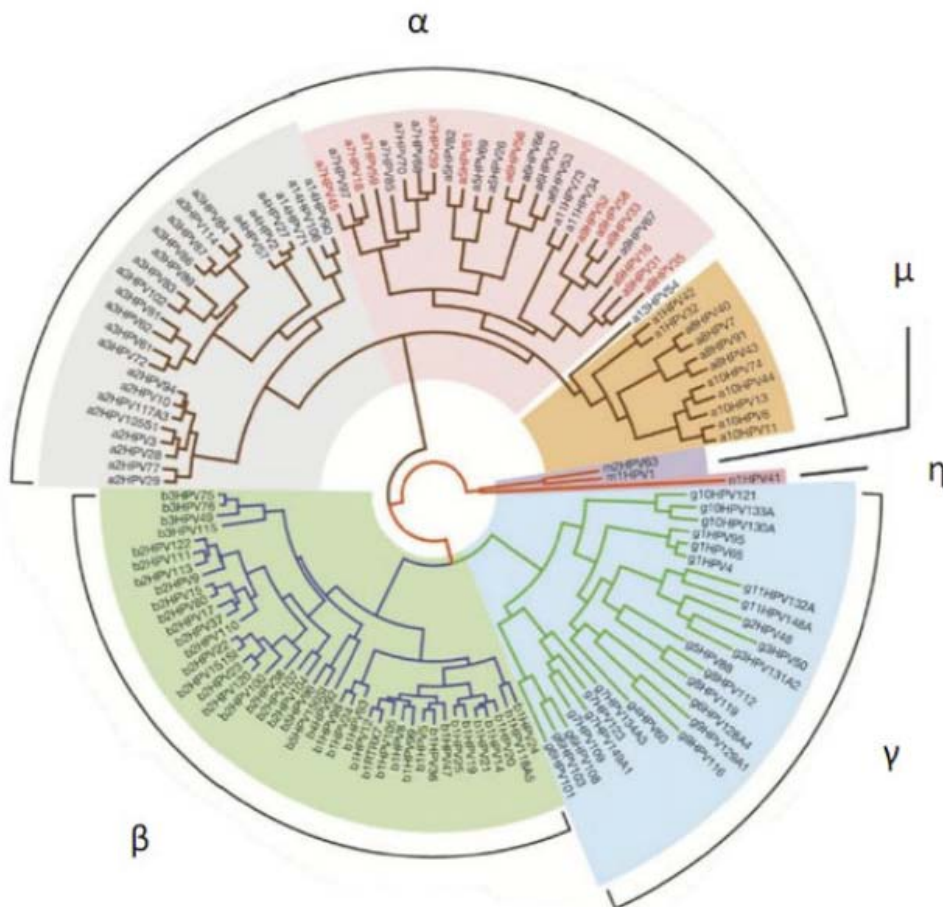


Figure 1 : Arbre phylogénétique des HPV. (9)

En rouge : HPV à haut risque du groupe I dont HPV16 (α -7) et HPV18 (α -9).

Les HPV peuvent également être classés en fonction de leur pouvoir oncogène. Il faut noter que cette classification prend en considération principalement des HPV à tropisme

muqueux, car elle est basée sur le risque de cancer du col de l'utérus associé à HPV. Une première classification distinguait des HPV à haut risque (HR) oncogène, des HPV à risque oncogène intermédiaire et des HPV à bas risque (BR) oncogène. Par la suite, l'Agence Internationale de Recherche sur le Cancer (IARC) les a classés dans 4 groupes, comme pour les autres carcinogènes, selon leur risque oncogène : oncogènes, probablement oncogènes, possiblement oncogènes et inclassables quant à leur potentiel oncogène (Tableau I).

Tableau I: Classification des HPV selon l'IARC, dernière mise à jour 7 avril 2015.

Niveau de risque	Génotypes HPV muqueux	Génotypes HPV cutanés
1 (oncogènes)	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59	
2A (probablement oncogènes)	68	
2B (possiblement oncogènes)	26, 53, 66, 67, 70, 73, 82, 30, 34, 69, 85, 97	5, 8 (chez les patients atteints d'une épidermodysplasie verruciforme)
3 (non classables quand à leur potentiel oncogène chez l'homme)	6, 11	HPV des genres beta (sauf 5 et 8) et gamma

Ainsi, les HPV HR principaux correspondent aux HPV des groupes 1 et 2A, les premiers étant dits « oncogènes » (avec en particulier les HPV 16 et 18) et les seconds « probablement oncogènes ». Ces deux groupes sont impliqués dans 96 % des cancers du col de l'utérus, les HPV 16 et 18 représentant à eux deux plus de 70% des cas (HPV 16 étant responsable de 50% des cas à lui tout seul). Le groupe 2B (« possiblement oncogènes ») contient des HPV classés auparavant comme HR (comme HPV 66 et 82), probablement HR ou à risque intermédiaire (comme HPV 26 et 53) et BR comme HPV 70. Les HPV 6 et 11, classés dans le groupe 3 et principaux responsables des condylomes acuminés, sont considérés comme des HPV BR. (8)

3. Caractères virologiques:

3.1. Structure du virus :

Les HPV sont des virus nus, de petite taille, mesurant 45 à 55 nm de diamètre et possédant une capsidie à symétrie cubique constituée de 72 capsomères en structure icosaédrique (figure 2), leur génome est constitué d'une molécule d'ADN bicaténaire circulaire d'environ 8000 paires de bases (figure 3) dont les séquences codant pour les protéines virales sont regroupées sur un seul brin avec différents cadres ouverts de lecture ou ORF (*Open Reading Frame*) qui se chevauchent.

Les HPV ont une organisation génétique commune en trois régions (Figure 4) : une région de régulation non codante LCR (*Long Control Region*) ou URR (*Upstream Regulatory Region*), une région E (*Early*) codant pour des protéines régulatrices ou impliquées dans la réplication de l'ADN (E1 à E7) et une région L (*Late*) codant pour les protéines de capsidie (L1 et L2) (8)

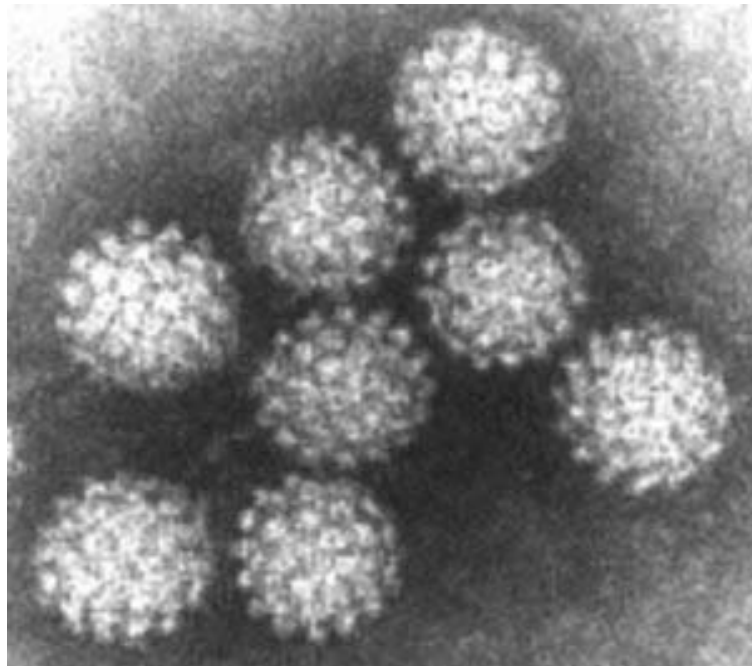


Figure 2 : Structure de la capsidie virale des *Papillomavirus* au microscope électronique (10)

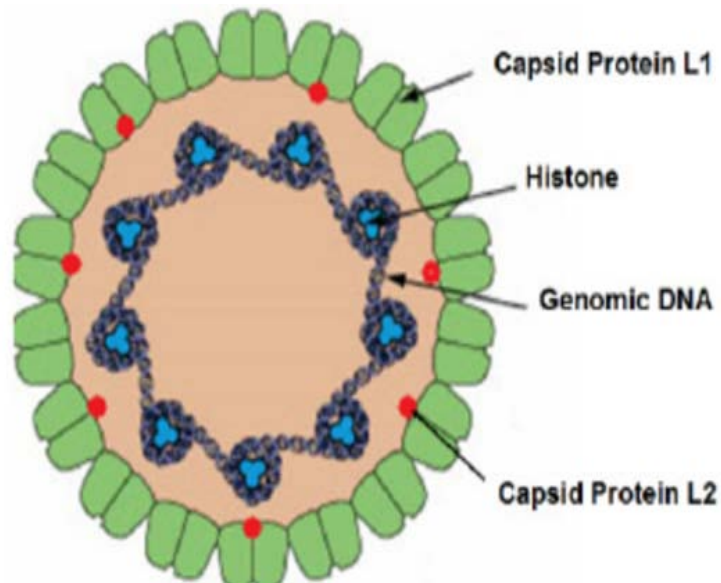


Figure 3 : Structure du papillomavirus (11)

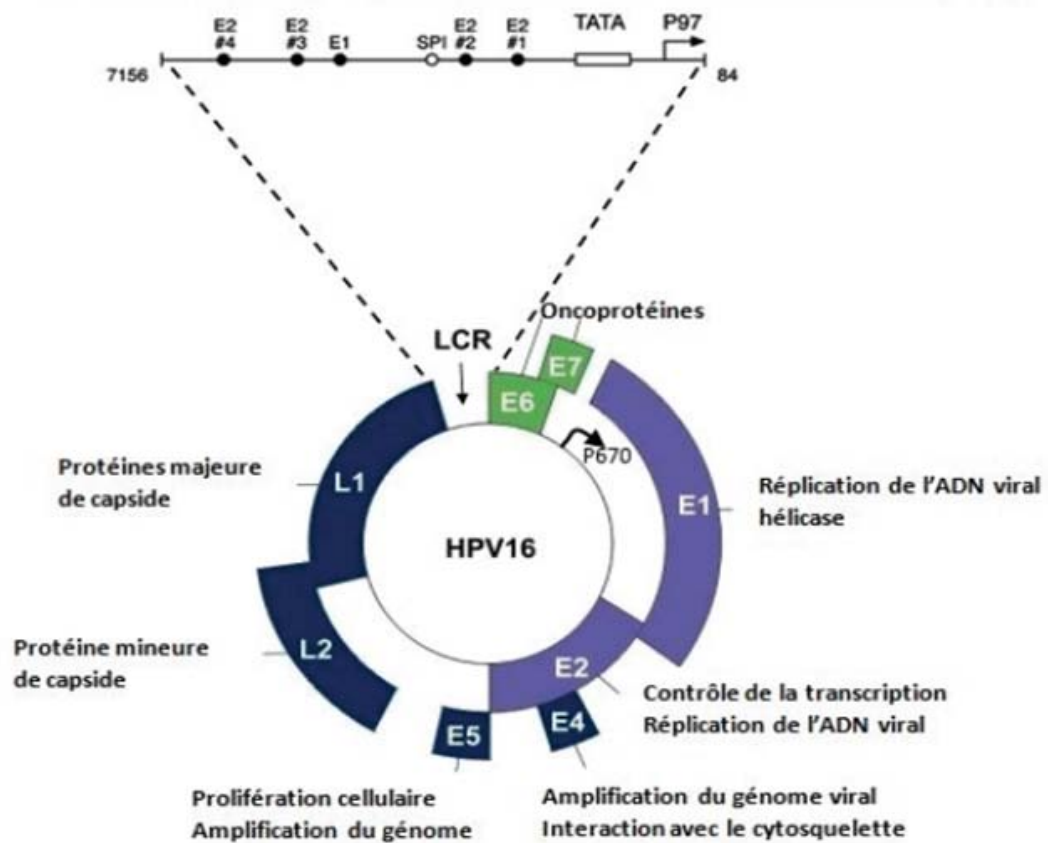


Figure 4 : Organisation du génome HPV16 (12)

La région non codante LCR contient les promoteurs des gènes précoces (p97 pour HPV16 et p105 pour HPV18). En amont des promoteurs, elle comporte des séquences régulatrices de la réplication et de la transcription. C'est une région très variable constituée de 400 à 1000 nucléotides, soit environ 10 % du génome. (Figure 5)

La région E (*Early*) représente 50 % du génome et code pour les protéines précoces E1 à E7 (Tableau II) impliquées dans la régulation ou la réplication de l'ADN. (figure 5)

La région L (*Late*) code pour les protéines tardives de capsid L1 et L2 (figure 5).

3.2. Protéines virales : (tableau II)

La protéine E1 est nécessaire à la réplication de l'ADN viral. Comprenant de 600 à 650 acides aminés (68 à 75 kDa), elle est la seule enzyme produite par le virus. Elle possède une fonction hélicase, activité qui permet de séparer les deux brins d'ADN au niveau du site d'origine de la réplication, favorisant ainsi la mise en place d'un complexe d'initiation de la réplication, et une activité ATPase, essentielles à la réplication de l'ADN viral. Le rôle de E1 dans la réplication nécessite un couplage synergique avec la protéine E2. En effet, E1 n'a pas d'affinité spécifique pour l'ADN et c'est son association avec la protéine E2 qui lui permet, via la formation d'hétérodimères E1-E2, de se fixer de façon préférentielle au niveau de l'origine de la réplication pour exercer son activité

hélicase. Une mutation dans le site de liaison à E1 (*E1 binding site*, E1BS), ou des mutations des protéines E1 et/ou E2 s'accompagnent d'une diminution voire d'un arrêt de la réplication virale.

La protéine E2, constituée de 400 acides aminés environ (50 kDa), est impliquée à la fois dans la réplication et dans la modulation de la transcription virale. L'activation de la réplication nécessite comme précisé auparavant une interaction synergique avec la protéine E1. La protéine E2 se comporte aussi comme un facteur trans-inhibiteur en se liant à des sites situés à proximité de la boîte TATA des promoteurs p97 d'HPV16 et p105 d'HPV 18, provoquant un encombrement stérique au site d'initiation de la transcription et réprimant ainsi l'expression des oncoprotéines

E6 et E7. Elle joue aussi un rôle de régulation négative dans la transformation cellulaire et dans l'apoptose.

La **protéine E3** n'est produite que par de très rares HPV et sa fonction reste inconnue.

La **protéine E4**, qui est codée par une région du génome ayant une grande diversité, est une protéine cytoplasmique modifiant la structure de la kératine. La principale protéine E4 (17kDa) est traduite à partir d'un ARNm E1[^]E4. Bien que codée par un gène précoce, E4 est exprimée plus tardivement et en abondance. Son expression a lieu approximativement en même temps que l'amplification du génome viral, précédant ainsi celle des protéines tardives L1 et L2. La protéine E4 est ensuite clivée en structures multimériques qui lient les cytokératines et favorisent la destruction du cytosquelette, particulièrement dans les couches superficielles de l'épithélium infecté. Ainsi, la protéine E4 participe à la production de particules virales, en facilitant l'encapsidation du génome et en favorisant la diffusion et la libération des virions accumulés par destruction du réseau de filaments de cytokératine.

La **protéine E5** est une petite protéine hydrophobe de 8 à 10 kDa, localisée au niveau des systèmes endomembranaires cellulaires. C'est l'une des trois oncoprotéines codées par le virus, qui est exprimée au stade précancéreux mais généralement pas dans les lésions cancéreuses. Elle est surtout exprimée par les HPV oncogènes ou HR. Ses fonctions ne sont pas parfaitement connues à ce jour mais elle participerait à la réplication de l'ADN viral et à la transformation. En effet, la protéine E5 d'HPV16 se lie à la sous-unité de 16kDa de l'ATPase H⁺ vacuolaire qui interfère avec l'acidité des endosomes et par conséquent augmente le recyclage à la membrane plasmique du récepteur à l'EGF (EGFR, *Epidermal Growth Factor Receptor*) et au PDG (*Platelet-Derived Growth Factor*), et leur activité. De plus, la protéine E5 induit une diminution de la reconnaissance de la cellule infectée par le système immunitaire de l'hôte. Elle interagit avec la chaîne lourde du CMH I dans le réticulum endoplasmique et l'appareil de Golgi, réduisant son expression à la surface de la cellule et donc la présentation des antigènes viraux.

Les **protéines E6 et E7** jouent un rôle clé puisqu'elles sont nécessaires au cycle viral productif et à la transformation cellulaire induite par les HPV HR. Leur expression est partiellement contrôlée par la protéine E2. Ce sont les seules protéines virales constamment exprimées dans le cancer du col utérin. Elles interagissent avec de nombreuses protéines et des voies de signalisation et de régulation cellulaires. L'une des principales cibles de la protéine E6 des HPV HR est la protéine p53, qui possède une fonction de régulation négative du cycle cellulaire. En cas de dommage de l'ADN, elle peut provoquer un arrêt de du cycle cellulaire permettant une réparation de l'ADN lésé. En cas de dommages trop importants, la protéine p53 peut induire l'apoptose, évitant la propagation de ces altérations aux générations suivantes de cellules (figure 5). La protéine E6 des HPV HR induit la dégradation de p53 par le protéasome, alors que celle des HPV BR réduit seulement son activité.

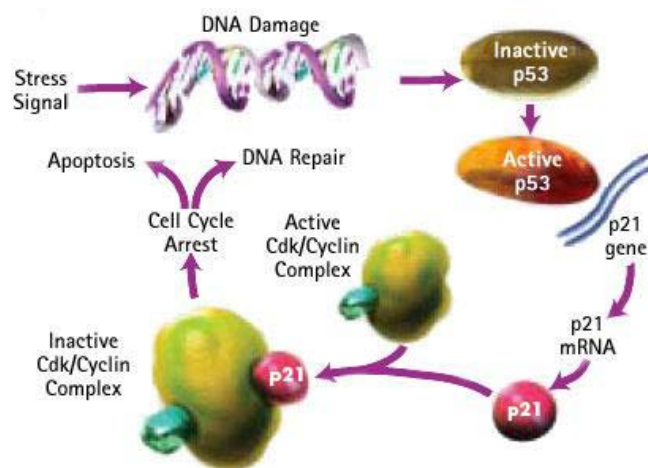


Figure 5 : Rôles physiologiques de la protéine p53. (13)

De son côté, la protéine E7 a pour fonction, dans le cycle viral productif, de favoriser le passage de la phase G1 à la phase S, permettant la réplication du génome dans les cellules suprabasales. La protéine E7 des HPV HR interagit avec la protéine pRb, dont le rôle principal est de bloquer le passage de la cellule de G1 à S en se liant au facteur de transcription pRb. E7 favorise sa liaison à la calpaïne qui dégrade partiellement pRb, provoquant sa dégradation par le protéasome.

L'action conjointe de ces deux protéines oncogènes entre donc dans le mécanisme de carcinogénèse puisqu'elles sont impliquées dans la perte de commande de la régulation du cycle cellulaire, l'immortalisation, la transformation cellulaire et le maintien du phénotype transformé.

Tableau II : Protéines virales et leurs principales fonctions (14)

Protéines virales	Caractéristiques et fonctions
E1	Hélicase. Contrôle de la réplication virale
E2	Régule négativement le promoteur du gène précoce, et , avec E1, la réplication de l'ADN viral
E4	Peut participer à la libération des particules virales en déstabilisant le réseau de cytokératine
E5	Stimule les signaux mitotiques des facteurs de croissance
E6	Inactive de nombreuses protéines cellulaires dont p53. Oncoprotéine virale majeure
E7	Inactive de nombreuses protéines cellulaires dont pRb. Oncoprotéine virale majeure
L1	Protéine majeure de la capsid. Se trouve dans les vaccins dirigés contre HPV
L2	Protéine mineure de la capsid. Favorise l'encapsidation de l'ADN viral

La **protéine L1** est la protéine majeure de capsid. De structure hautement conservée entre les papillomavirus, elle porte les antigènes spécifiques de genre et certains antigènes spécifiques de type. Sa capacité d'auto-assemblage pour former des pseudo-particules virales (*viral like particles*, VLP) constitue la base des vaccins. Les VLP possèdent notamment des épitopes conformationnels communs avec la capsid native et sont hautement immunogènes, tout en étant non infectieuses.

La **protéine L2** est la protéine mineure de capsid. Associée à la protéine L1, elle permet l'assemblage du virus et la stabilisation de la capsid.

3.3. Cycle de multiplication : (8) (Figure 6 et 7)

Les HPV sont des virus spécifiques d'espèces et ont un tropisme particulièrement marqué pour les épithéliums malpighiens, qui sont les seuls permissifs à l'infection. Ces épithéliums malpighiens sont situés au niveau cutané (couche de l'épiderme), au niveau des voies aérodigestives supérieures

(VADS) (Cavité buccale, pharynx, oesophage, moitié supérieure du larynx), du canal anal et de l'appareil génital. Les HPV infectent l'épithélium en pénétrant à la faveur de microlésions dans les cellules de la couche basale. Au niveau du col de l'utérus, cette pénétration est facilitée au niveau de la zone de jonction entre l'épithélium malpighien de l'exocol et l'épithélium glandulaire de l'endocol, qui est particulièrement vulnérable.

L'attachement des particules virales est réalisé principalement par l'intermédiaire de récepteurs de la famille des intégrines et des héparanes sulfates présents à la surface des cellules de la membrane basale exposée suite à un microtraumatisme. L'entrée dans la cellule se fait ensuite par endocytose,

médiée par des vésicules à clathrine (HPV16 ou 18) ou par des cavéoles (HPV31).

Le cycle viral est ensuite étroitement lié à l'état de différenciation des cellules épithéliales. Les protéines virales sont synthétisées de façon séquentielle dans l'épithélium infecté selon la différenciation cellulaire .

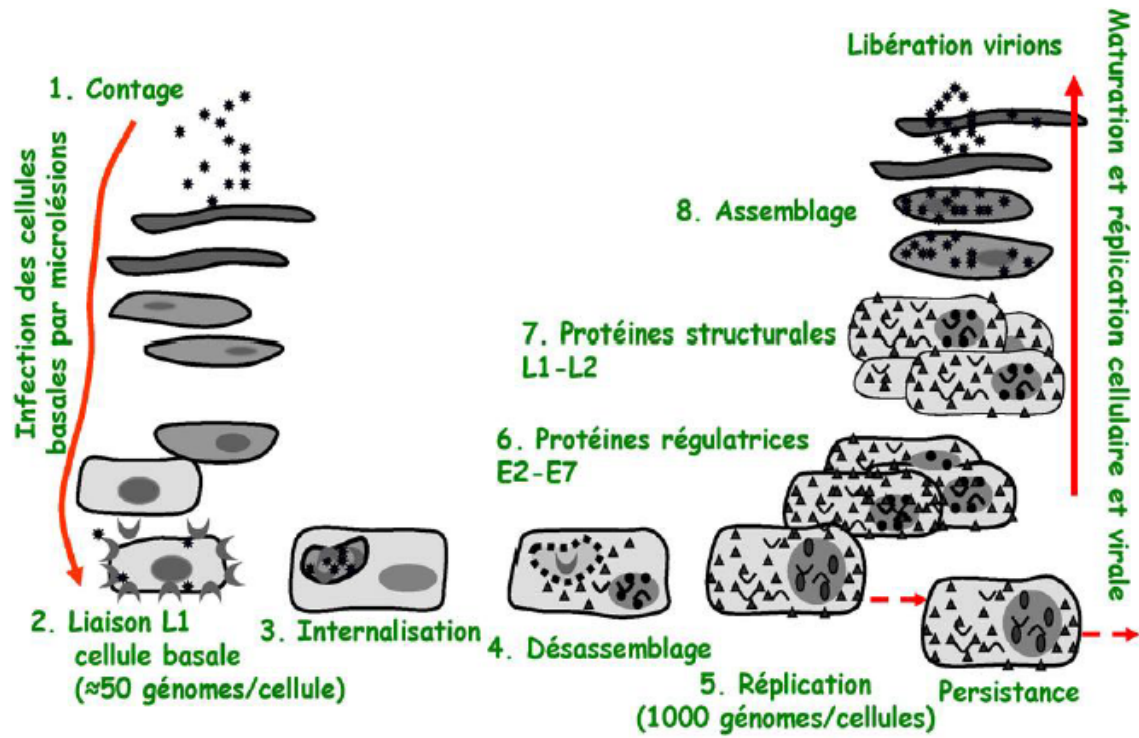


Figure 6 : Cycle cellulaire des *Papillomavirus*(15)

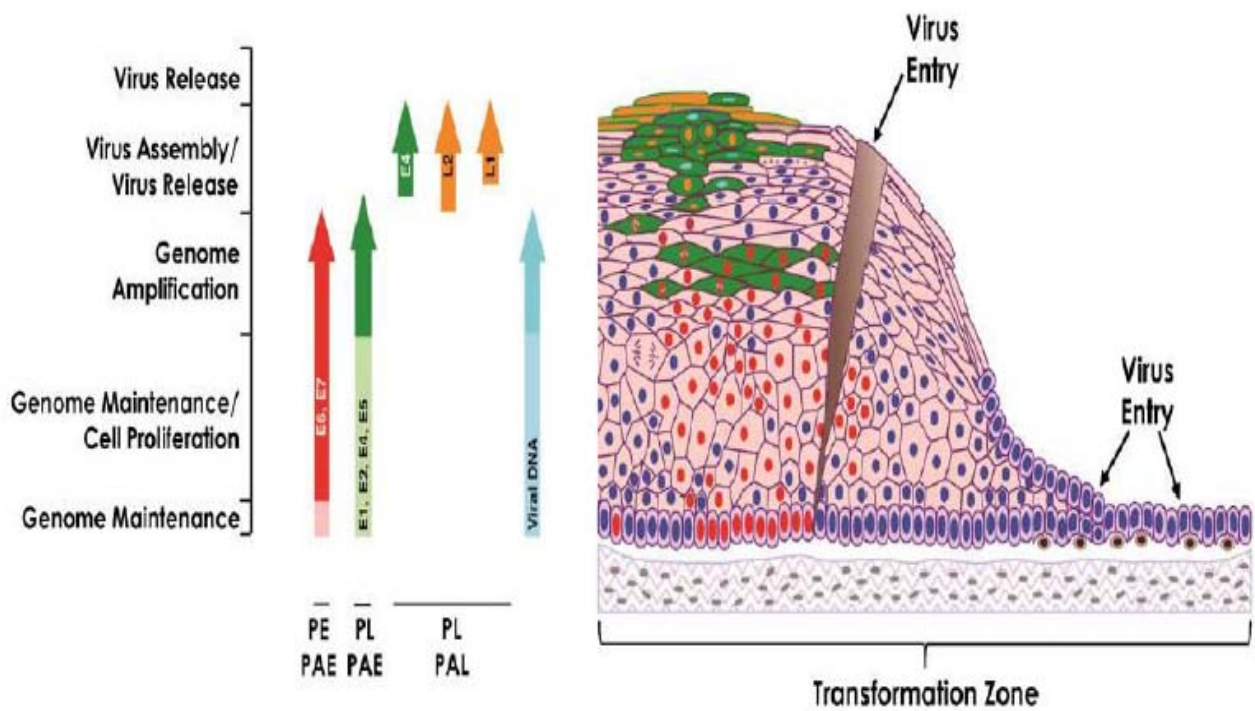


Figure 7 : Cycle viral des papillomavirus haut risque dans l'épithélium cervical. (16)

Après la décapsidation du virus, l'ADN viral migre dans le noyau du kératinocyte où il va y avoir une phase de maintien de l'épisome viral. Le virus et la cellule reproduisent leur génome en même temps, les protéines E1 et E2 contrôlant la réplication du génome viral par les enzymes cellulaires et le maintien à un taux modéré (de l'ordre de 50 à 100 copies) du génome viral dans les cellules filles des couches basales et suprabasales.

Les HPV contrôlent l'expression des protéines virales de façon très fine. Les protéines E6 et E7 sont ainsi exprimées à des taux faibles assurant le maintien de ces cellules suprabasales en phase de synthèse d'ADN (phase S via E7) tout en évitant leur apoptose (via E6).

La phase de maintien est suivie d'une phase d'amplification du génome dans les couches suprabasales. Dans les couches plus superficielles de l'épithélium, les gènes codant pour les protéines L1 et L2 sont exprimés, aboutissant à l'assemblage de milliers de particules virales et à l'encapsidation de l'ADN viral. La protéine E4, synthétisée tardivement, est responsable des modifications du cytosquelette de la cellule hôte associées au trafic intracellulaire des constituants viraux. Les particules virales seront libérées par les cellules desquamatives. Ces virus peuvent alors se propager au niveau du même ou d'autres épithéliums sains du même individu voire être transmis à une autre personne par contact direct ou indirect.

L'effet cytopathique caractéristique d'une infection productive à HPV est la présence de koilocytes dans les couches superficielles ou intermédiaires. Ils correspondent à des cellules épithéliales squameuses présentant un noyau oedémateux, agrandi et à la chromatine irrégulière, ainsi qu'une vacuole intra cytoplasmique peri-nucléaire refoulant le cytoplasme vers l'extérieur (Figure 8). La présence de telles cellules est quasiment un signe pathognomonique. Les conséquences d'une infection persistante sont reflétées par des changements nucléaires de plus en plus sévères selon le grade de la lésion concernée, avec des figures de mitose et des bouquets de cellules pycnotiques.

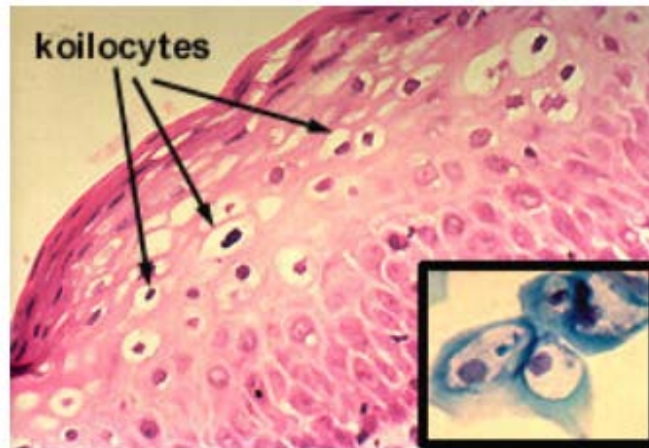


Figure 8: Koilocytes (17)

4. Histoire naturelle des infections à HPV :

4.1. Modes de contamination (8)

Le virus peut se transmettre par contact direct par voie sexuelle, par voie buccale ou par autoinoculation (lésions de grattage), mais également par contact indirect, via des surfaces ou des objets contaminés (comme les vêtements par exemple) de par sa résistance dans le milieu extérieur.

La voie classique de transmission des papillomavirus muqueux est la voie génitale. C'est l'infection sexuellement transmissible (IST) la plus fréquemment rencontrée. La contamination a lieu très tôt après les premiers rapports sexuels, ce sont les jeunes femmes qui sont le plus souvent contaminées.

Les femmes acquièrent l'HPV lors des relations sexuelles avec un partenaire infecté : la prévalence est donc importante autour des premiers rapports, ainsi, l'infection à HPV évolue inversement à l'âge de la patiente. Le taux est maximal chez les jeunes filles de moins de 20 ans ayant une activité sexuelle (jusqu'à 70%) et diminue progressivement pour atteindre environ 7,5% des patientes de plus de 50 ans. Une contamination verticale au cours de l'accouchement est aussi décrite, l'enfant pouvant alors rarement présenter une papillomatose laryngée, conjonctivale ou anogénitale.

4.2. Réponse immunitaire :

Le taux élevé de régression spontanée des lésions induites par HPV laisse supposer une immunité spécifique efficace.

Lors d'une infection naturelle par le HPV, il existe une immunité basée d'une part sur la production d'anticorps neutralisants qui s'opposent à la pénétration du virus dans les cellules cibles, et d'autre part sur une réponse immunitaire cellulaire s'opposant à l'extension des lésions existantes et à leur transformation (figure 9).

Après pénétration, le virus est pris en charge par les cellules de Langerhans qui migrent vers les follicules lymphoïdes et jouent leur rôle de cellules présentatrices de l'antigène ce qui conduit à la production de lymphocytes B et lymphocytes T CD4 et CD8.

a. Réponse humorale :

La réponse immunitaire humorale se définit par la production d'anticorps qui sont dirigés contre les protéines de structure du virus, L1 et L2, et s'opposent à la pénétration des virus dans les kératinocytes cibles. Ce sont les lymphocytes B, aidés par les lymphocytes T CD4 qui sont responsables de la production d'anticorps.

Après une infection à HPV, des anticorps neutralisants sont détectés à la fois dans le sérum et dans les sécrétions vaginales. Ces anticorps sont dits neutralisants car ils agissent comme des gardiens à la surface du col pour neutraliser et éliminer les papillomavirus qui pourraient s'y présenter.

Les anticorps anti HPV sont davantage le reflet d'une infection naturelle que de véritables acteurs capables de lutter contre l'infection. En effet ces anticorps sont synthétisés tardivement, 6 à 12 mois après une infection persistante, et seulement 72% des femmes infectées de manière persistante par HPV 16 ou 18 vont synthétiser des anticorps. Ces anticorps transsudent du sérum vers les sécrétions cervicales à une concentration dix à vingt fois plus faible.

Les anticorps peuvent persister longtemps, dix à vingt ans, mais à un taux faible. L'absence de virémie est en partie responsable de cette faible réponse humorale. En effet, le

virus ne circulant pas dans le sang (car il est pris directement en charge par les cellules de Langerhans), la stimulation des lymphocytes B est faible ce qui conduit à un faible taux d'anticorps et peu de cellules mémoire.

Les anticorps responsables de l'immunité humorale naturelle ne jouent donc aucun rôle dans le contrôle des infections déjà établies ou l'évolution des lésions et ont peu d'impact sur une réinfection ultérieure par le même virus.

b. Réponse cellulaire :

Cette immunité cellulaire a pour rôle d'empêcher l'extension des lésions existantes et leur transformation et, est dirigée non pas contre les protéines de structure mais principalement contre les protéines précoces du virus.

Comme pour toute infection virale, les lymphocytes T CD4 et CD8 jouent un rôle dans le contrôle de l'infection par HPV. Lors de l'infection, les cellules de Langerhans de l'épithélium malpighien internalisent le virus et le transportent au ganglion drainant où elles présentent les antigènes viraux aux lymphocytes T. La réponse cellulaire passe notamment par les lymphocytes CD8 qui ont la capacité de détruire les kératinocytes infectés.

Cette réponse immunitaire cellulaire est essentielle dans le processus de défense contre les HPV. En effet, on remarque que la régression des lésions génitales est associée à une forte réaction immunitaire à médiation cellulaire car les lésions qui sont spontanément régressives contiennent plus de lymphocytes T et de macrophages que les lésions qui ne régressent pas. C'est pour cela que les patients immunodéprimés VIH positifs réactivent souvent HPV et développent des cancers.

c. Echappement à la réponse immunitaire :

Le processus immunitaire contre les infections à HPV n'est pas performant et varie beaucoup d'un sujet à l'autre. C'est pourquoi il est possible qu'une infection à papillomavirus ne soit pas éradiquée spontanément et donc que des lésions évoluent ou qu'une infection réapparaisse.

Chez certains sujets, les HPV à haut risque échappent au système immunitaire comme en témoignent les infections persistantes et la progression des lésions vers des formes précancéreuses et cancéreuses.

Ces mécanismes d'échappement semblent liés :

- A la production de particules virales seulement dans les couches superficielles de l'épithélium,
- Au déficit de l'initiation de la réponse immunitaire par des mécanismes de défaut de présentation des antigènes viraux,
- A la faible production virale, l'infection étant productive surtout dans les lésions de type condylomes,
- A l'absence de lyse cellulaire qui s'accompagne alors d'une absence de réaction inflammatoire et de sécrétion de cytokines pro-inflammatoires locales, contribuant à un défaut d'activation lymphocytaire,

Ainsi, tous ces mécanismes concourent à limiter la réponse immunitaire ce qui va favoriser la persistance et la progression des infections génitales à HPV. Malgré cela, la guérison spontanée est l'évolution la plus fréquente, démontrant qu'un processus de défense même imparfait est capable de limiter et de bloquer l'infection virale.

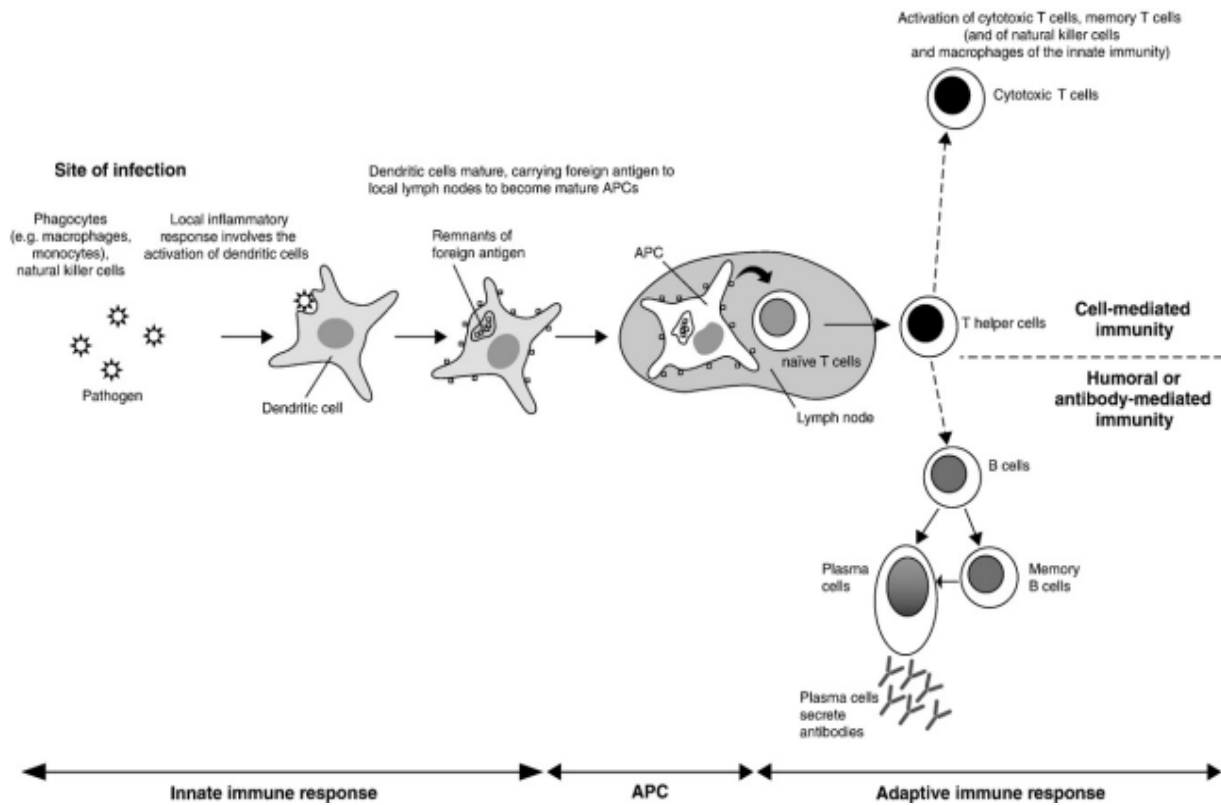


Figure 9 : Réponse immunitaire face au papillomavirus (18)

4.3. Evolution de l'infection :

L'infection peut évoluer selon deux modes : clairance virale ou latence.

La majorité des infections à HPV évolue dans le sens d'une clairance virale qui aboutit à la guérison spontanée de l'infection (figure 10).

L'infection à HPV est généralement asymptomatique et transitoire. Elle implique souvent plusieurs génotypes d'HPV et induit une protection partielle contre une nouvelle infection chez 50 à 70% des femmes. Elle peut s'accompagner du développement de lésions bénignes, comme les condylomes ou des lésions dites de bas grade qui régressent spontanément le plus souvent.

Dans environ 10% cas, l'infection persiste et est à l'origine de lésions précancéreuses pouvant régresser spontanément ou évoluer vers un cancer après plusieurs décennies. Ces lésions sont généralement dues aux HPV à haut risque oncogène et peuvent induire des cancers du col de l'utérus, de la vulve, du vagin, du pénis, du canal anal ou de la sphère ORL. (19)

Les infections à HPV à bas risque sont éliminées plus facilement que les infections à HPV à haut risque. En effet, les infections à HPV 16 ou 18 sont éliminées en 16 mois environ, alors que les infections à HPV 6 ou 11 sont éliminées en 8 mois environ.

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

Cependant dans certains cas, l'ADN viral peut persister sous forme épisomale à l'état latent et, soit évoluer vers une infection productive lors d'une réactivation, soit s'intégrer au génome cellulaire et entraîner par la suite des lésions cancéreuses.

Seule la persistance des infections à HPV à haut risque est susceptible de développer des lésions précancéreuses et cancéreuses et plus la durée est longue, plus le risque de progresser vers un cancer est élevé.

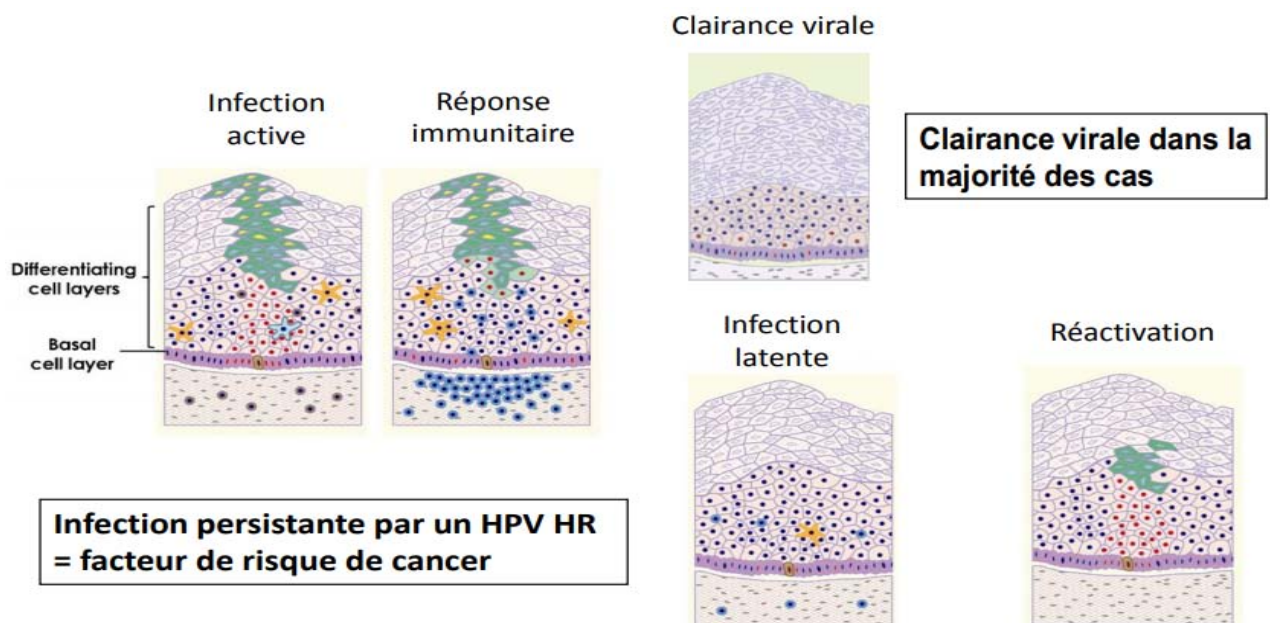


Figure 10: Infection active, clairance, latence et réactivation (20)

5. Oncogène virale

Les connaissances sur l'oncogénèse virale liée aux HPV reposent principalement sur des études effectuées sur le modèle du cancer du col de l'utérus (14, 21). L'oncogénèse est essentiellement portée par les protéines virales oncogènes E6 et E7. L'augmentation de l'expression de leurs gènes est primordiale, en particulier dans les couches basales de l'épithélium infecté. E6 et E7 sont constamment exprimées dans les cellules tumorales. E5 possède aussi des propriétés transformantes, mais cette protéine n'est pas indispensable pour la transformation et le maintien du phénotype transformé. E6 et E7 interagissent avec de multiples protéines cellulaires impliquées dans plusieurs voies de signalisation, notamment des protéines impliquées dans le cycle cellulaire, l'apoptose, la réponse immunitaire et l'angiogénèse. Par leurs multiples interactions, E6 et E7 induisent une prolifération, une immortalisation cellulaire, l'installation d'une instabilité chromosomique favorisant la transformation cellulaire. (figure 11)

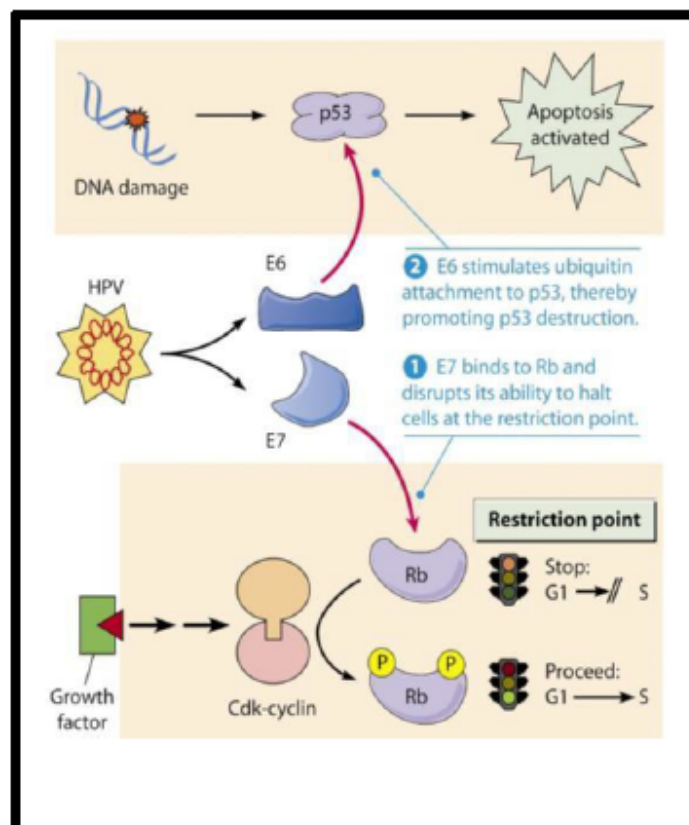


Figure 11 : Mécanismes d'action de E6 et E7 (22)

6. Infections par Papillomavirus et lésions associées :

Les HPV sont des virus ubiquitaires et relativement bien adaptés à leur hôte. Ils sont dits épithéliotropes car les infections liées à HPV touchent l'épithélium stratifié de la peau ou des muqueuses, selon les génotypes incriminés. La grande majorité des lésions décrites sont localisées sur trois territoires : soit au niveau de la peau, soit au niveau anogénital, soit au niveau des VADS (Tableau III). (8)

Les infections peuvent être cliniques ou infracliniques, symptomatiques ou non.

Tableau III : Types d'HPV et lésions associées.

Lésion		Principaux types HPV associés
Verrues communes		HPV 2, 4, 7
Verrues plates		HPV 3, 10 Occasionnellement HPV 26 à 29 et 41
Verrues plantaires		HPV 1, 2, 4
Epidermodysplasie verruciforme	Verrues planes Plaques pytriasis-like Carcinomes de la peau exposée au soleil	HPV 3, 10 HPV 5, 8 HPV 5, 8
Verrues anogénitales	Condylomes Tumeur de Buschke Lowenstein (ou condylome acuminé géant) Papulose bowénoïde	HPV 6, 11, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 71, 72, 81, 89 HPV 6 HPV 16, 55
Pré-cancers et cancers anogénitaux	Groupe 1 (oncogènes) Groupe 2A (probablement oncogènes) Groupe 2B (possiblement oncogènes)	HPV 16, 18, 31, 33, 45, 51, 52 HPV 68 HPV 26, 53, 64, 65, 66, 67, 68, 69, 70, 73, 83
Lésions orales	Papillomes oraux Papillomes laryngés Hyperplasie focale (maladie de Heck) Cancer oropharyngé	HPV 2, 6, 7, 11, 16, 18, 32, 57 HPV 6, 11 HPV 13, 32 HPV 16++, 18

➤ **HPV et cancer :**

Les lésions associées aux HPV HR sont généralement bénignes mais une part non négligeable d'infections peut aboutir à un cancer. Les HPV sont responsables de cancers au niveau de plusieurs sites anatomiques chez les hommes et chez les femmes : cancer du col de l'utérus, oropharyngé, anal, vulvaire et vaginal chez la femme ; cancer oropharyngé, anal et du pénis chez l'homme. La proportion de cancers attribuables aux HPV varie suivant le site anatomique (Tableau IV) (8). Le cancer du col de l'utérus est le cancer attribuable aux HPV le plus fréquent, suivi par le cancer anal.

Tableau IV : Cancers attribuables aux HPV.

Cancer	Localisation	Part due au HPV
Cancer du col de l'utérus	Monde	100%
Cancer pénien	Monde	50%
Cancer anal	Monde	88%
Cancer vulvaire	Monde	43%
Cancer du vagin	Monde	70%
Cancer de l'oropharynx	Amérique du Nord	56%
	Europe du Nord et de l'Ouest	39%
	Europe de l'Est	38%
	Europe du sud	17%
	Australie	45%
	Japon	52%
Reste du monde	13%	

7. Prévention des infections à HPV

7.1. Prévention spécifique : vaccin anti HPV

a. Principe (8)

Le cancer du col peut être prévenu grâce à la vaccination contre certains génotypes d'HPV. Elle a pour objectif d'induire une production d'anticorps neutralisants dirigés contre l'HPV, aboutissant à une mémoire immunitaire permettant de lutter contre le virus plus rapidement en cas de contact.

La base de ces vaccins repose sur la propriété d'auto-assemblage de la protéine majeure de capsid L1 (figure 12). L'introduction du gène de la protéine L1 au sein de cellules eucaryotes aboutit à la production de pseudo-particules virales VLP, ayant un fort potentiel immunogène car possédant les mêmes épitopes, notamment les épitopes conformationnels, que la capsid native, mais non infectieuse car dénuées de matériel génétique. Les cellules eucaryotes utilisées pour la fabrication de ces vaccins ont des origines différentes :

- Cellules d'insectes infectés par des Baculovirus recombinants pour Cervarix®
- *Saccharomyces cerevisiae* pour Gardasil®

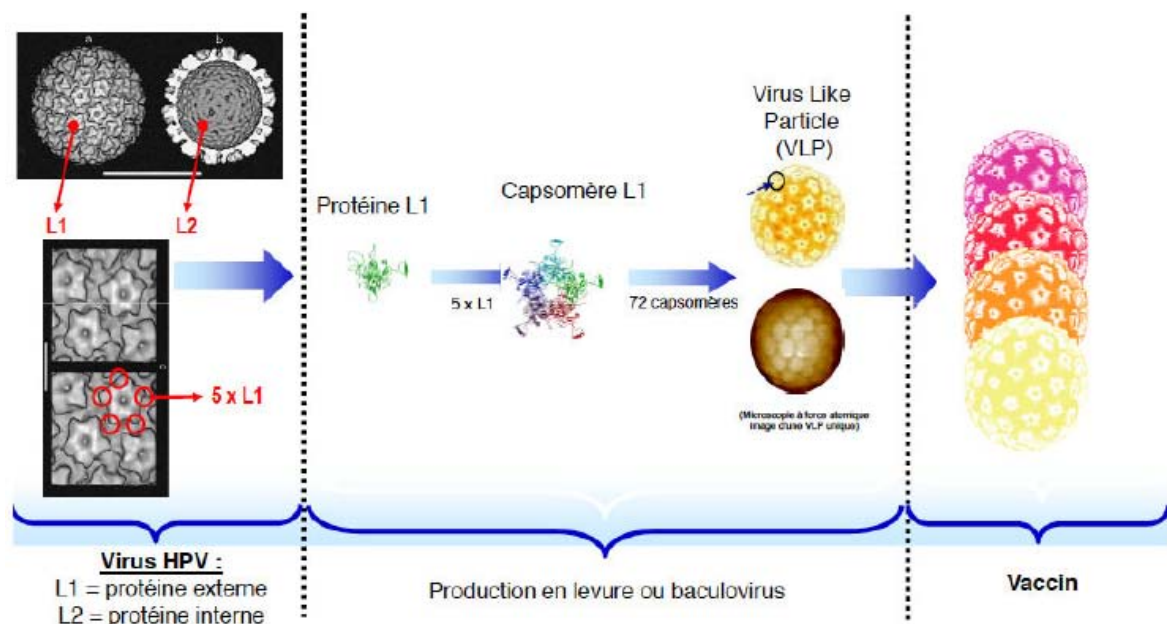


Figure 12 : Conception de VLP, bases de la vaccination contre HPV. (23)

b. Recommandations :

A l'origine, les premières recommandations sur la vaccination contre HPV publiées en 2007 conseillaient une vaccination relativement tardive : elle concernait les jeunes filles de 14 ans, mais elle pouvait également être proposée en rattrapage aux jeunes femmes de 15 à 23 ans n'ayant pas eu de rapports sexuels, ou au plus tard dans l'année suivant le début de leur vie sexuelle.

De nouvelles recommandations du HAS conseillent la vaccination chez les filles de 11 à 14 ans avec un rattrapage jusqu'à 19 ans révolus, chez les hommes ayant des relations sexuelles avec les hommes jusqu'à 26 ans et chez les personnes immunodéprimées jusqu'à 19 ans. (24)

Deux schémas vaccinaux sont recommandés : un premier schéma avec 2 doses espacées de 6 mois pour les jeunes filles de 11 à 13 ans révolus à la première dose pour Gardasil® et de 11 à 14 ans pour Cervarix®, et un schéma à 3 doses (0, 2 et 6 mois pour Gardasil® et 0, 1 et 6 mois pour Cervarix®) en rattrapage pour celles âgées de 14 à 19 ans.

Le vaccin nonavalent (appelé Gardasil 9®), dirigé contre les HPV 6, 11, 16, 18, 31, 33, 45, 52 et 58 est développé en 2014, son impact potentiel est accru par rapport au vaccin tétravalent : il permettrait d'éviter 90% des cancers anaux et du col, des CIN2 et 3, des verrues génitales en cas de couverture vaccinale complète (25).

« GARDASIL 9 est indiqué pour l'immunisation active des individus à partir de 9 ans contre les maladies dues aux HPV suivantes :

- Lésions précancéreuses et cancers du col de l'utérus, de la vulve, du vagin et de l'anus dus aux types d'HPV contenus dans le vaccin.
- Verrues génitales (*Condylomes acuminés*) dues à des types d'HPV spécifiques. (19)

La vaccination contre HPV présente des perspectives à court terme en France comme la vaccination masculine et l'élargissement de la fourchette d'âge recommandé pour la vaccination. Aux Etats-Unis, où la vaccination masculine est déjà mise en place, Gardasil® et Cervarix® sont recommandés pour les filles et garçons de 11-12 ans, ainsi qu'en rattrapage jusqu'à 26 ans.(8)

c. Efficacité de la vaccination contre HPV :

L'efficacité de la vaccination a été démontrée dans de nombreuses études chez des jeunes filles n'ayant pas encore été en contact avec HPV. Une forte production d'anticorps dirigés contre les génotypes retrouvés dans le vaccin est mise en évidence à des taux élevés et persistants, avec une réaction croisée variable et faible avec des génotypes non exposés quel que soit le vaccin utilisé.

Warner K Huh et al ont entrepris une étude randomisée, à double aveugle, d'efficacité, d'immunogénicité et de tolérance sur le vaccin anti-9VHPV sur 105 sites d'étude dans 18 pays, le vaccin anti-9VHPV prévient l'infection, les anomalies cytologiques, les lésions de haut grade et les interventions cervicales liées aux VPH 31, 33, 45, 52 et 58. Le vaccin anti-9VHPV et le vaccin qHPV avaient tous les deux un profil d'immunogénicité similaire vis-à-vis du HPV 6, 11, 16 et 18 (26). L'efficacité du vaccin a été maintenue jusqu'à 6 ans. Le vaccin anti-9VHPV pourrait potentiellement offrir une couverture plus large et prévenir 90% des cas de cancer du col utérin dans le monde. (26, 27).

Le Centre national de référence français pour le HPV (Centre national de rééducation des HPV, Institut Pasteur, Paris) déclare que l'efficacité vaccinale est de 95,93% pour les vaccins contre les type 6, 11, 16 et 18 et 38,7% contre les génotypes HPV à réactivité croisée 31, 33 et 45 [28].

Ces données sont conformes aux conclusions de l'Australie, où l'introduction du vaccin 4vHPV a diminué la prévalence de VPH 6, 11, 16, 18 de 37,6% à 6,5% chez les femmes de 18 à 24 ans [29]

Enfin, il a été montré que les vaccins ne sont pas efficaces chez les femmes ayant déjà une infection par un HPV16 et/ou 18. (30)

7.2. Prévention non spécifique :

La prévention de la transmission d'HPV est assez délicate du fait de sa résistance dans le milieu extérieur.

La transmission des HPV se fait par voie cutanéomuqueuse, le plus souvent lors de rapports sexuels, avec ou sans pénétration, et n'est que partiellement prévenue par les méthodes de prévention habituellement efficaces contre les IST telles que le préservatif, en effet, le virus peut être présent sur la plupart de la zone pelvienne y compris sur des zones non protégées par le préservatif.

L'infection génitale à HPV est très fréquente puisque plus de 70% des hommes et femmes sexuellement actifs rencontreront un papillomavirus au moins une fois dans leur vie, le préservatif diminue la transmission d'HPV mais seulement partiellement, son utilisation est cependant recommandée en prévention d'une infection, tout comme pour les autres infections sexuellement transmissibles.

II. Le col de l'utérus :

1. Anatomie et histologie : (31)

- L'utérus est un organe musculaire creux composé d'un fond, un corps, un isthme et un col. Les trompes établissent des liens entre l'utérus et la surface des deux ovaires. Ils sont ouverts sur la cavité utérine et la cavité péritonéale.
- Le corps et le fundus sont tapissés par l'endomètre, qui subit des modifications au cours du cycle menstruel. L'isthme est une partie courte et étroite entre le corps et le col de l'utérus. Le col de l'utérus est une partie arrondie et distale de l'utérus avec un canal central qui fait saillie dans le vagin.

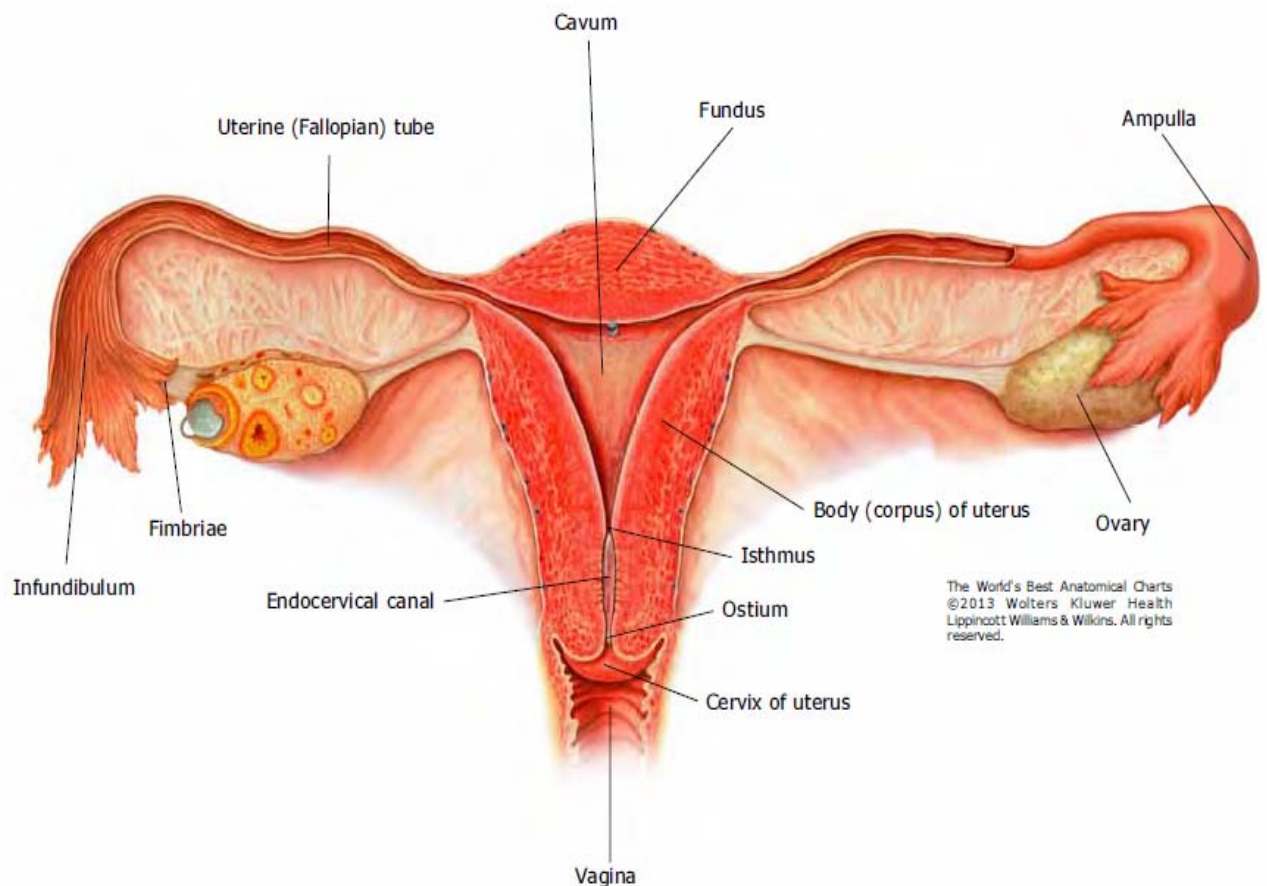


Figure 13 : Anatomie de l'appareil génital féminin (31)

➤ Les différents épithéliums (8)

L'exocol est tapissé par un épithélium malpighien, dit aussi épithélium pavimenteux stratifié non kératinisé, et l'endocol par un épithélium cylindrique (figure 14).

La rencontre de ces deux types d'épithélium a lieu au niveau de la zone de jonction, également appelée jonction pavimento-cylindrique. A l'origine, elle prend la forme d'une ligne droite démarquant une différence de niveaux, correspondant à la différence d'épaisseur cellulaire entre les deux épithéliums (Figure 15). Sa localisation est variable en fonction de l'âge de la femme, de son statut hormonal, du traumatisme provoqué par un accouchement ou de la prise d'une contraception orale.

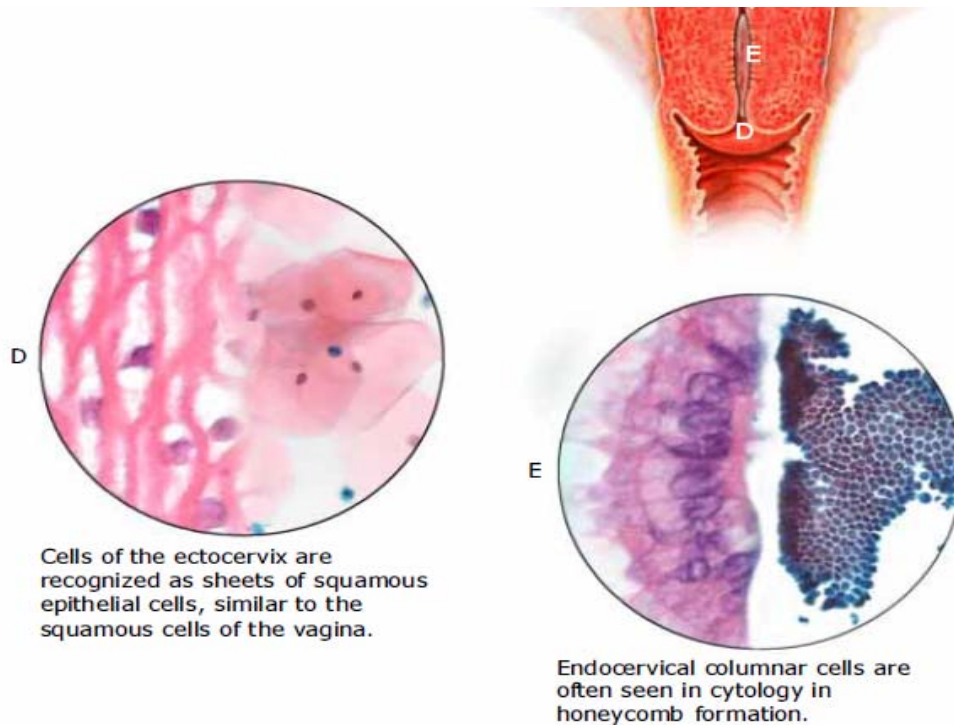


Figure 14: Endocol et exocol montrent une muqueuse très spéciale (31)

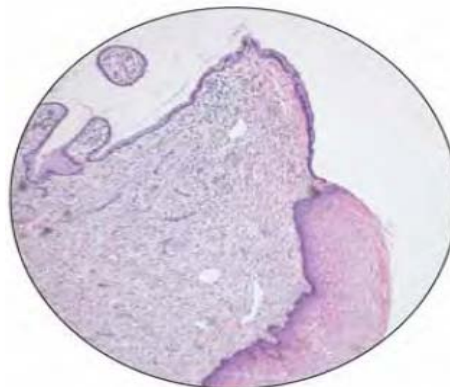


Figure 15: Jonction pavimenteux-cylindrique est le point de rencontre de l'épithélium pavimenteux de l'exocol et l'épithélium cylindrique endocervical. (31)

2. Composition cytologique : figure 16 (31)lo

L'épithélium malpighien de l'exocol est constitué de plusieurs couches de cellules (normalement 15 à 20 couches) de plus en plus fines (figure17). Il apparaît opaque et de couleur rose pâle.

Il forme une continuité avec l'épithélium vaginal et est assez résistant aux agressions extérieures

(bactéries ou acidité locale) de par sa nature stratifiée. Son architecture histologique peut être divisée en 3 couches :

- Une couche inférieure constituée d'une assise unique de cellules basales arrondies (figure 18) reposant sur la membrane basale, qui permet de séparer l'épithélium du stroma. Les cellules basales se divisent pour former les couches de cellules parabasales (figure 19) qui elles-mêmes vont se différencier pour former la couche intermédiaire
- Une couche intermédiaire constituée de cellules polygonales (motif « en mosaïque ») (figure 20)
- Une couche superficielle composée de cellules aplaties, dites pavimenteuses. (Figure 21)

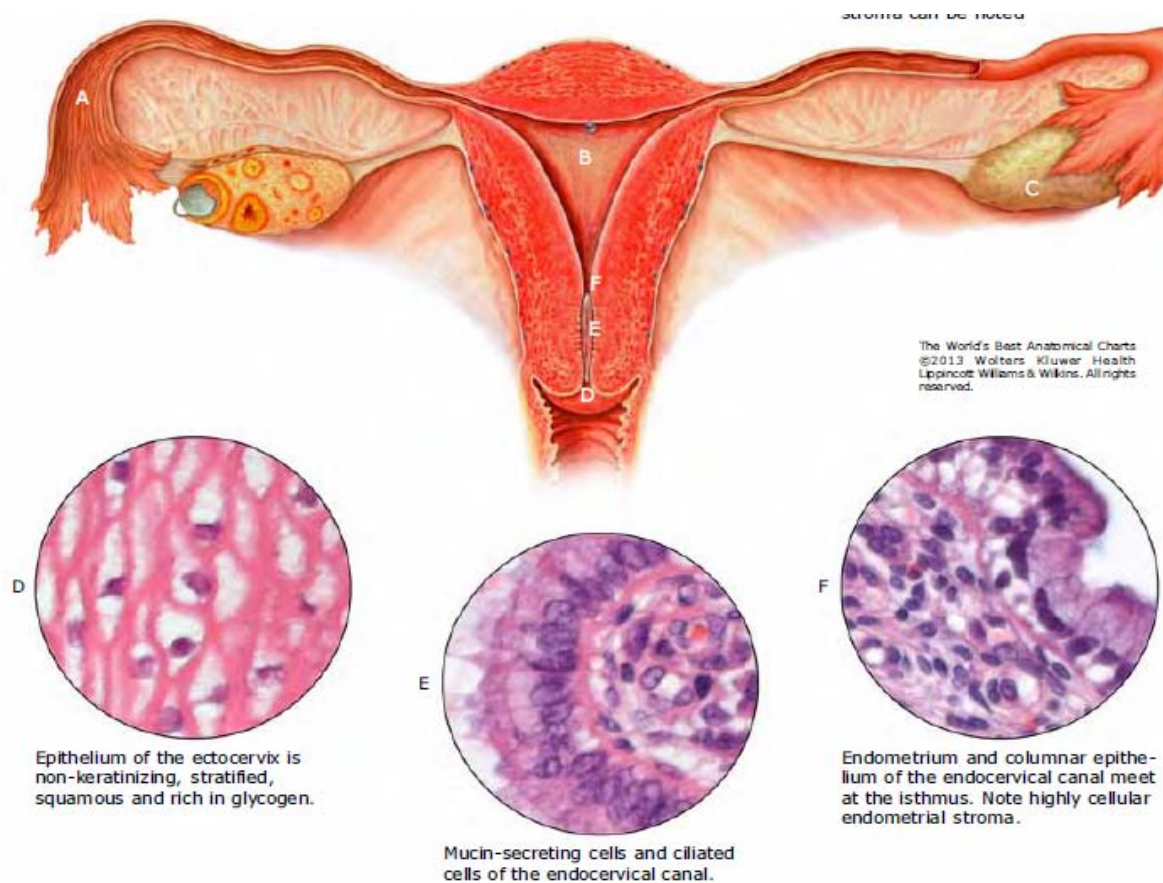


Figure 16: Complexité cellulaire du col utérin (31)

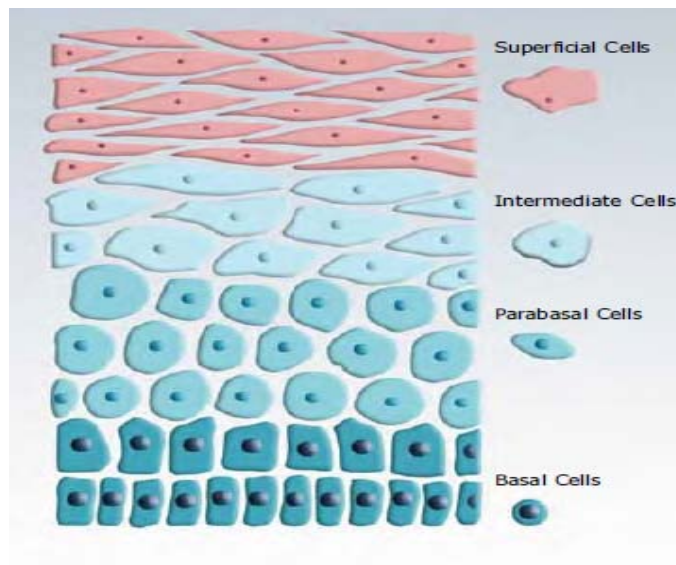


Figure 17: Épithélium malpighien de l'exocol (31)

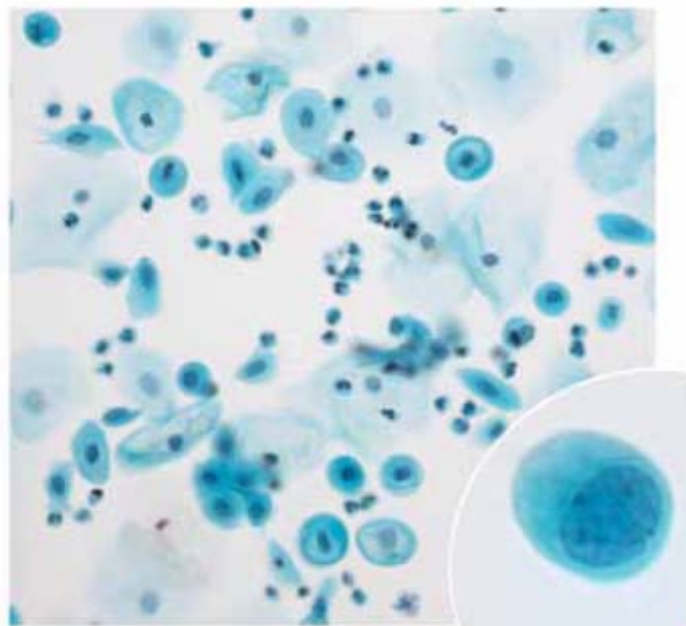


Figure 18 : Les cellules basales ont légèrement un plus grand noyau et un rapport N / C plus grand. La membrane nucléaire est lisse. Les cellules basales ne sont que sporadiquement trouvé dans les frottis cervicaux (31)

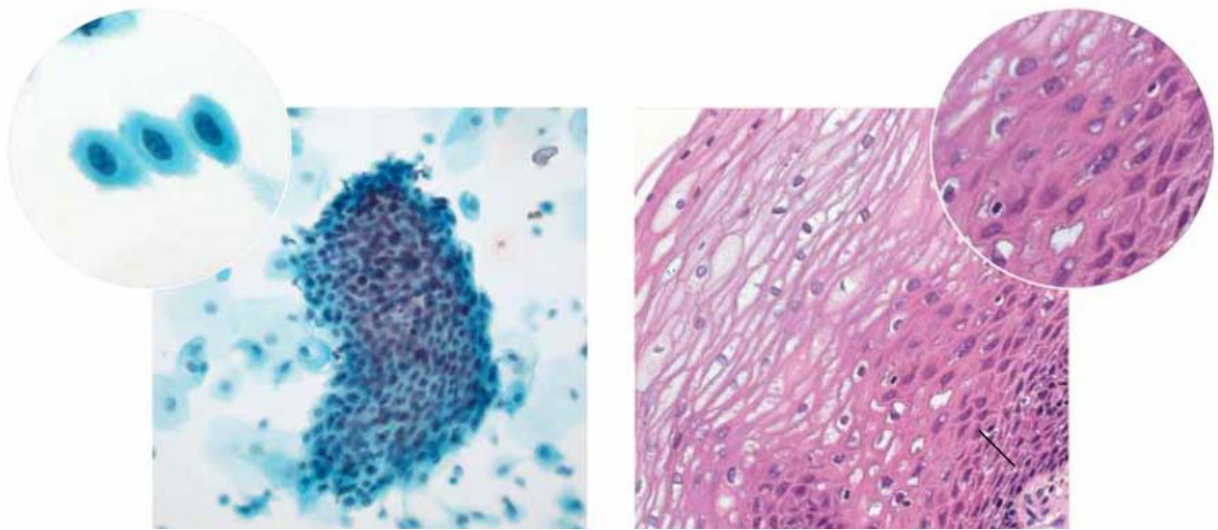


Figure 19: Cellules parabasales (31)

A droite : Coupe histologique montrant l'épithélium squameux en pleine maturité. La ligne noire est agrandie en cercle supérieur droit indique la région des cellules parabasales à noyaux hyperchromatiques.

A gauche : Cellules rondes-ovales, de 15–30 μm de diamètre. Le cytoplasme est cyanophile et de couleur dense bleu verdâtre. Le noyau occupe environ la moitié de la cellule.

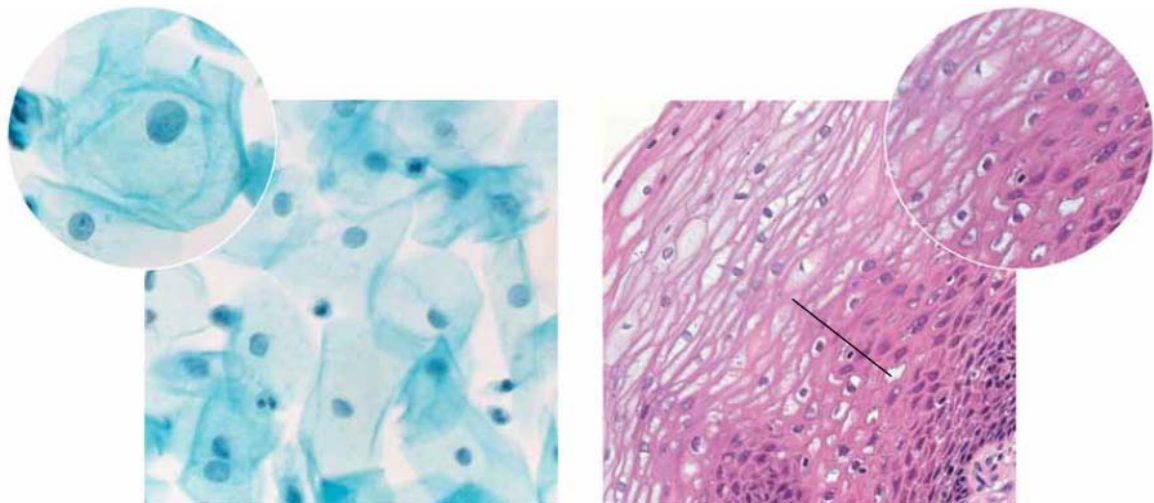


Figure 20 : Couche intermédiaire (31)

A droite : Coupe histologique montrant l'épithélium squameux en pleine maturité. La ligne noire est agrandie en cercle supérieur droit indique la région de cellules intermédiaires qui sont connectés avec ponts intercellulaires.

A gauche : Cellules polygonales de 35 à 40 μm de diamètre. Légèrement plus petites que les cellules superficielles. Le cytoplasme est cyanophile et taches bleu-vert. Les noyaux sont vésiculaire et environ 8 μm de diamètre.

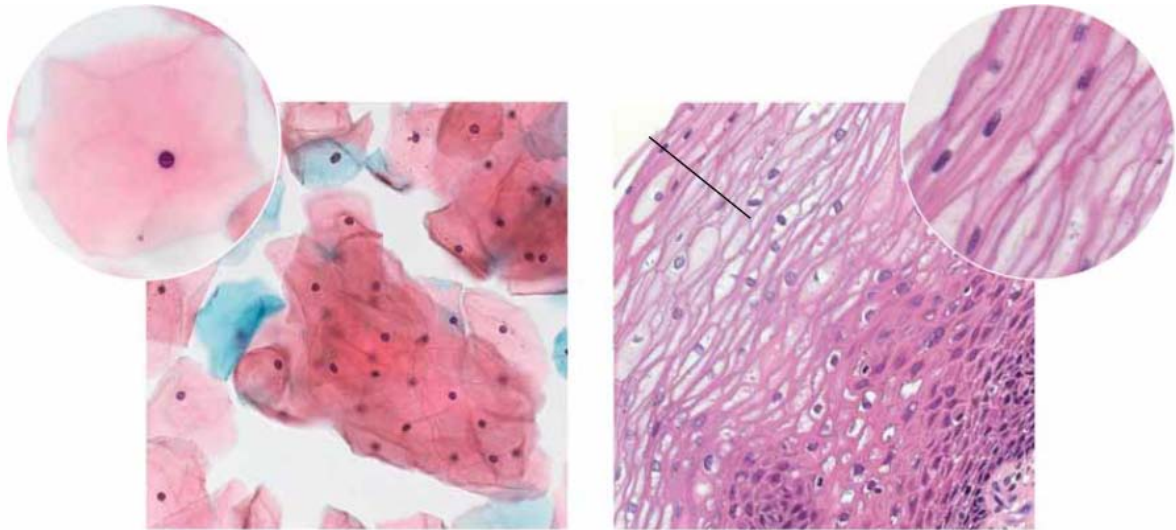


Figure 21 : Couche superficielle (31)

A droite: Coupe histologique montrant épithélium squameux en pleine maturité. La ligne noire est agrandie dans le cercle supérieur droit indique la région des cellules superficielles.

A gauche : Grandes cellules polygonales, 45–50 μm de diamètre. Le cytoplasme est éosinophile et se colore en rose. Noyaux sont petits (2 μm de diamètre), ronds et pycnotic.

L'épithélium cylindrique est quant à lui formé d'une unique couche de cellules hautes reposant sur la membrane basale (Figure 23). Il est beaucoup plus mince que l'épithélium pavimenteux tapissant l'exocol. Il tapisse le canal endocervical et s'étend vers l'extérieur sur une portion variable de l'exocol(ectropion). Lors d'un examen gynécologique, son aspect est plutôt rouge brillant, à cause de sa finesse qui permet de voir plus facilement la vascularisation sous-jacente dans le stroma.

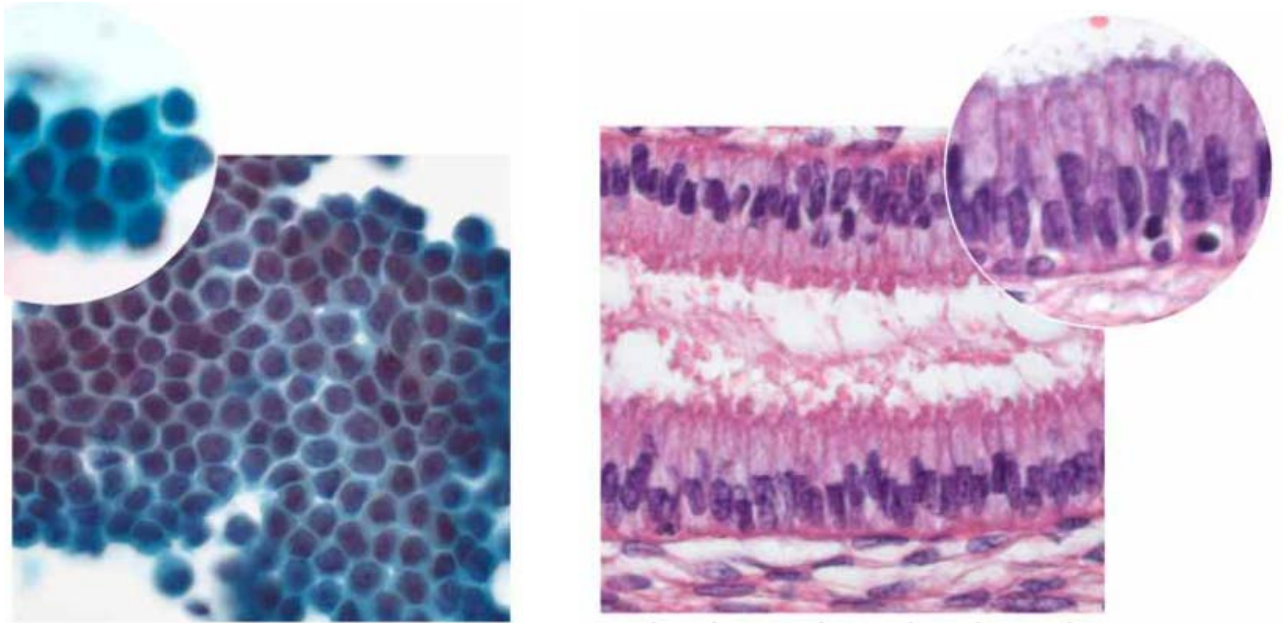


Figure 22: L'épithélium cylindrique endocervical (31)

A droite : Coupe histologique montrant le canal endocervical bordé de cellules en forme de colonne avec des noyaux localisés à la base.

A gauche : Les cellules endocervicales sont souvent groupées en nid d'abeille avec des frontières clairement définies et des bords arrondis



MATERIEL & METHODES



I. Type et cadre d'étude :

Il s'agit d'une étude prospective de type descriptive et analytique réalisée au sein du service de Bactériologie-Virologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech (HMA). Des frottis cervico-vaginaux chez les femmes suivies en consultation du service gynéco-obstétrique à l'hôpital mère enfant ont subi une étude cytologique au laboratoire d'anatomo-pathologie du CHU MED VI de Marrakech.

II. Population étudiée :

Population cible :

- Femmes âgées de 25 à 65 ans se présentant en consultation gynécologique.

Critères d'exclusion :

- Age < 25 ans ou > 65 ans
- Règles et saignements
- Chimiothérapie
- Cancer du col

Le nombre de cas de femmes étudiées est de 100.

L'origine des patientes est soit rurale ou urbaine au niveau de la région de Marrakech.

III. Phase pré-analytique :

La nature de l'étude a été parfaitement expliquée à la population étudiée, un consentement écrit a été obtenu de la part de chaque participante. Un questionnaire (fiche d'exploitation) regroupant les renseignements cliniques et les facteurs de risque de l'infection à l'HPV est documenté (Voir annexes).

IV. Réalisation des frottis cervicaux vaginaux :

1. Examen clinique :

L'examen en position gynécologique commence d'abord par l'inspection du périnée et de la vulve (à la recherche notamment des condylomes...) .Après avoir écarté les petites lèvres, le spéculum sera introduit sans lubrifiant (qui va altérer le matériel ramené), ceci avec doigté et douceur. Le spéculum doit être de taille adéquate pour ne pas traumatiser la patiente. Le col doit être parfaitement mis en évidence et l'orifice du canal endocervical bien visible. Les parois vaginales doivent être explorées en totalité sous colposcopie lors du retrait du spéculum.

2. Frottis cervico-vaginal :

Il est toujours réalisé avant le toucher vaginal. C'est en dehors des règles, pendant la période para ovulatoire, quand la glaire cervicale translucide produit un effet de loupe au niveau d'un orifice externe au maximum de son ouverture, que le prélèvement est conseillé. La présence de leucorrhée accompagnée d'irritation et d'une muqueuse rouge vernissée, signe cliniquement une infection et doit faire reporter le prélèvement du frottis, de même, des muqueuses atrophiques saignant au moindre contact. Ce sont la qualité du prélèvement, la quantité suffisante et la bonne conservation du matériel cellulaire qui permettront au pathologiste d'améliorer la performance de cette méthode de dépistage.

2.1. Mise en place du spéculum non lubrifié :

Elle doit être douce et progressive pour le confort de la patiente et pour éviter un saignement iatrogène des muqueuses. Introduit dans l'axe longitudinal de la vulve, le spéculum en prenant appui sur la fourchette entrouvre les petites lèvres, récline les vestiges hyménaux et progresse dans le tiers externe du conduit vaginal : à ce niveau une rotation d'un quart de tour replace les valves du spéculum à l'horizontale et permet de glisser sur les parois postérieure et antérieure du vagin jusqu'à la sensation de ressaut du col, au fond du dôme vaginal. C'est à ce moment précis que l'on écarte lentement les valves du spéculum pour permettre l'engagement du col qui se fixe entre les deux extrémités. (figure 23)

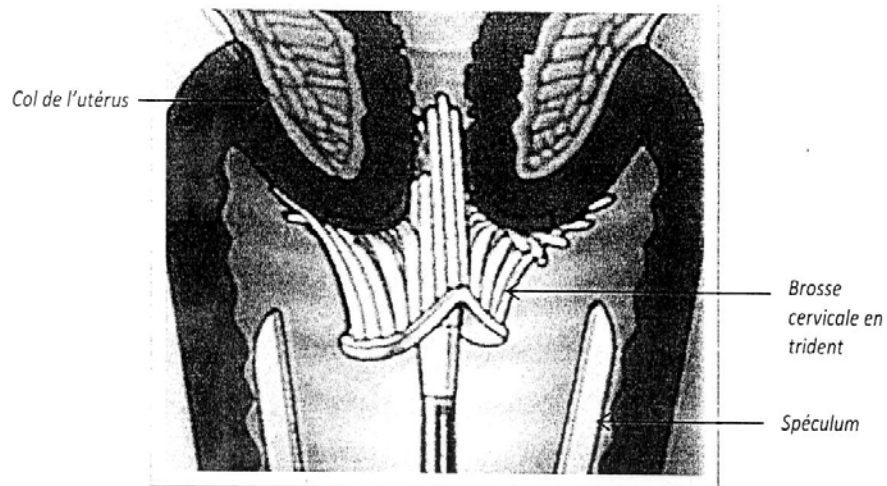


Figure 23 : Cyto-brosse introduite dans le col

2.2. Prélèvement en couche mince :

L'essuyage doux du col à l'aide d'un coton monté à l'extrémité d'une pince languette le débarrasse de ses sécrétions. Ainsi exposé, le col va permettre de réaliser des frottis sur trois niveaux (endocol-exocol-jonction), le prélèvement est réalisé en utilisant une brosse, le matériel prélevé est ensuite immédiatement rincé dans le flacon qui contient un fixateur permettant le transport au laboratoire. Une brosse sécable peut aussi être laissée dans le flacon. (Figure 24)



Figure 24 : Flacon utilisé pour conservation des frottis

V. Etude cytologique :

Réalisée au sein de laboratoire d'anatomie pathologique de l'Hôpital ARRAZI du CHU Med VI de Marrakech.

Après la réception des prélèvements, l'identification des flacons a été faite, ensuite les prélèvements ont été traités par un système complètement automatisé (figure 25) permettant de traiter jusqu'à 48 échantillons en 40 min, c'est une technologie de sélection des cellules d'intérêt par sédimentation qui permet une préservation optimale de l'architecture native. L'étalement est enrichi en cellules endocervicales et en cellules de la jonction avec préservation de la structure en amas ce qui permet une lecture simplifiée et plus sûre.



Figure 25: L'automate NPS (photo du service anapath)

Cette technique se fait en Plusieurs étapes :

- Chargement des plateaux du travail :
 - Charger les lames et les flacons en vérifiant que le numéro de position est le même pour chacun des deux. (figure 26)
 - Positionner les buvards (une bandelette par ligne) (figure 27)

Le dépistage du papillomavirus dans la région de Marrakech

- Insérer les chambres de décantations (figure 28) : les bords plans de la presse vers le haut puis retourner la presse (la partie claire de la chambre et la face plane de la presse sont en bas)

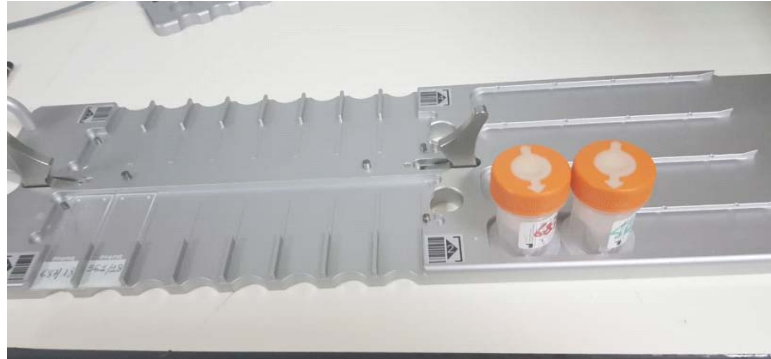


Figure 26: Chargement des flacons et des lames (photo du service anapat)



Figure 27: Positionnement des buvards (photo du service anapat)

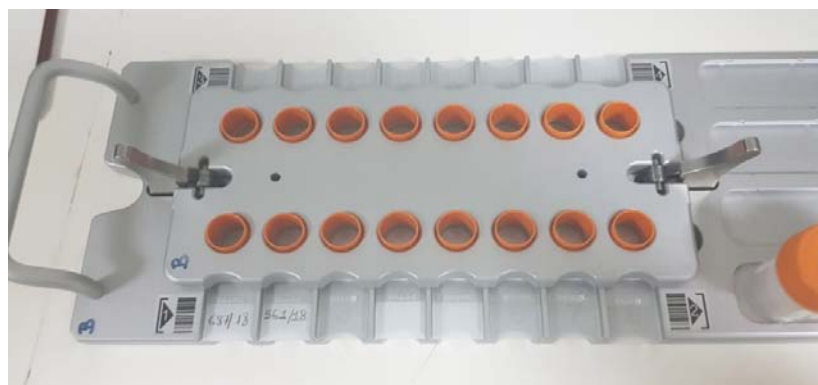


Figure 28: Insertion des chambres de décantations (photo du service anapat)

Le dépistage du papillomavirus dans la région de Marrakech

- Préparation des réactifs :
 - Solution de l'eau de javel
 - Solution de décontamination
 - Solution de Novastick
 - Solution préservative
- Positionnement des plateaux et des bacs contenant les réactifs sur l'automate
- Lancement du logiciel :

L'appareil NPS 50 est connecté à un ordinateur qui permet de démarrer le processus d'étalement (figure 29/30)



Figure 29: Unité ordinateur–NPS50 (photo du service anapat)



Figure 30: Logiciel NPS50 (photo du service anapat)

- Fixation :

Sécher les lames dans l'étuve à 56° pendant 5 minutes (figure 31)



Figure 31: L'étuve (photo du service anapat)

- Coloration :

Le processus de coloration cytologique utilise la coloration Papanicolaou, soit manuelle soit grâce à l'automate Dako Coverstainer (figure 32), qui permet une standardisation de la technique de coloration et le montage des lames.



Figure 32: Automate de coloration (Dako coverstainer) (photo du service anapat)

- Lecture des lames :

Elle se fait sous microscope optique par le résidant d'anatomie pathologique et validé par un autre confrère.

L'interprétation a été faite suivant **le système Bethesda 2014:**

Type de prélèvement :

Conventionnel, ou en milieu liquide

Qualité de prélèvement :

- Satisfaisant pour l'évaluation (décrire la présence ou l'absence de la composante endocervicale ou de la zone de transformation et des autres indicateurs de qualité : hémorragie, inflammation...)
- Non satisfaisant pour l'évaluation (expliquer) : échantillon rejeté non technique (expliquer), échantillon technique et examiné mais insatisfaisant pour l'évaluation (expliquer)

Catégorisation générale (facultatif) :

- Absence de lésions intraépithéliales ou de signes de malignité
- Anomalies des cellules épithéliales (voir interprétation et résultats)

Interprétation et résultats :

- Absence de lésions malpighiennes ou de signes de malignité :
 - Modifications cellulaires bénignes : remaniements métaplasiques, changements kératosiques, métaplasie tubaire, atrophie, changement accompagnant la grossesse.
 - Changements réactionnels associés à : l'inflammation, les radiations, et la contraception intra-utérine
 - Etat des cellules glandulaires après hystérectomie
- Organismes :

Trichomonas vaginalis, Candida, Vaginose bactérienne, Actinomyces, Herpès simplex virus, Cytomégalovirus.

- Anomalies des cellules malpighiennes :
 - Présence d'atypies de signification indéterminée (ASCUS)
 - Présence d'atypies ne pouvant pas exclure un haut grade (ASCH)
 - Présence de lésions intraépithéliales de bas grade (LSIL)
 - Présence de lésions intraépithéliales de haut grade (HSIL) : englobant la dysplasie modérée et sévère, CIS, CIN2, et CIN3.
 - Présence de carcinome malpighien
- Anomalies des cellules glandulaires :
 - Présence d'atypies de signification indéterminée : des cellules endocervicales ou des cellules endométriales.
 - Présence de lésion : de bas grade ou de haut grade
 - Présence d'adénocarcinome : endocervical, endométrial, extra-utérin ou non spécifique
- Autres tumeurs malignes : spécifier

⇒ Fournir au clinicien une brève description de la méthode utilisée et simplifier les résultats

Notes et commentaires annexés au rapport

Les suggestions doivent être concises et suivre les recommandations internationales

Différents aspects retrouvés dans notre série :

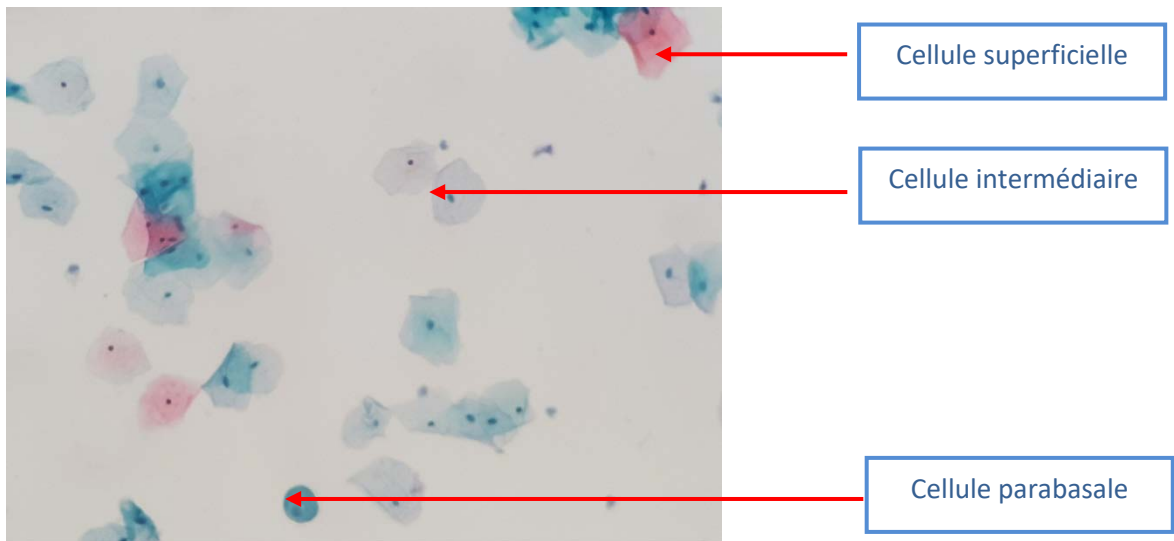


Figure 33: Frottis d'aspect subnormal chez une patiente de notre étude

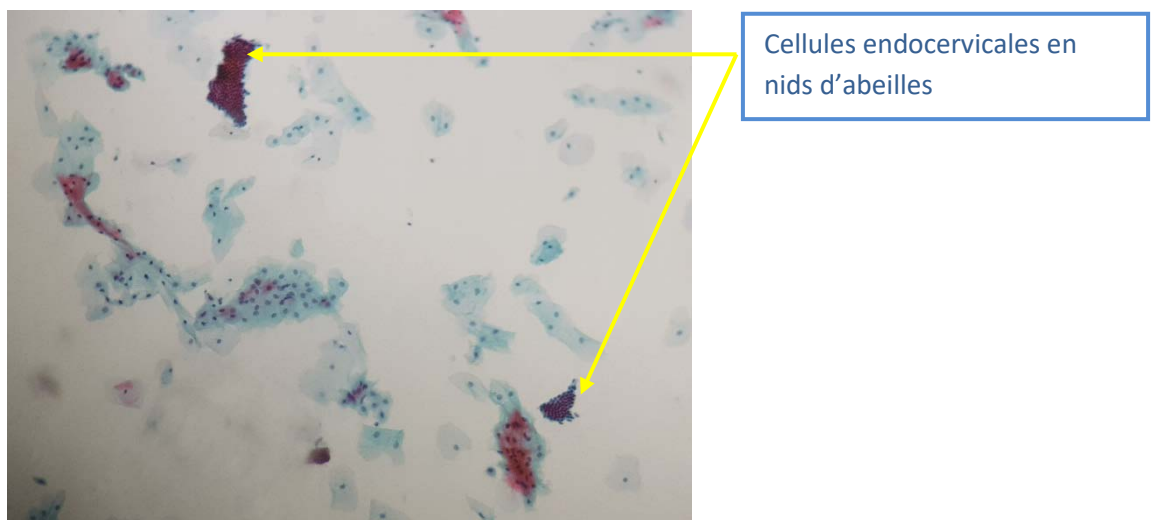
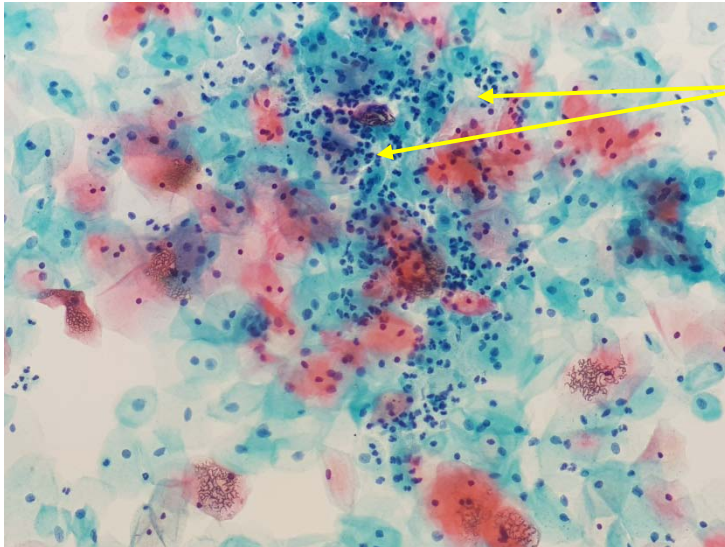
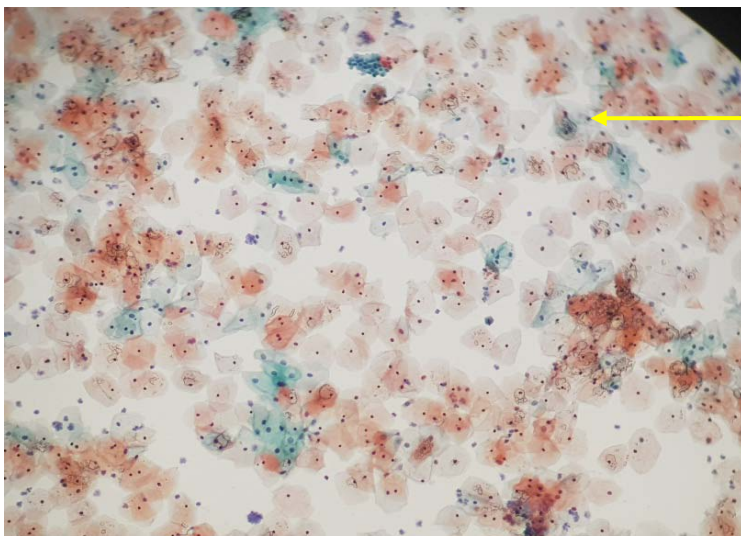


Figure 34: Aspect des cellules endocervicales sur un frottis satisfaisant pour l'évaluation chez une patiente de notre série.



Polynucléaires neutrophiles

Figure 35: Frottis inflammatoire à prédominance Polynucléaire neutrophile chez une de nos patientes.



Cellules superficielles parakératosiques

Figure 36: Altérations parakératosiques sur un des frottis de l'étude

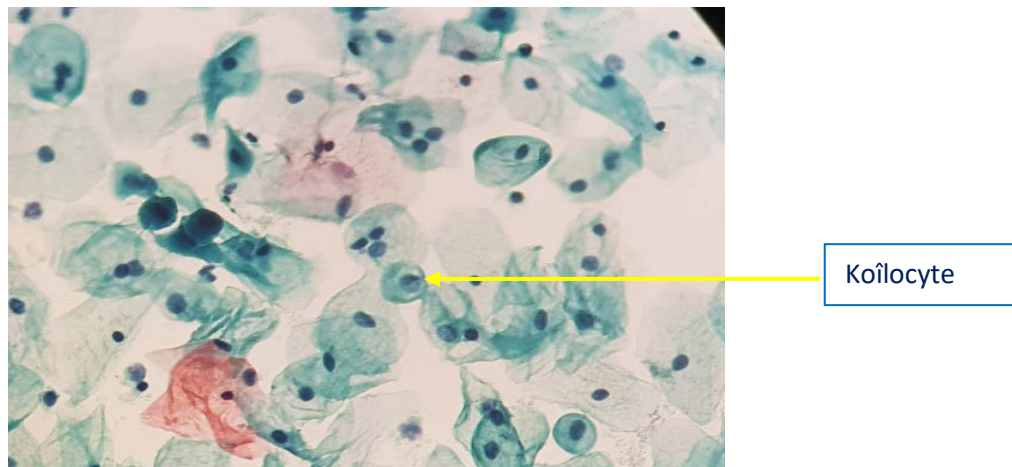


Figure 37: Parakératose + koilocyte chez une patiente confirmée porteuse d'HPV dans notre série

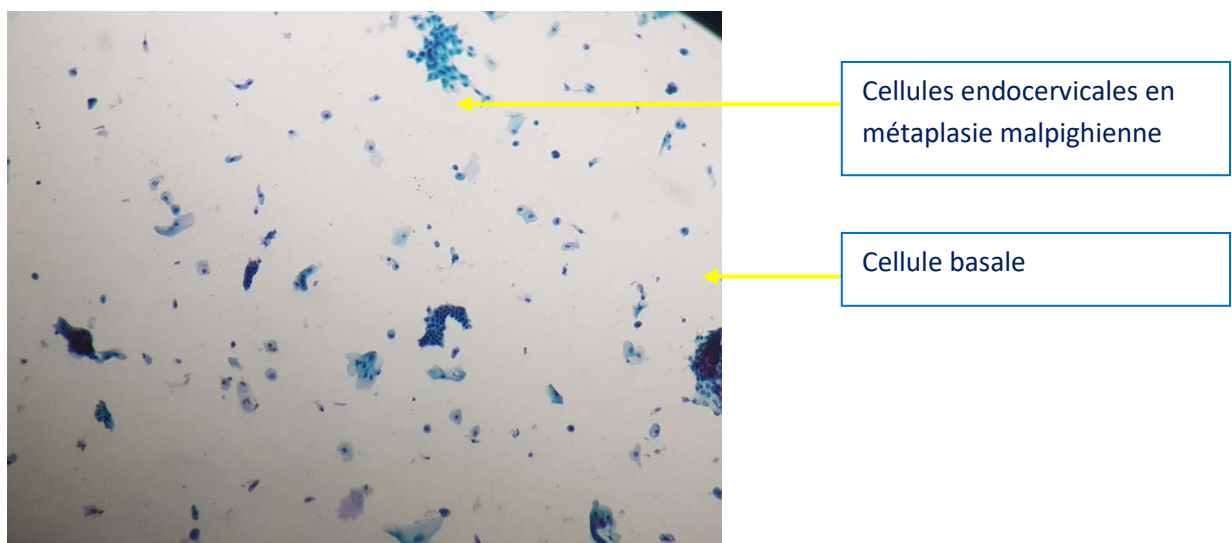
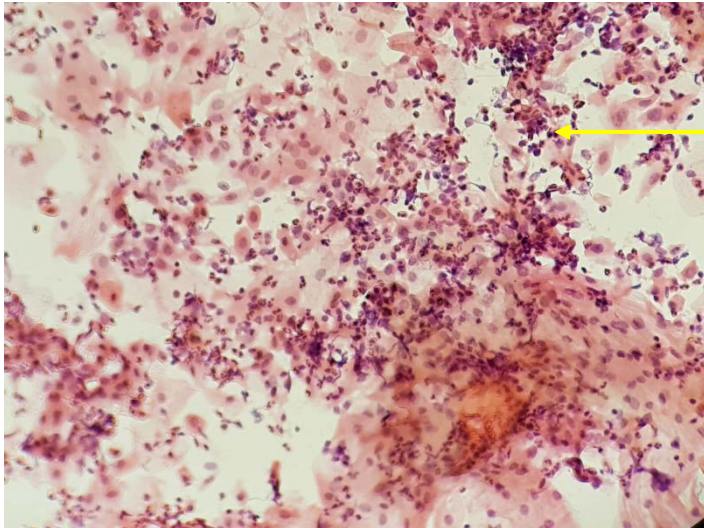


Figure 38: Frottis atrophique chez une patiente âgée de notre série.



Noyau augmenté de taille

Figure 39 : Anomalies intraépithéliales de signification indéterminée (ASCUS) chez une patiente jeune de notre série

VI. Etude moléculaire :

Réalisée au sein de laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Militaire Avicenne.

Plusieurs étapes:

- Prétraitement des FCV (préparation des échantillons / figure 40 et 41)

Dans des ependorff vides on met 200µl du liquide où on a conservé les cyto-brosses, on les centrifuge pendant une minute puis on jette le surnageant et on ajoute 400µl du PBS, ensuite on les centrifuge la 2ème fois pendant une minute puis on jette le surnageant et on ajoute 25µl du PBS, les échantillons sont ainsi préparés, on peut les conserver pendant une semaine à -4°C

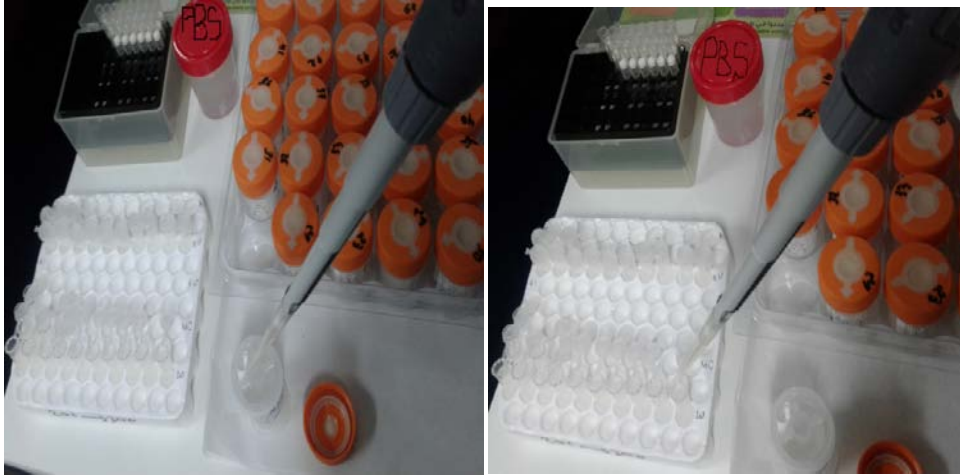


Figure 40 : Préparation des échantillons (photo du service de Microbiologie de l'HMA)



Figure 41 : Centrifugation (photo du service de Microbiologie de l'HMA)

- Préparation du mix : (figure 42)

Réaliser sous le poste de sécurité microbiologique PSM II

Décongeler le mélange PCR multiplex

Bien mélanger en retournant le flacon plusieurs fois

Ajouter au flacon de mélange PCR le volume total d'ADN polymérase et de glycosylase d'ADN uracile, bien mélanger en inversant plusieurs fois et centrifuger pendant quelques secondes

Le dépistage du papillomavirus dans la région de Marrakech

Distribuer des aliquotes de 36 μ l du nouveau mélange dans 24 tubes de PCR et conserver à -20 °C

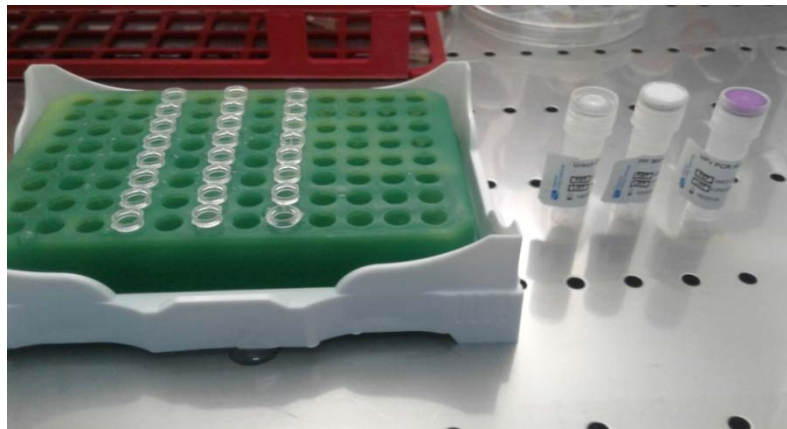


Figure 42 : Sous la hotte, préparation du mix et les 24 tubes de PCR
(photo du service de Microbiologie de l'HMA)

- Amplification par PCR multiplex en temps réel :

Ajouter 4 μ l de chaque échantillon au 36 μ l du mix, placer les dans le système de PCR en temps réel CFX 96 (figure 43) et lancer le programme d'amplification (tableau V, figure 44)



Figure 43 : Système de PCR en temps réel CFX 96 de BIORAD
(photo du service de Microbiologie de l'HMA)

Tableau V: Profil thermique d'amplification

1 Cycle	25°C	10 min
1 Cycle	94°C	3 min
15 Cycles	94°C	30 s
	42°C	30 s
	72°C	30 s
35 Cycles	94 °C	30 s
	60 °C	30 s
	72 °C	30 s
1 Cycle	72°C	5 min
	8°C	----

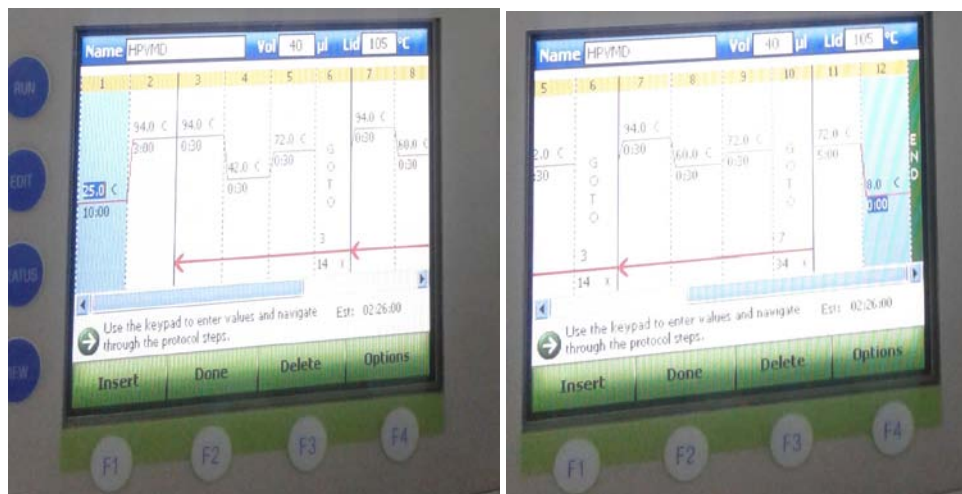


Figure 44: Amplificateur CFX 96, profil thermique d'amplification (photo du service de Microbiologie de l'HMA)

Conserver les produits de PCR à 8–10°C une fois l'amplification terminée. Les échantillons peuvent être immédiatement hybridés ou conservés dans un réfrigérateur post PCR à 8–10 ° C pendant 1–2 jours.

Pour un stockage plus long, il est recommandé de conserver à -20 ° C.

➤ Incubation :

Dénaturer les produits de PCR en les chauffant à 95°C pendant 10 min dans un thermocycleur (figure 45) et en les refroidissant sur de la glace pendant au moins 2 min (figure 46).

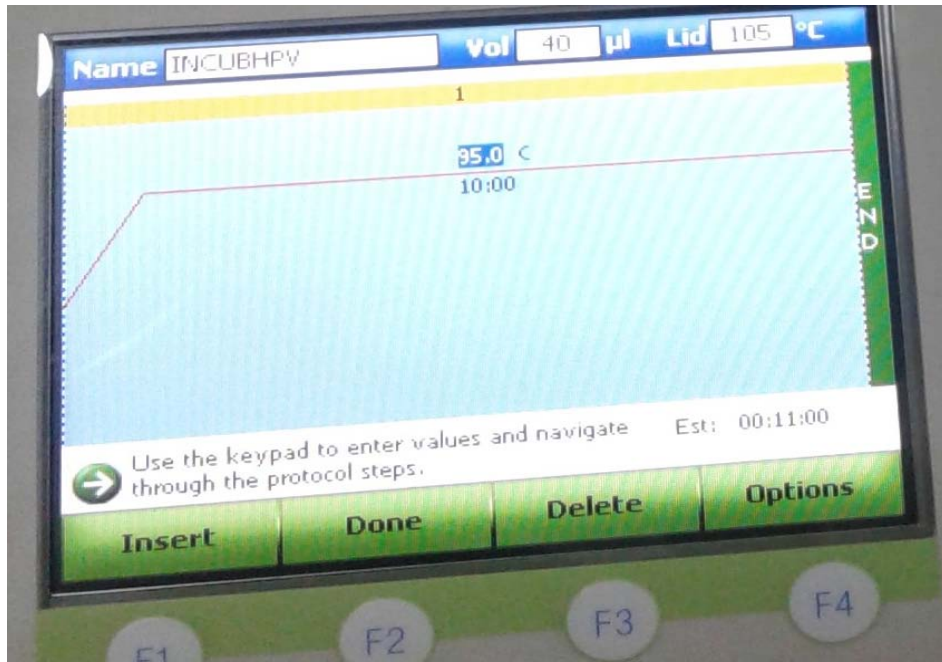


Figure 45: Incubation à 95°C (photo du service de Microbiologie de l'HMA)

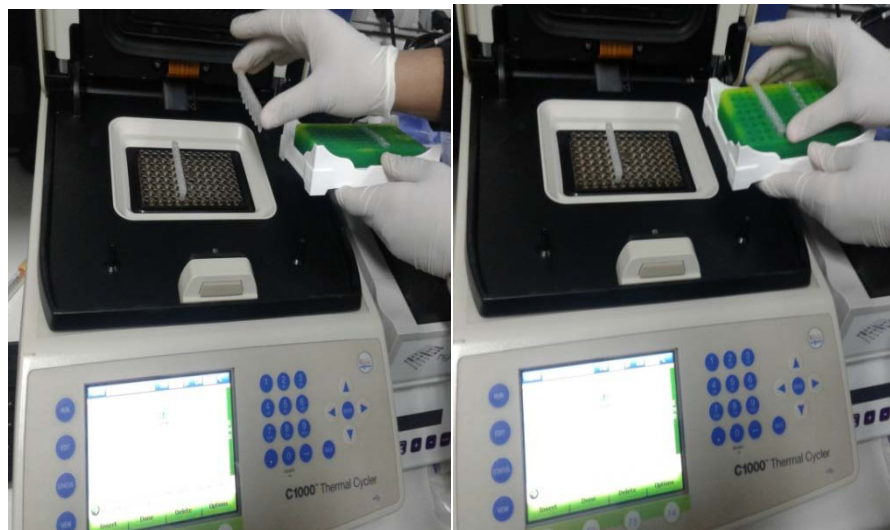


Figure 46 : Refroidissement des produits PCR (photo du service de Microbiologie de l'HMA)

- Hybridation : (figure 47 et 48)

Préchauffer le réactif A (solution d'hybridation) à 41 ° C dans un bain marie.

Placer chaque puce HPV dans la position indiquée dans le dispositif Hybrispot 12.



Figure 47: Puces HPV placées dans l'Hybrispot 12 (photo du service de Microbiologie de l'HMA)

Régler la température de la chambre à 41 ° C. Distribuer 300 µl de réactif A préchauffé (Solution d'hybridation) dans chaque puce, incuber à 41 ° C pendant au moins 2 min.

Retirer le réactif par le vide (appuyez sur la pompe).

Mélanger 270 µl de réactif A préchauffé (solution d'hybridation) (41 ° C) et 30 µl de chaque solution dénaturée du produit PCR. Distribuer dans la puce HPV

Remarque: Lorsque vous travaillez avec des échantillons PCR directs, certains débris cellulaires peuvent être déposés au fond des tubes de PCR; évitez de prendre ces débris autant que possible pour obtenir des puces propres.

Incuber à 41 ° C pendant 8 min.

Le dépistage du papillomavirus dans la région de Marrakech

Retirer le réactif sous vide (assurez-vous que la pompe est connectée pendant au moins 30 s).

Effectuer 3 lavages avec 300 µl de réactif A préchauffé (solution d'hybridation) (41 ° C).

Régler la température de la chambre à 29 ° C.

Distribuer 300 µl de réactif B (solution de blocage) dans chaque puce et incuber pendant 5 min.

Retirer le réactif sous vide.

Lorsque la température atteint 29 ° C, verser 300 µl de réactif C (streptavidine-alcaline Phosphatase) dans chaque puce.

Incuber pendant 5 min à 29 ° C.

Retirer le réactif par le vide.

Régler la température de la chambre à 36 ° C.

Effectuer 4 lavages avec 300 µl de réactif D (tampon de lavage I).

Préparer le volume requis de solution de développement E en mélangeant les réactifs E1 et E2. Le tableau VI indique les volumes requis de réactifs E1 et E2 pour différents tests:

Tableau VI: Volumes de réactifs E1 et E2 à mélanger dans le flacon E en fonction du nombre d'échantillons à traiter

	Vol (µl)/1 test	Vol (µl)/4 test	Vol (µl)/8 test	Vol (µl)/12 test
E1	200	700	1400	2200
E2	200	700	1400	2200

Le dépistage du papillomavirus dans la région de Marrakech

Lorsque la chambre atteint 36 ° C, verser 300 µl de réactif E (solution de développement) dans chaque Puce. Incuber à 36 ° C pendant 8 min.

Retirer le réactif par le vide.

Effectuer 2 lavages avec 300 µl de réactif F (tampon de lavage II) dans chaque puce

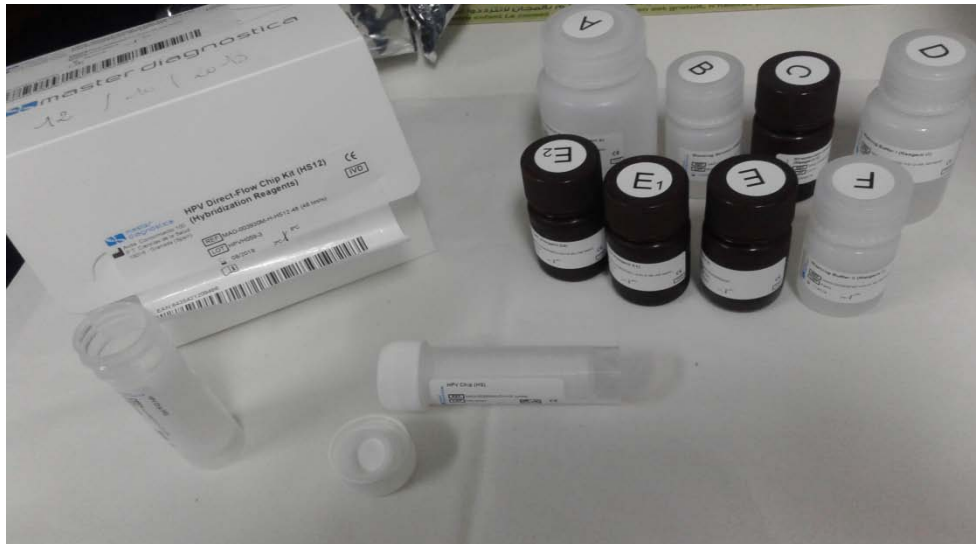


Figure 48: Les différents réactifs utilisés (photo du service de Microbiologie de l'HMA)

➤ Lecture :

A l'aide d'une caméra connectée à un ordinateur, les images des puces HPV sont capturées et analysées. (Figure 49 et 50)



Figure 49: Système caméra-ordinateur (photo du service de Microbiologie de l'HMA)

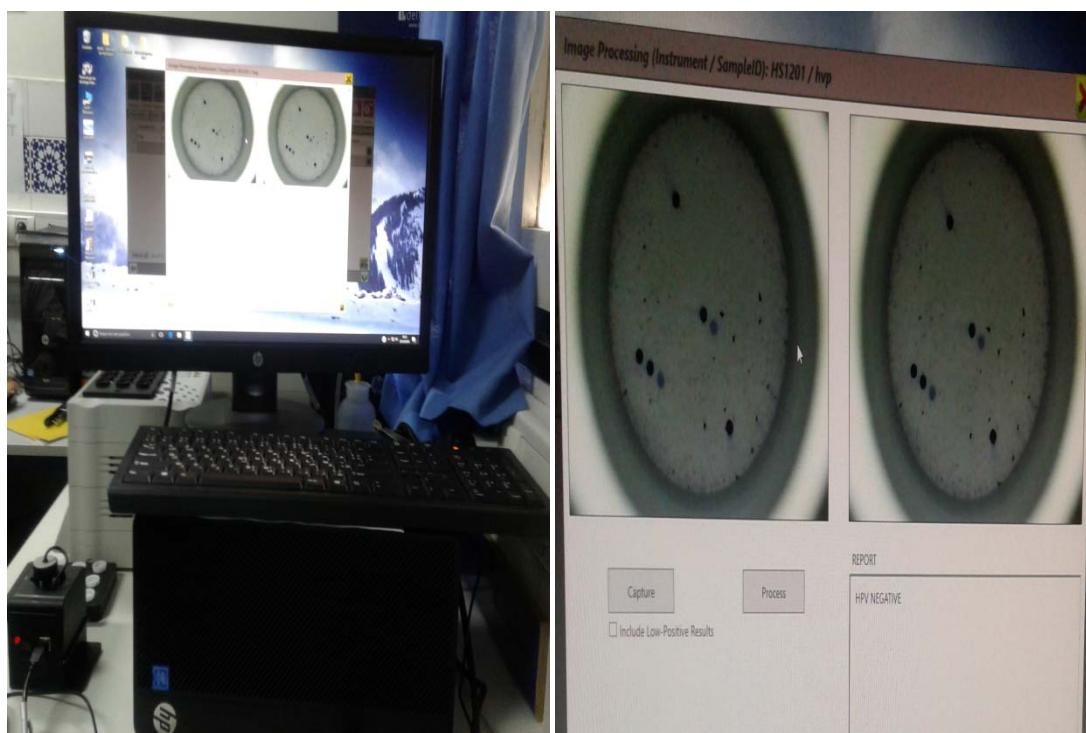


Figure 50: Analyse des images (photo du service de Microbiologie de l'HMA)

La figure 51 montre la répartition des spots dans la puce HPV :

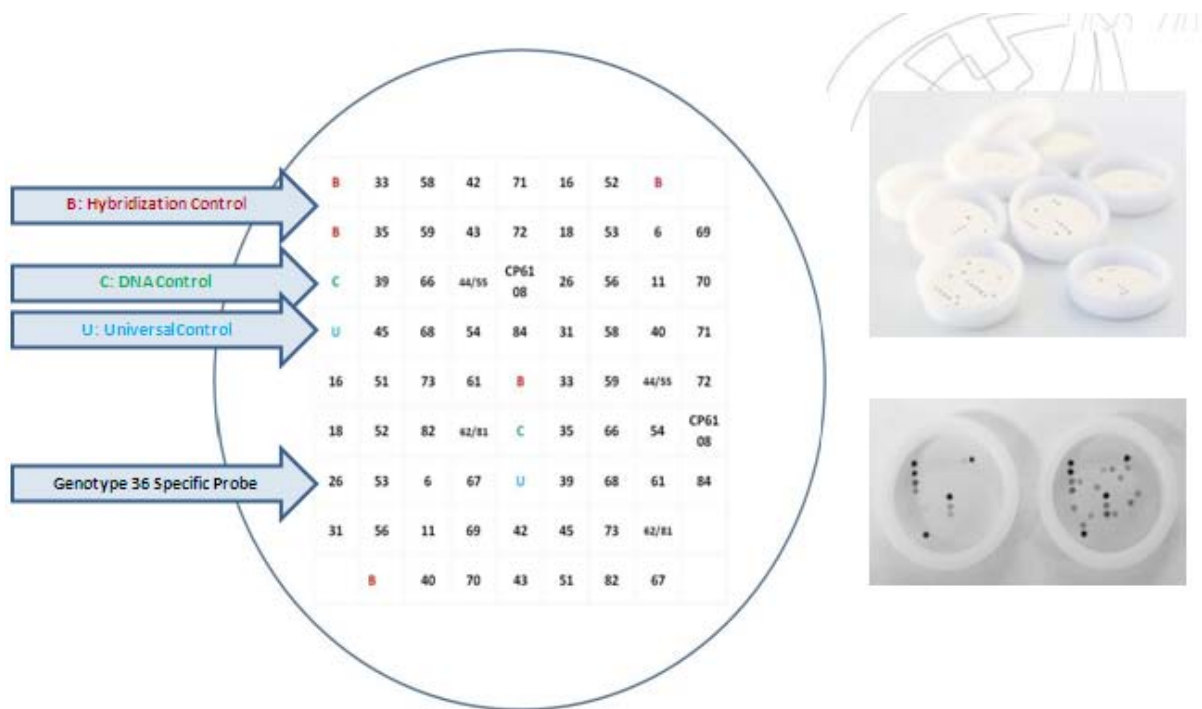


Figure 51: Répartition des spots dans la puce HPV

"B": contrôle d'hybridation

"C": contrôle de l'amplification endogène (gène humain de la β -globine)

«U»: sonde HPV Universel

"X": sondes spécifiques pour chaque génotype HPV

VII. Modalités de recueil des données :

Les données collectées des questionnaires sont récupérées sur feuille Excel pour faciliter leur exploitation



RESULTATS



I. Caractéristiques de la population étudiée :

1. L'âge:

L'âge des participantes est entre 25 et 65 ans.

L'âge moyen des patientes de notre étude était de 42 ans, la tranche d'âge entre 25 et 44 ans est la plus représentée avec 56% de la population étudiée. (tableau VII / figure 52)

Tableau VII: Répartition du nombre total selon les tranches d'âge

Tranche d'âge	25-34 ans	35-44 ans	45-54 ans	55-65 ans
Nombre	27 (28%)	27(28%)	23(24%)	19(20%)

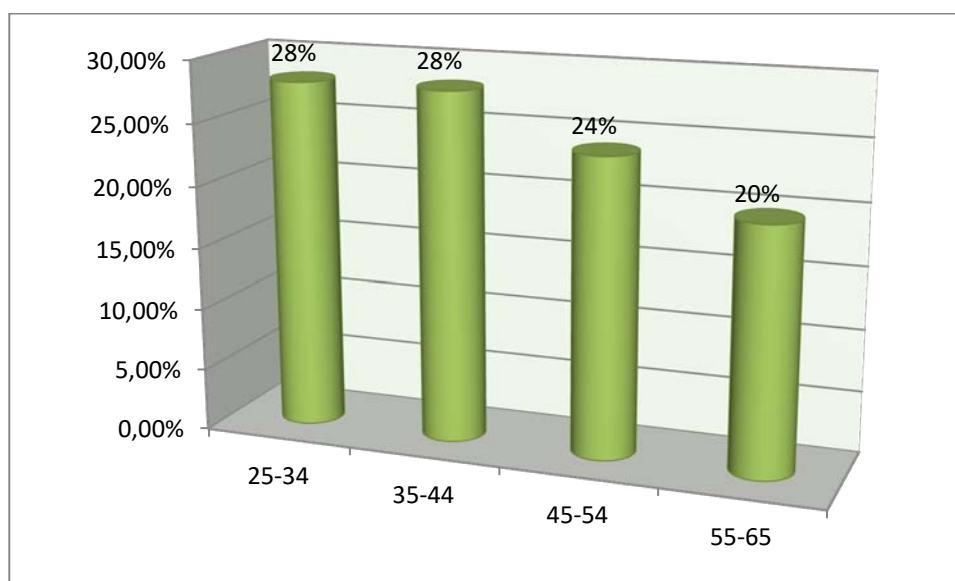


Figure 52: Répartition du nombre total selon les tranches d'âge

2. Niveau socio-économique:

Les FCV ont été réalisés au sein du service de gynécologie CHU MED VI, la majeure partie des consultantes sont sous couverture Rammed, elles appartiennent à un niveau socio-économique bas.

Tableau VIII: Répartition des patientes selon le niveau socio économique

Niveau Socio Economique	Bas	Moyen	Haut
Echantillon	70 73%	26 27%	0 0%

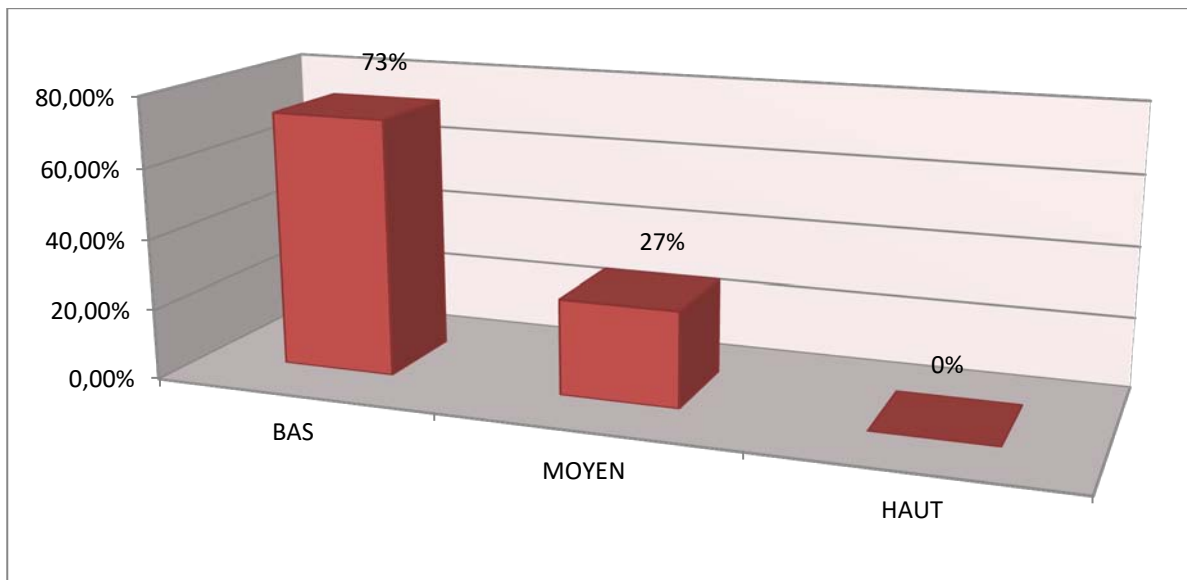


Figure 53: Répartition des patientes selon le niveau socio économique

3. Contraception orale :

21 patientes n'utilisent aucune méthode contraceptive, soit 22 % de l'échantillon, et 69 patientes sont sous contraception orale.

Parmi les patientes HPV positif la majeure partie est sous CO, soit 85% des patientes.

Tableau IX: Répartition des patientes selon l'utilisation de la CO

CO	Oui	Non	Total
Echantillon	69 (72%)	27 (28%)	96(100%)
Patiente HPV +	11 (85%)	2 (15%)	13 (100%)

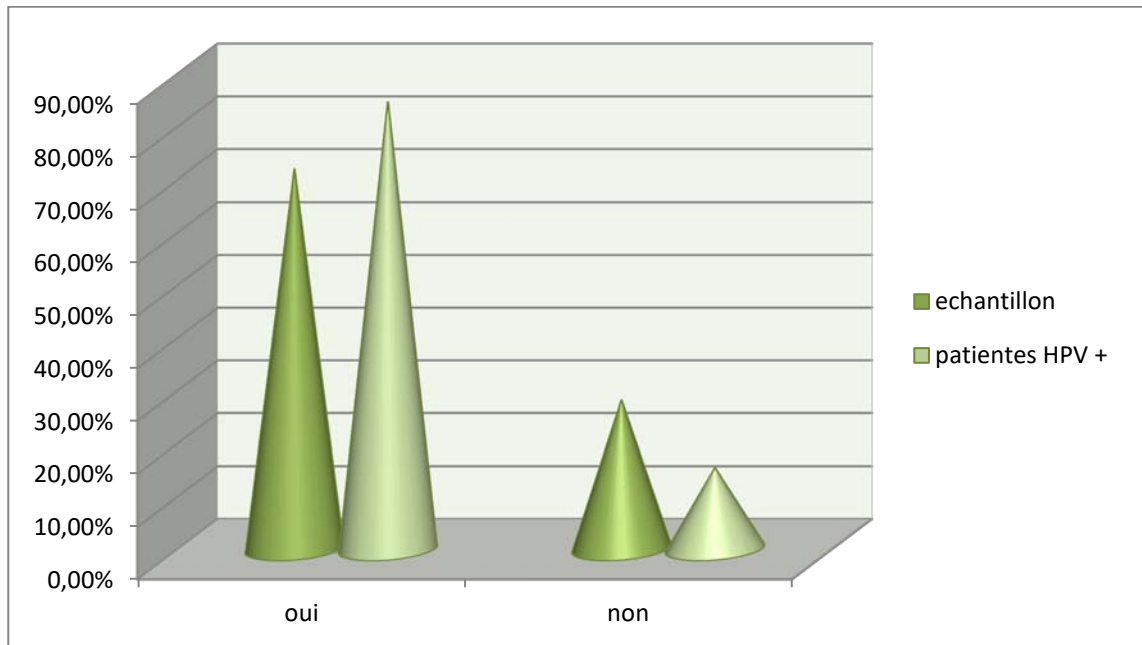


Figure 54: Répartition des patientes selon l'utilisation de la CO

4. Tabac :

Deux patientes parmi les 100 prélevées réclame être tabagique, 33 sont exposées au tabagisme passif, plus de la moitié de l'échantillon non pas le tabac comme FDR.

Tableau X: Répartition des patientes selon le tabagisme

	Oui	Non
Tabac	35 (36%)	61 (64%)

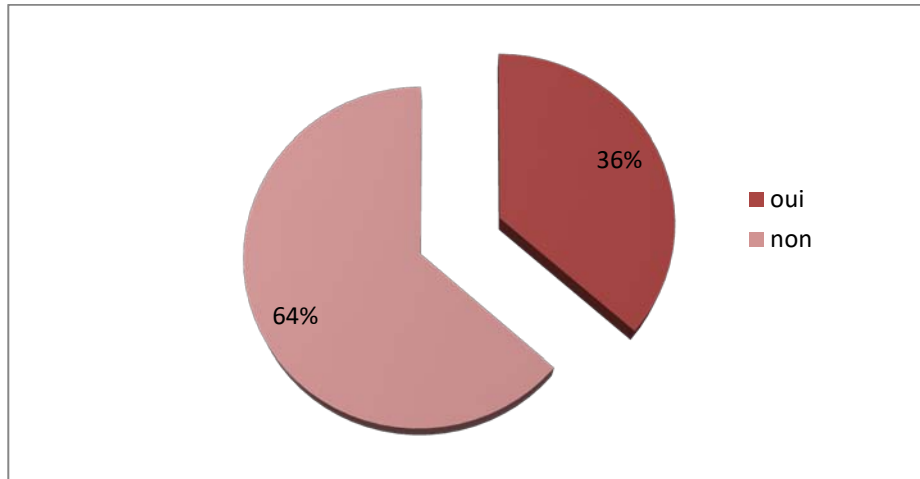


Figure 55: Répartition des patientes selon le tabagisme

5. Antécédents de cancer:

Aucune patiente n'a présenté un ATCD du cancer du col soit personnel ou familial, 15% des patientes ont un ATCD personnel de cancer du sein.

Tableau XI: Répartition des patientes selon la présence du cancer du sein

	Présent	Absent
ATCDs de Cancer	14 (15%)	82 (85%)

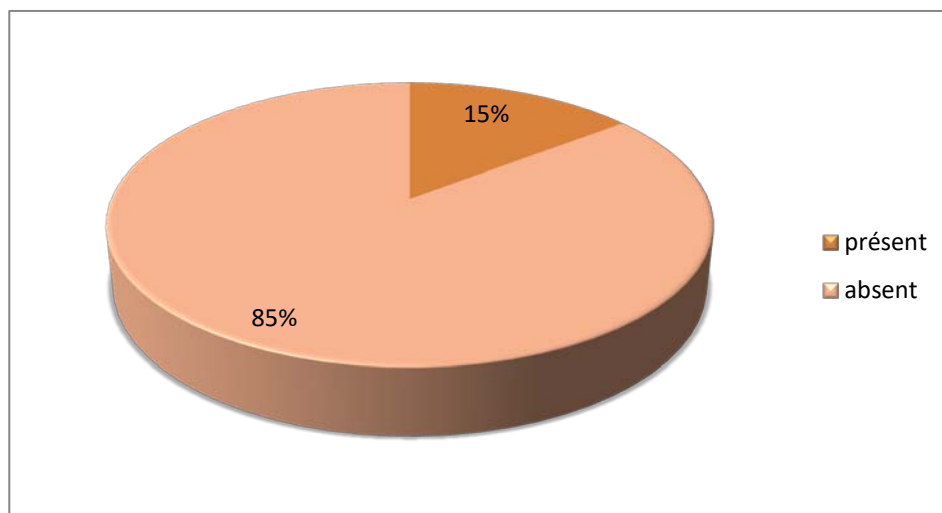


Figure 56: Répartition des patientes selon la présence du cancer du sein

6. Frotti cervico vaginal :

Soixante quatre patientes – soit les deux tiers des participantes – n’ont jamais fait un FCV et n’ont jamais bénéficié d’un dépistage du cancer du col.

Parmi les patientes HPV positif, seule 38% qui ont bénéficié d’un test de dépistage.

Tableau XII: Répartition selon la réalisation du FCV

FCV	Fait	Jamais fait
Echantillon total	32 (33%)	64 (67%)
Patientes HPV positif	5 (38%)	8 (62%)

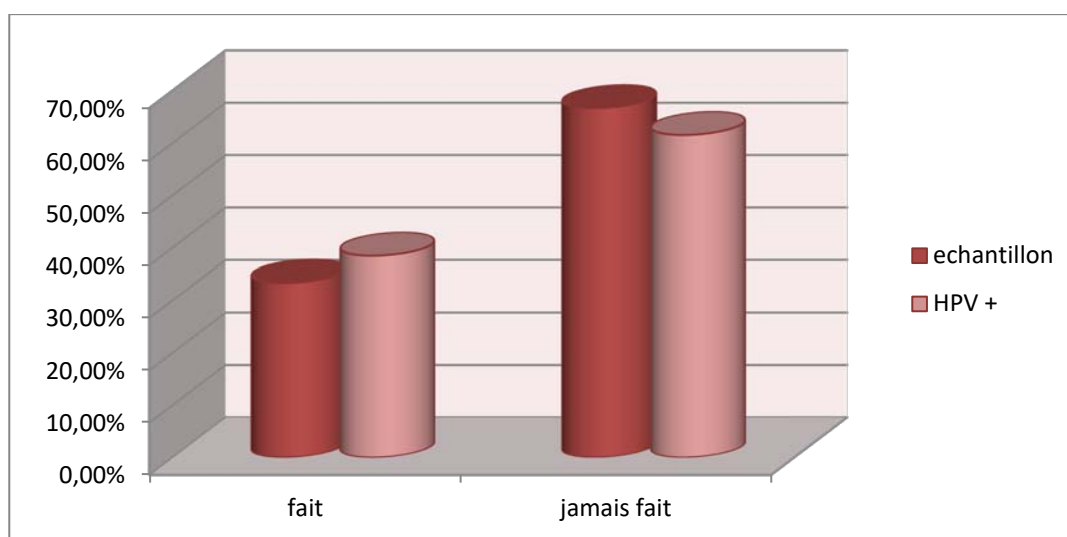


Figure 57: Répartition selon la réalisation du FCV

II. Résultats de la cytologie :

Aucun frottis n’a présenté des lésions de malignité, 17 étaient normaux soit 18% de l’échantillon

Les frottis inflammatoires représentent la moitié de la totalité des frottis.

Les frottis avec des stigmates d’infection HPV ne représentent que 7% (7 frottis), alors que les frottis parakératosiques représentent 17%. (Figure 58)

Les frottis avec ASCUS présentent une fréquence élevée de FDR (figure 59)

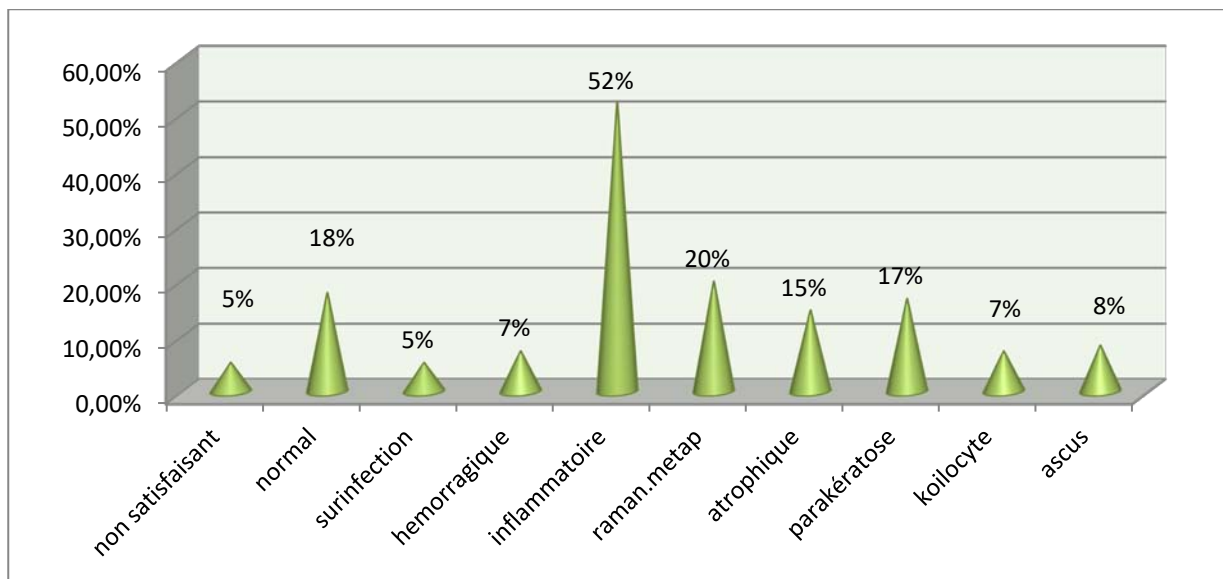


Figure 58: Répartition des lésions dans l'échantillon

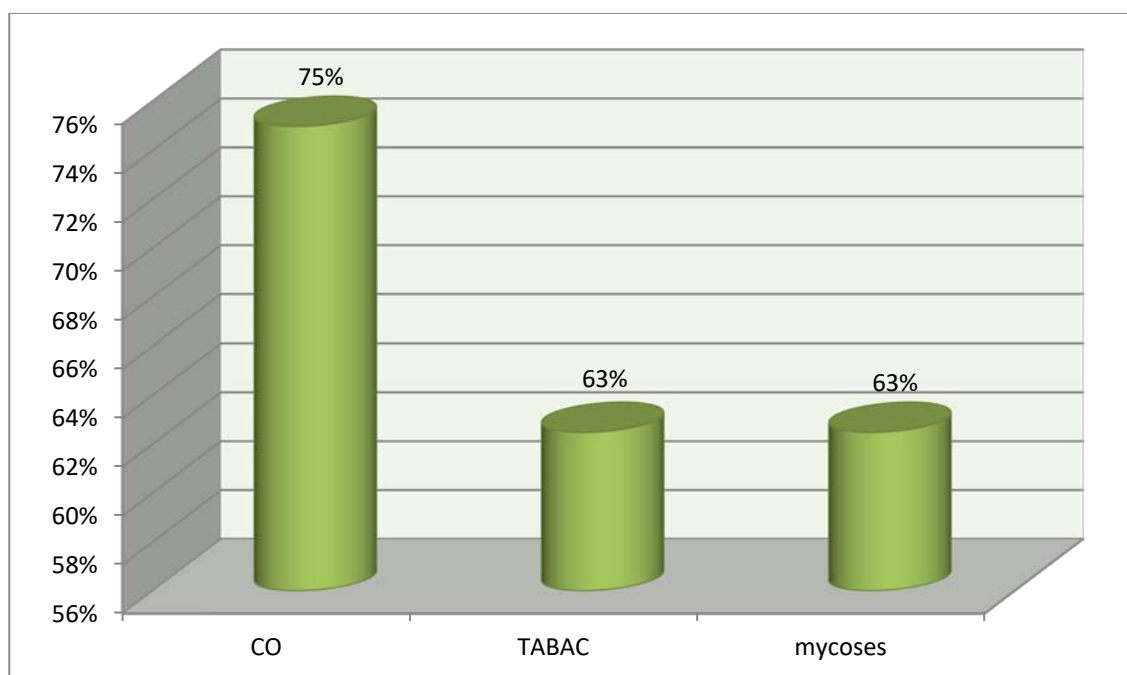


Figure 59: Fréquence des FDR pour les frottis présentant des ASCUS

III. Résultats du typage :

1. Résultat global :

Sur tout l'échantillon, seulement 13 FCV ont un test HPV positif, 4 FCV ont un test blanc (quantité du matériel exploré est insuffisante/ non détectable), le reste ont un test HPV négatif.

Tableau XIII / Figure 60

Tableau XIII: Répartition des résultats du typage

	Positif	Négatif	Blanc	Total
HPV	13	79	4	96
	14%	82%	4%	100%

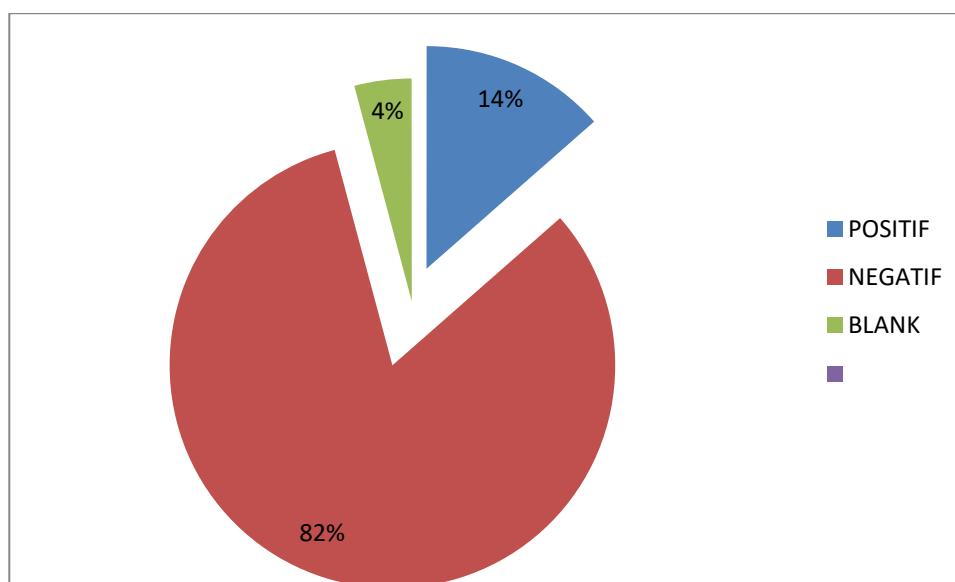


Figure 60: Répartition des résultats du typage

2. Répartition du papillomavirus humain selon le génotype:

Parmi les 13 HPV positifs, 8 sont des HPV à haut risque, il s'agit du génotype 52, 73, 18, 45, 31, 68, avec une prédominance du HPV 52 qui a été détecté 3 fois.

3 des HPV positifs sont des HPV à bas risque, il s'agit de l'HPV 70, 11, et 42.

Les 2 restants sont des HPV de génotype non déterminé (génotype autre que les 36 détectés par HybriSpot 12 utilisé dans cette étude). (tableau XIV / figure 61 et 62)

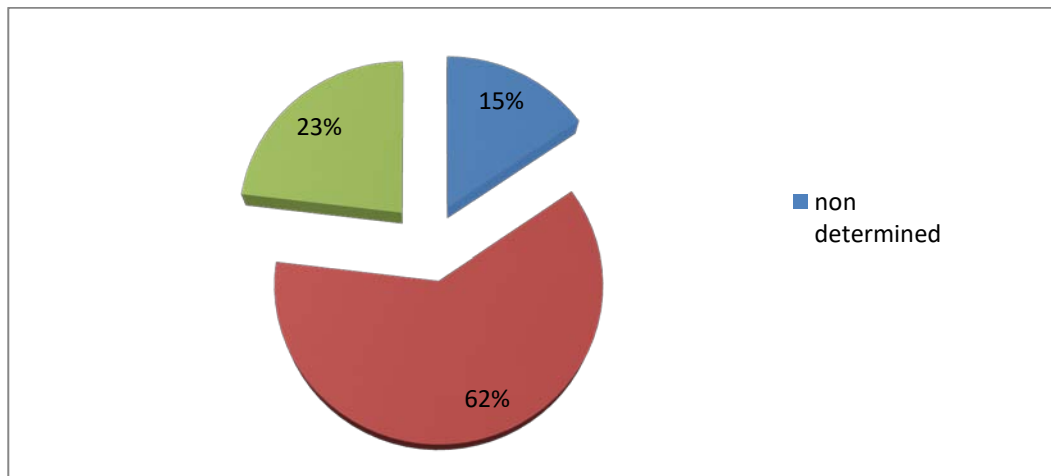


Figure 61: Répartition des HPV positif

Tableau XIV: Les différents génotypes détectés

Génotype HPV	HPV haut risque	HPV 52	3	23%
		HPV 73	1	8%
		HPV 18	1	8%
		HPV 45	1	8%
		HPV 31	1	8%
		HPV 68	1	8%
	HPV bas risque	HPV 70	1	8%
		HPV 11	1	8%
		HPV 42	1	8%
	Non déterminé		2	15%

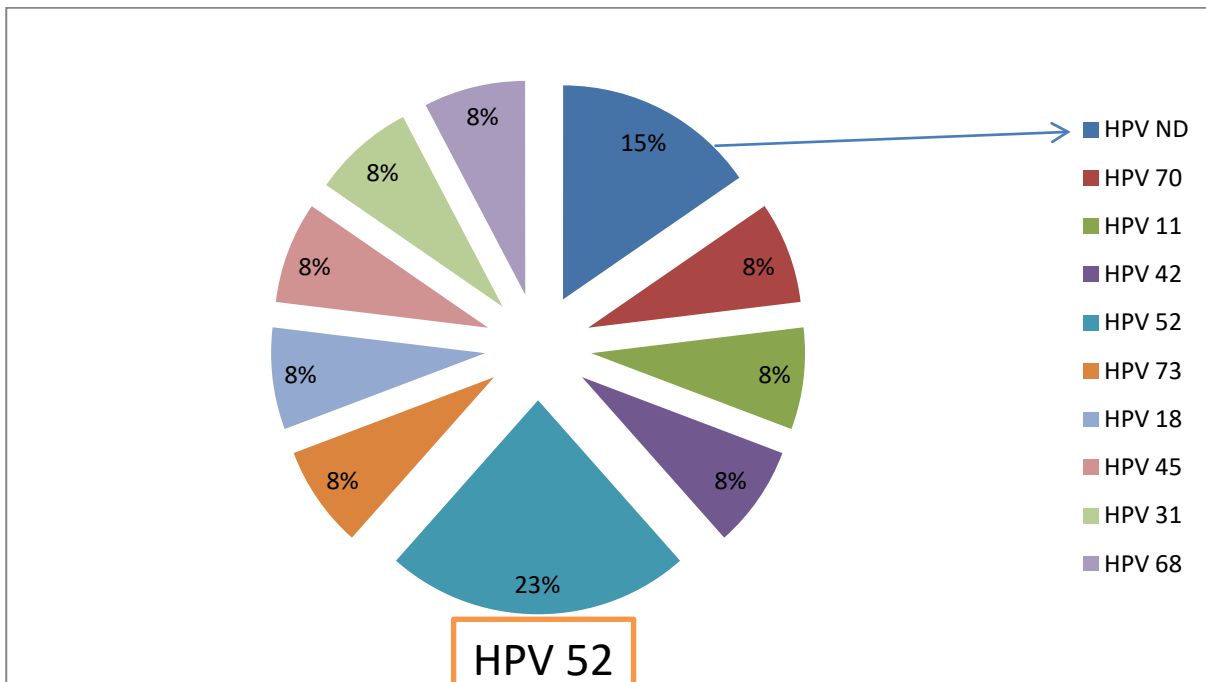


Figure 62: Répartition des différents génotypes détectés de HPV

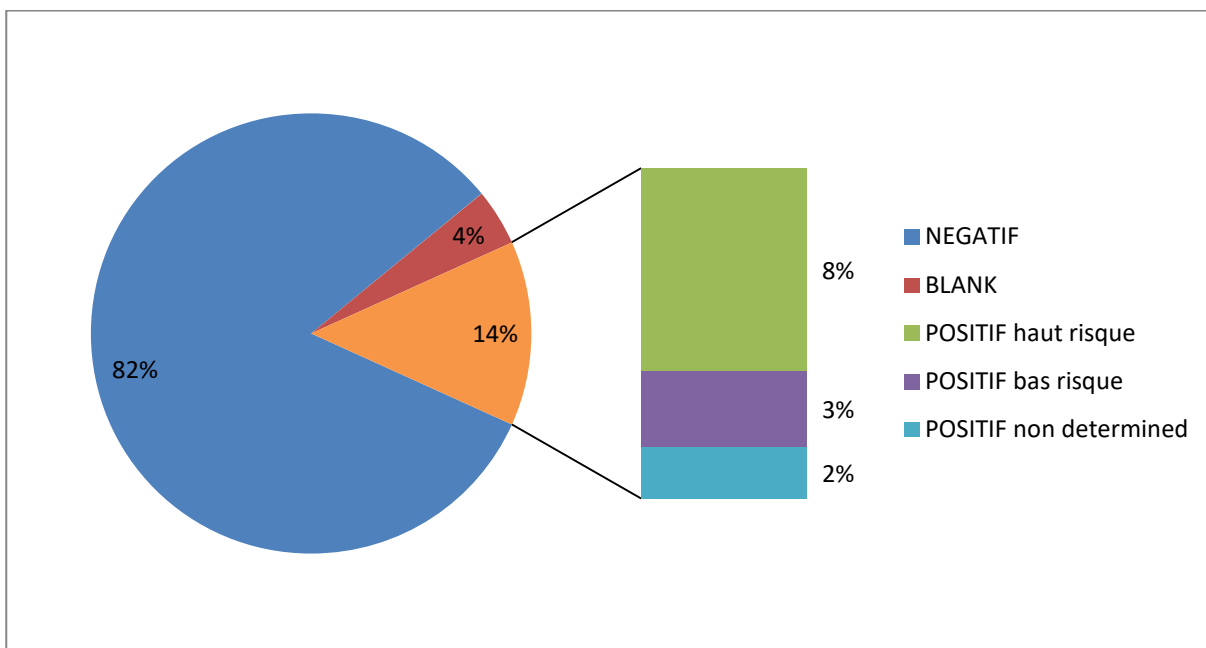


Figure 63: Figure récapitulative de la répartition des résultats de test HPV

Tableau XV: Tableau récapitulatif des résultats du génotypage

	HPV négatif	Blanc	HPV Positif		
			Haut risque	Bas risque	Non déterminé
HPV	79	4	8	3	2
	82%	4%	8%	3%	2%

3. Répartition des résultats par tranche d'âge :

Le HPV haut risque est plus fréquent chez les femmes dont l'âge est supérieur à 45ans, alors que le HPV bas risque est plus fréquent chez les femmes dont l'âge est inférieur à 37ans.

Tableau XVI/ Figure 64

Tableau XVI : Répartition des HPV par Tranche d'Age

Age	<37Ans	>45Ans
HPV Haut risque	3 (23%)	5 (38%)
HPV Bas risque	2 (15%)	1 (8%)
HPV Non déterminé	2 (15%)	0 (0%)

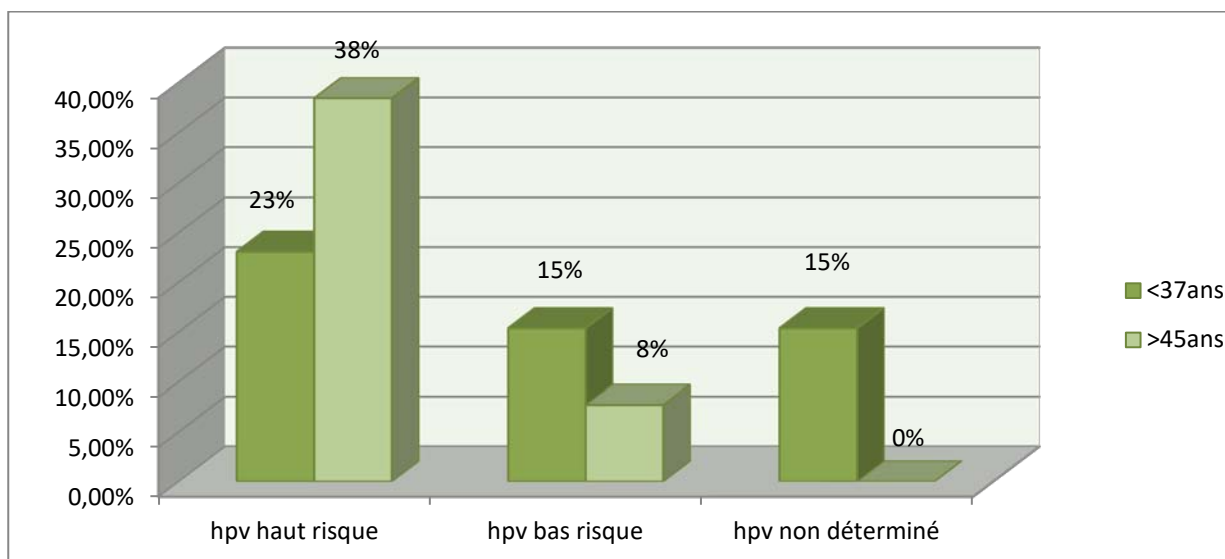


Figure 64: Répartition des HPV par tranche d'âge

4. Résultats selon la présence des facteurs de risque:

Les facteurs de risque étudiés sont : la contraception orale, le tabac, et la présence d'infection mycosique.

On note une large utilisation de la CO parmi les patientes HPV positif, alors que seulement le tiers qui sont exposées à la fumée du tabac, de même, seulement le tiers des patientes qui présentaient des symptômes d'infection mycosique au moment du prélèvement.

Tableau XVII / Figure 65

Tableau XVII: Présence de facteurs de risque pour les patientes HPV positifs

FDR	CO	Tabac	Mycoses
HPV Positif	11 (85%)	4 (31%)	5 (38%)

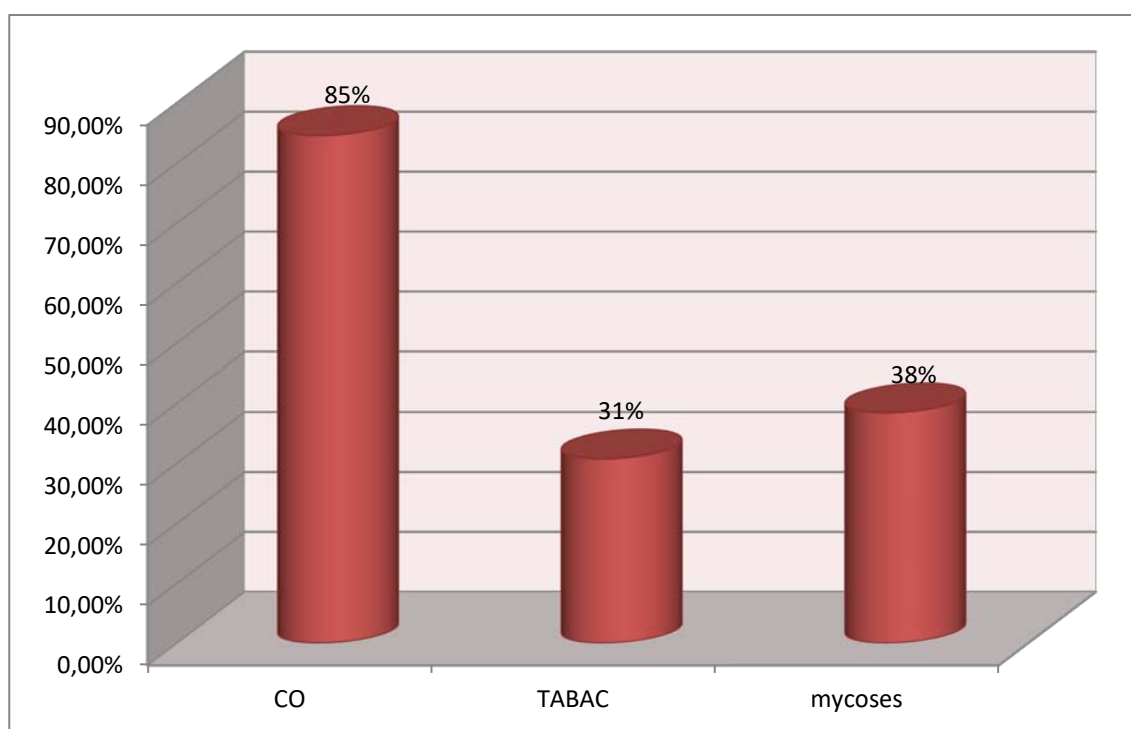


Figure 65: Présence de facteurs de risque pour les patientes HPV positifs

5. Cytologie des frottis HPV positif:

Les frottis inflammatoires et parakératosiques présentent plus que la moitié des frottis avec un test HPV positif.

Trente-huit pour cent des frottis présentent des stigmates d'infection HPV (présence de koilocytes).

Aucun frotti normal n'a été noté chez les patientes HPV positif. (figure66)

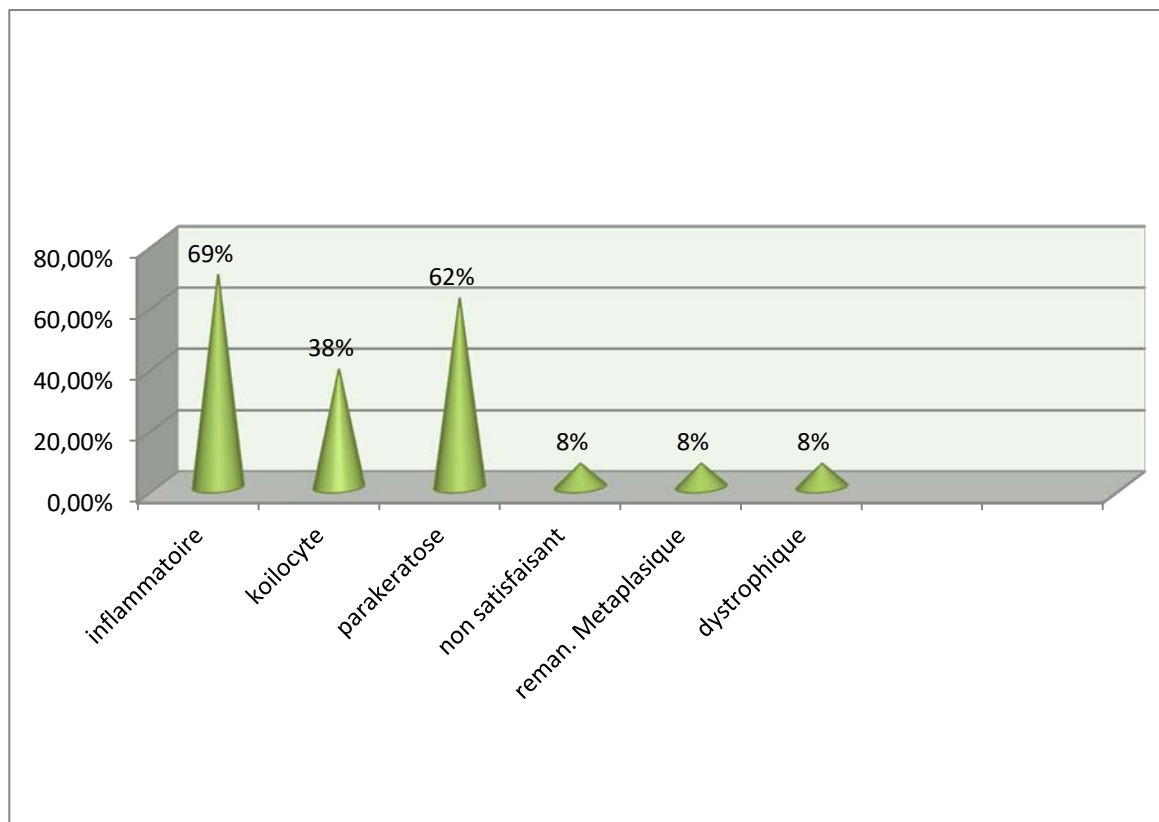


Figure 66: Cytologie des frottis HPV positif



DISCUSSION



I. Caractéristiques de la population étudiée:

1. Age :

Dans notre étude, l'âge des femmes était entre 25 et 65 ans. L'âge moyen était de 42 ans. La tranche d'âge entre 25 et 44 ans est la plus représentée avec 56% de la population étudiée. Cinquante quatre pour cent des patientes HPV positif avaient moins de 37 ans ce qui rejoint les résultats d'autres études. (Tableau XVIII)

Dans l'étude de Monia Ardhaoui et al, l'âge des femmes variait entre 18 et 65 ans. La fréquence de l'infection au HPV était plus élevée chez les femmes âgées de moins de 30 ans. (32)

Dans l'étude de Y.T. Nejo et al l'âge des femmes variait entre 23 et 77 ans avec un âge moyen de $42,5 \pm 11,5$ ans. Le taux d'infection au HPV était plus élevé chez les femmes âgées de moins de 25 ans (33). Ces résultats concordent avec les résultats d'autres études réalisées au Nigéria (Akarolo–Anthony et al. 2014 (34); Kennedy et al. 2016 (35)), en France (C.H. Bretagne et al 2018 (4)), et en Chine (Feiyan Xiang et al 2018 (7)).

Tableau XVIII: Infection à papillomavirus et âge

Etude	Pays/ Ville	Tranche d'Age/ Age Moyen	HPV +
Notre étude	Marrakech/Maroc	25–65 ans	<37 ans
Y.T. NEJO et al	Nigeria	23–77ans	<25 ans
C.H. Bretange et al	France	23 ans +_ 3,3	<25 ans
Feiyan Xiang et al	Chine/ Wuhane	16–83 ans	<25ans
Monia Ardhaoui et al	Tunisie	18–65 ans	<30 ans

Le taux d'infection élevé chez les jeunes femmes coïncide avec le début de l'activité sexuelle. Certains mécanismes biologiques tels que l'immaturité cervicale, la production inadéquate de mucus cervical protecteur et l'augmentation de l'ectopie cervicale chez les jeunes femmes pourraient les rendre plus susceptibles à l'infection par le HPV. (33)

2. Niveau socio économique :

Dans notre étude 73% des femmes sont de bas niveau socio-économique, pourtant l'infection au HPV était plus fréquente chez les patientes de moyen niveau socio économique.

(Tableau XIX)

Pour **Y.T. Nejo et al**, le taux d'infection par le HPV était plus élevé chez les femmes de bas niveau socio-économique, ce qui rejoint les résultats de Kennedy et al et Monia Ardhaoui et al. (32, 33, 35)

D'autres études n'ont toutefois trouvé aucune association entre l'infection par le HPV et le niveau socio-économique. (Baloch et al 2016 (36)).

Tableau XIX: Infection à papillomavirus et statuts social

Étude	% Positivité du HPV dans différentes catégories															
Notre étude	Niveau socio-économique bas : sans emploi, analphabète 10% Niveau socio-économique moyen: employé, niveau intellectuel 23%															
Y.T. Nejo et al (Nigeria)	<table style="border: none;"> <tr> <td>Sans emploi 39%</td> <td rowspan="2">}</td> <td rowspan="2">p : 0,023</td> </tr> <tr> <td>Employé 17%</td> </tr> <tr> <td>Alphabètes 39%</td> <td rowspan="4">}</td> <td rowspan="4">p : 0,003</td> </tr> <tr> <td>Primaire 24%</td> </tr> <tr> <td>Secondaire 26%</td> </tr> <tr> <td>Universitaire 12%</td> </tr> <tr> <td>Faible revenu 29%</td> <td rowspan="3">}</td> <td rowspan="3">p : 0,018</td> </tr> <tr> <td>Revenu moyen 15%</td> </tr> <tr> <td>Haut revenu 15%</td> </tr> </table>	Sans emploi 39%	}	p : 0,023	Employé 17%	Alphabètes 39%	}	p : 0,003	Primaire 24%	Secondaire 26%	Universitaire 12%	Faible revenu 29%	}	p : 0,018	Revenu moyen 15%	Haut revenu 15%
Sans emploi 39%	}	p : 0,023														
Employé 17%																
Alphabètes 39%	}	p : 0,003														
Primaire 24%																
Secondaire 26%																
Universitaire 12%																
Faible revenu 29%	}	p : 0,018														
Revenu moyen 15%																
Haut revenu 15%																
Kennedy et al (Nigeria)	<table style="border: none;"> <tr> <td>Alphabètes 25%</td> <td rowspan="7">}</td> <td rowspan="7">p : 0,08</td> </tr> <tr> <td>Primaire 50%</td> </tr> <tr> <td>Secondaire 13%</td> </tr> <tr> <td>Universitaire 13%</td> </tr> <tr> <td>Femmes aux foyer 38%</td> </tr> <tr> <td>Inqualifiés 50%</td> </tr> <tr> <td>Professionnels 13%</td> </tr> </table>	Alphabètes 25%	}	p : 0,08	Primaire 50%	Secondaire 13%	Universitaire 13%	Femmes aux foyer 38%	Inqualifiés 50%	Professionnels 13%						
Alphabètes 25%	}	p : 0,08														
Primaire 50%																
Secondaire 13%																
Universitaire 13%																
Femmes aux foyer 38%																
Inqualifiés 50%																
Professionnels 13%																
Monia Arhdaoui et al	<table style="border: none;"> <tr> <td>Alphabètes 13%</td> </tr> <tr> <td>Primaire 17%</td> </tr> <tr> <td>Secondaire et universitaire 9%</td> </tr> <tr> <td>Sans emploi 53%</td> </tr> <tr> <td>Employés 47%</td> </tr> </table>	Alphabètes 13%	Primaire 17%	Secondaire et universitaire 9%	Sans emploi 53%	Employés 47%										
Alphabètes 13%																
Primaire 17%																
Secondaire et universitaire 9%																
Sans emploi 53%																
Employés 47%																
Baloch et al (Chine)	<table style="border: none;"> <tr> <td>Employés 13%</td> </tr> <tr> <td>Sans emploi 11%</td> </tr> </table>	Employés 13%	Sans emploi 11%													
Employés 13%																
Sans emploi 11%																

Le manque d'éducation et la pauvreté ont été associés à des pratiques sexuelles à haut risque et à une mauvaise attitude de recherche de santé à l'origine de l'augmentation des IST comme le HPV. (33)

3. Papillomavirus et contraception orale : tableau XX

Parmi les femmes HPV positif la majeure partie est sous contraception orale, soit 85% ce qui suggère son implication dans la persistance de l'infection par le HPV. Cette constatation a été approuvée par une étude australienne qui suggère que l'utilisation de contraceptifs hormonaux favorise la persistance des infections au HPV oncogènes pouvant conduire à une progression au cancer du col utérin mais n'augmente pas le risque de nouvelles infections au HPV. Cette étude indique également que ces risques liés aux contraceptifs oraux sont généralement réversibles, avec un retour à des niveaux de risque similaires à ceux des femmes qui n'ont jamais pris de CO. (37)

Par contre, selon **Monia Arhdaoui** et al, et Traore et al il n'y a aucune association significative entre l'infection par le HPV et l'utilisation des contraceptifs oraux. (32, 38)

Tableau XX: Contraception orale et infection à papillomavirus humain

Etude	Contraception Orale Utilisé	Pas de Contraception Orale
Notre étude	85%	15%
Monia Arhdaoui et al	31%	69%
Traore et al	2%	98%

4. Parité :

Dans notre étude, il n'y a pas de différence significative par rapport au nombre d'enfant, cinquante quatre pour cent des femmes avec un test HPV positif ont 3 enfants ou plus, ce qui rejoint les résultats de **Y.T. Nejo** et al. (33)

Par contre Kennedy et al. (2016) et Traore et al ont constaté que le risque d'infection au HPV était environ deux fois plus élevé chez les femmes ayant une parité plus élevée (3) (35, 38)

Tableau XXI: Infection à papillomavirus et parité

Etude	% HPV par rapport aux nombre d'enfants	
Notre étude	<2 enfants	46%
	>3 enfants	54%
Nejo et al	Nullipare	16%
	1 enfant	28%
	2 enfants	20%
	>3 enfants	18%
Kennedy et al	Nullipare	0%
	<2 enfants	13%
	3-4 enfants	25%
	>5 enfants	63%
Traore et al	Nullipare	7%
	Primipare	15%
	Multipare	78%

5. Tabac :

Seulement 2 patientes parmi les 100 cas étudiés sont tabagiques.

Plus de la moitié de l'échantillon n'ont pas le tabac comme FDR, seulement 31% des femmes HPV positif sont des tabagiques passives ce ci peut être expliqué par le fait que 73% des femmes sont issues d'un niveau socio-économique bas.

Pour **Y.T. Nejo** et al, l'infection au HPV était significativement associée aux fumeurs passifs (33).

Tableau XXII: Positivité du papillomavirus chez les tabagiques

Etude	Tabagisme Actif	Tabagisme Passif
Notre étude	50%	31%
Nejo et al	33%	60%

Le tabagisme influe sur l'immunité en diminuant le nombre de cellules de Langerhans présentant l'antigène dans la muqueuse génitale, ce qui pourrait favoriser l'infection et la persistance du HPV contribuant ainsi à la transformation maligne. (33) (39)

Le tabac n'a pas que l'action directe sur la persistance de l'infection au HPV, mais il semble que les tabagiques ont un profil particulier qui additionne d'autres FDR : 1^{er} rapport sexuel précoce, plusieurs partenaires sexuels. (37)

6. Papillomavirus et mycoses :

Dans notre étude, on note la présence d'infection mycosique chez 38% des patientes HPV positif et chez 40% des patientes HPV négatif, ce qui rejoint les résultats de l'étude de Pablo Romero–Morelos et al qui suggèrent que la présence des mycoses est totalement indépendante de l'infection au HPV. (40).

Pour l'étude de Nejo et al, ils estiment que, bien que le taux d'infection par le HPV était relativement plus élevé chez les femmes présentant des mycoses que chez celles qui n'en présentaient pas, la différence n'était pas statistiquement significative(33)

Tableau XXIII: Répartition d'infection mycosique

Etude	HPV Positif	HPV Négatif
Notre étude	38%	40%
Pablo Romero–Morelos and all (Mexico)	80 %	80%
Y.T. Nejo et al (Nigeria)	45%	40%

7. Dépistage :

Les femmes n'ayant jamais été dépistées pour un cancer du col utérin avaient une plus grande prépondérance d'infection par le HPV. Dans notre étude 62% des femmes avec un test HPV positif n'ont jamais bénéficié d'un test de dépistage, ce qui rejoint les résultats de l'étude de Y.T. Nejo et al. (33)

Tableau XXIV: Dépistage et infection à papillomavirus

Etude	FCV	Jamais fait	Fait
Notre étude		62%	38%
Y.T. Nejo et al		85%	14%

L'infection au HPV favorise une série d'altérations cytoplasmiques et nucléaires observables par cytologie : la koilocytose et la dyskératose en sont pathognomoniques. La présence d'anomalies telle que ASCUS ou ASCH représentent la limitation de la cytologie en tant que méthode de dépistage, les résultats négatifs du test HPV garantissent pratiquement que ces atypies sont bénignes.

Dans une étude brésilienne, la comparaison des résultats cytologiques avec les résultats du test HR-HPV n'a donné aucune différence statistiquement significative. Cette étude suggère également que les dépistages utilisant un test HR-HPV sans test de Papanicolaou peuvent entraîner des colposcopies inutiles. (41)

La discordance entre les résultats de la cytologie et le typage viral HPV peut être expliqué par :

- La lecture des FCV est opérateur dépendante
- Le respect de la phase pré-analytique (délai entre le FCV et la réalisation de la technique cytologique)
- Le typage peut mettre en évidence l'infection au HPV mais il ne peut pas mettre en évidence les lésions de haut grade notamment les HSIL tout en sachant que plus la carcinogénèse évolue plus le taux du HPV réduit.

L'amélioration du dépistage du cancer du col passe par une amélioration des pratiques de la part de tous les professionnels de santé et la responsabilisation des femmes, la

mobilisation des médecins spécialistes et généralistes ainsi que la motivation des femmes à se faire dépister en sont un versant important. Mais, même si la généralisation de dépistage par FCV augmente, il n'est pas garanti que le nombre de femmes atteintes d'un cancer du col diminue, on arrive ainsi aux limites des performances du dépistage par cytologie, la généralisation de la mise en place d'un dépistage par détection des HPV HR sur FCV pourrait contribuer à changer les données.

II. Les caractéristiques de l'infection à papillomavirus:

Sur les 96 échantillons étudiés, 13 étaient positifs au HPV (14%) dont 64% sont à haut risque. Ces résultats rejoignent ceux d'autres études. (Voir tableau XXV)

Au Honduras, des prélèvements cervicaux de 111 femmes ont été étudiés, vingt sept échantillons positifs au HR-HPV et 18 échantillons positifs au BR-HPV ont été identifiés. Au total 35% de l'échantillon étudié avait au moins une infection au HPV et 64% étaient négatifs à la fois pour HR-HPV et BR-HPV. (42)

En Chine, Feiyan Xiang et al ont réalisé une étude qui a intéressé 13 775 femmes sur une période de 2 ans pour étudier les caractéristiques de distribution des différents génotypes du HPV chez les femmes à Wuhan. 2436 femmes étaient porteuses du HPV (soit un taux d'infection totale de 18%). Le taux d'infection à HR-HPV était significativement plus élevé que celui des infections à BR-HPV. (7)

Aux USA, en 2013-2014, la prévalence du HPV génital chez les femmes était de 40%, avec prédominance de l'infection HR-HPV qui représentait 51%. (43)

En Tunisie, Monia Arhdaoui et al ont mené une étude transversale qui a intéressé 391 cas, la prévalence globale du HPV était de 13% avec prédominance du HPV BR représentant 49%. (32).

Tableau XXV: Fréquence des infections à papillomavirus humain

Etude	Pays /Ville	HPV +	HPV HR
Notre étude	Maroc/ Marrakech	14%	62%
Feiyan Xiang et al	Chine / Wuhan	18%	79%
Aaron Atkinson et al	Honduras	35%	62%
Geraldine McQuillan et al	USA	40%	51%
Monia Arhdaoui et al	Tunisie	13%	23%

L'infection à HPV HR est la plus prépondérante soit pour les études établies sur la population générale (notre étude, l'étude de Feiyan Xiang et al (7), l'étude de Aaron Atkinson et al (42)) comme pour les études établis sur populations à risque (l'étude de D. Tasic et al : femmes avec lésions cytologiques (44)), ou vaccinées (l'étude de C.H.Bretagne et al (4)) (voir tableau XXVI). Ceci est expliqué par le pouvoir d'échappement des HPV HR à la réponse immunitaire et de persistance dans les cellules cervicales sans être détectés grâce aux propriétés de la protéine E5 qui induit une diminution de l'expression des protéines virales à la surface des cellules infectées.

Tableau XXVI: Répartition des infections à Papillomavirus haut risque et bas risque dans différentes études

Etude	Pays / ville	HPV haut risque	HPV bas risque
Notre étude	Maroc / Marrakech	62%	23%
Aaron Atkinson	Honduras	62%	38%
Feiyan Xiang	Chine / Wuhan	79%	21%
C.H Bretagne	France	52%	48%
D. Tasic	Serbie	80%	20%

Dans notre étude, l'infection au HPV bas risque est plus fréquente chez les patientes dont l'âge est <37ans, alors que l'infection à HPV HR est plus fréquente chez les patientes dont l'âge est >45 ans, ceci peut être expliqué par le pouvoir des HPV HR à persister dans l'épithélium cervical. Ces résultats rejoignent celles de l'étude de Daniel Boda et al (45) et contrastent avec les résultats de Feiyan xiang et al (7). (Voir tableau XXVII)

Ceci renforce la théorie de la répartition géographique de l'infection HPV : chaque région à sa propre répartition.

Tableau XXVII: Fréquence de l'infection à papillomavirus bas risque par rapport à l'âge

Etude	Pays / ville	% HPV bas risque	Age
Notre étude	Maroc/ Marrakech	23%	<37 ans
Daniel Boda	Romanie / Bucarest	15%	<35 ans
Feiyan xiang	Chine / Wuhan	21%	> 56 ans

Dans notre étude, l'infection au HPV est unique, un seul type du HPV est détecté, ce qui concorde avec les résultats de plusieurs études où l'infection unique est plus fréquente, cela est expliquer par le fait que l'infection au HPV joue un rôle protecteur contre une nouvelle infection en provoquant une inflammation locale et donc une immunité active localement. (Voir tableau XXVIII).

Dans l'étude de Pablo Romero–Morelos et al, l'infection à plusieurs génotypes du HPV est plus fréquente, selon les auteurs, dans les échantillons sans altération apparente HPV positif, seulement 10% avaient des infections multiples, tandis que pour les échantillons dysplasiques, il a été constaté que 53% contenaient plusieurs infections au HPV. (40)

Tableau XXVIII: Fréquence des infections uniques et multiples dans les différentes études (4,7, 40,42,45)

Etude	Pays / Ville	Infection Unique	Infection Multiple
Notre étude	Maroc/Marrakech	85%	0%
Feiyan Xiang et al	Chine / Wuhan	76%	25%
Pablo Romero–Morelos et al	Mexico	37%	63%
Daniel Boda et al	Romanie/Bucarest	55%	13%
Aaron Atkinson et al	Honduras	95%	5%
C.H Bretagne et al	France	72%	28%

La particularité des résultats de notre étude c'est qu'aucun frottis ne présentait des lésions de malignité.

Même si 52% des frottis sont inflammatoires, la corrélation entre les résultats de la cytologie et de l'étude moléculaire est bien établie. En fait 17% de la totalité des frottis présentaient des lésions de parakératose (14% étant le taux de positivité du HPV) ce qui représentent 62% des frottis HPV positifs, ceci rejoint les résultats de l'étude turque réalisée sur 22 076 frottis et qui a montré qu'un résultat positif du test HPV a été observé plus fréquemment dans les cas de parakératose que dans les cas sans parakératose ($P < 0,001$). (46)

Les cellules malpighiennes atypiques (ASC) sont un terme cytologique créé pour décrire une histologie douteuse et anormale, généralement révélateur d'une inflammation, de modifications réactives et réparatrices ou d'une lésion précancéreuse provoquée par une infection persistante au HPV (47]. Dans notre série ASCUS représentait 8% des frottis et il n'était pas associé aux koilocytes ni à la positivité du test HPV, en revanche il y avait une fréquence élevée des FDR pour les frottis avec ASCUS.

Dans une étude brésilienne transversale ayant évalué 1 346 cytologies en milieu liquide puis les a comparés aux résultats du test HR-HPV, une koilocytose a été retrouvée dans 15% des patients, le HPV HR était positif chez 54% des patientes avec ASCUS. (41)

Dans d'autres études, la présence de lésions cytologiques est toujours associée à un pourcentage de positivité du test HPV. (Voir tableau XXIX)

Tableau XXIX: Répartition de l'infection HPV par rapport aux ASCUS (1, 4, 41)

Etude	Pays / Ville	Lésion Cytologique	% Lésion dans l'échantillon	% HPV +
Notre étude	Maroc/Marrakech	ASCUS	8%	0%
C.H Bretagne	France	ASCUS	47%	58%
Irena Aleksioika	Macédoine	ASCUS	16%	24%
Geilson Gomes de Oliveira	Brésil	ASCUS	89%	54%

Le dépistage du papillomavirus dans la région de Marrakech

L'HPV 52 est le plus fréquent dans notre étude comme dans plusieurs autres études effectuées sur des populations différentes sur le plan géographique et sociodémographique, c'est pour cela qu'il fait parti des 9 HPV contre lesquels on vaccine. Tableau XXX.

Cette répartition mondiale du HPV 52 peut être expliquée par sa capacité à se soutenir en tant qu'infection endémique. (1)

Tableau XXX : Géotypes les plus fréquents dans différentes études (4, 5, 6, 42)

Etude	Pays / Ville	HPV le plus fréquent	%	Caractéristique de l'étude
Notre étude	Maroc/Marrakech	HPV 52	23%	Patientes asymptomatiques non vaccinées
C.H Bretagne	France	HPV 51 HPV 52	16% 10%	Patientes vaccinées contre HPV 16 et 18, présence de lésions cytologiques
Feiyan Xiang	Chine / Wuhane	HPV 52	4%	Patientes asymptomatiques non vaccinées
Aaron Atkinson	Handouras	HPV 52	29%	Patientes asymptomatiques non vaccinées
Ke Zhang	Chine / Tangshan	HPV 52	25%	Patientes symptomatiques non vaccinées
Monia Arhdaoui	Tunisie	HPV 6 HPV 52	40% 9%	Patientes asymptomatiques non vaccinées

➤ **Les limites de l'étude :**

La taille réduite de l'échantillon limite la généralisation des données.

La fréquence des frottis inflammatoires (62%) peut masquer certaines lésions cytologiques en rapport avec l'infection HPV.

- **Recommandations** : A la lumière de nos résultats, on peut tirer quelques recommandations :
- La sensibilisation de la population contre l'infection au HPV dans la genèse du cancer du col de l'utérus.
 - L'implication de tous les professionnels de santé dans le processus de sensibilisation.
 - La formation des futurs médecins de famille, ceux des centres de santé ainsi que le personnel paramédical sur la réalisation du frottis cervico-vaginal.
 - L'instauration d'un dépistage systématique par frottis cervico-vaginal chaque 03 ans chez toutes les femmes de 25 à 65 ans.
 - L'introduction d'un vaccin anti-HPV adapté aux génotypes circulants au Maroc à l'issue d'une étude plus élargie chez les femmes saines ainsi que celles ayant développée un cancer du col de l'utérus



CONCLUSION



*L*es infections par le papillomavirus humain (HPV) sont reconnues comme parmi les plus fréquentes des infections sexuellement transmissibles. Tandis que la plupart des infections à HPV sont inapparentes et transitoires, une infection génitale persistante par certains génotypes viraux peut conduire au développement du cancer du col de l'utérus. Ce cancer est, en fréquence, le deuxième cancer de la femme et représente donc une préoccupation actuelle de santé publique.

*L*e cancer du col de l'utérus est précédé par l'apparition de lésions précancéreuses qui se développent suite à la persistance de l'infection génitale par le HPV. Il faut généralement entre 10 à 20 ans pour que les lésions précancéreuses évoluent en cancer invasif ce qui fait du cancer du col une maladie relativement facile à prévenir et justifie donc son dépistage.

*N*otre étude prospective analytique, illustre une fréquence du papillomavirus estimée à 14% chez des patientes asymptomatiques où le génotype 52 est prédominant représentant 23%. Les résultats rejoignent ceux d'autres études même si la taille réduite de l'échantillon empêche toute corrélation statistiquement significative. En revanche, elle constituera la base d'une étude plus élargie sur le plan national pour réaliser une carte de répartition du HPV à l'échelle du royaume du Maroc, permettant ainsi l'introduction ultérieure d'un vaccin anti-HPV adapté aux génotypes circulants.



ANNEXES



Annexe 1 :

Fiche d'exploitation

1. identité :

Nom :

Age :

Résidence :

Téléphone : Niveau socioéconomique :

Rammed :

Mutuelle :

2. ATCDS :

Ménarche :

Activité sexuelle : début : Nombre de partenaire :

Parité :

Type de contraception:

DDR :

ATCDS néoplasiques :

Infection génitale : mycoses..... IST

Tabac :

Immunosuppression : Corticothérapie :

Dernier test de dépistage du cancer du col:

Médicaments :

3. ATCDS familiaux : cancer de col : autres :

4. Examen clinique du col utérin :

5. Résultats de la cytologie :

6. Résultats du génotypage :

Annexe 2 :

Dépistage du papillomavirus humain dans la région de MARRAKECH

Note d'information et consentement des patientes

Nom et prénom de la patiente :

N° dossier :

Madame,

Objectif de l'étude

Vous êtes invités à participer à une étude épidémiomoléculaire et cytologique des FCV. Le but de cette étude est de corrélérer la présence d'atypies cellulaires au génotype en portage au niveau du col utérin, et d'évaluer l'efficacité de la vaccination contre l'HPV pour prévenir le cancer du col.

Déroulement de l'étude

Dans le cadre de cette étude, un frottis cervico-vaginal sera fait. Il sera traité et analysé et permettra d'identifier les génotypes d'HPV en portage au niveau du col ainsi que la présence d'atypies cellulaires. Bien entendu votre participation à cette étude n'entraînera pour vous aucun frais supplémentaire, le coût du prélèvement et son analyse sont à la charge du promoteur de l'étude.

Vous avez l'entière liberté d'accepter ou de refuser la participation à cette étude.

Paraphe investigateur

Paraphe patiente

Les données personnelles recueillies au cours de cette étude pourront être transmises dans le respect du secret professionnel au représentant du promoteur de l'étude et des autorités de santé dans un but de contrôle de conformité.

A cette fin, les données médicales vous concernant seront transmises au promoteur de la recherche ou aux personnes ou sociétés agissant pour son compte. Ces données seront identifiées par un numéro de code et/ou vos initiales.

Je déclare avoir été informés par le docteur.....de la nature et du déroulement de cette étude, avoir eu la possibilité de poser toutes les questions s'y rapportant. Je suis absolument libre de refuser ma participation. J'accepte de participer à l'étude dans les conditions décrites ci-dessus.

Nom de la patiente:

Signature :.....Date :.....

Signature et tampon de l'investigateur :

Date



RESUMES



Résumé

La prévalence de l'infection cervicale par le papillomavirus humain (HPV) chez les femmes varie grandement dans le monde entier, elle est étroitement liée au risque du cancer du col de l'utérus. La détection du papillomavirus humain à haut risque est devenue de plus en plus attrayant en tant qu'outil primaire de dépistage, en raison de sa sensibilité et de sa rentabilité.

Dans ce travail, nous rapportons les résultats cytologiques et moléculaires de 96 frottis cervico-vaginaux réalisés au sein du service de Gynécologie du CHU Med VI, l'étude moléculaire est réalisée au sein du service de Microbiologie-Virologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech complétée par une étude cytologique réalisée au sein du service d'Anatomopathologie de l'Hôpital Arrazi du CHU Med VI.

Le but de cette étude prospective analytique est de déterminer les génotypes circulants du papillomavirus dans la région de Marrakech chez les femmes âgées de 25 ans à 65 ans.

La fréquence du papillomavirus est estimée à 14%, avec prédominance du HPV 52 représentant 23%, le papillomavirus est plus fréquent chez les femmes dont l'âge est < 37 ans, cependant on note une prédominance du papillomavirus haut risque chez les femmes âgées de plus de 45ans. Cette infection est unique et non associée aux lésions cytologiques suspectes.

Même si 52% des frottis sont inflammatoires, la corrélation entre les résultats de la cytologie et de l'étude moléculaire est bien établie. En fait 17% de la totalité des frottis présentaient des lésions de parakératose (soit 62% des frottis HPV positifs).

Le facteur de risque le plus retrouvé dans cette série est la contraception orale représentant 85% des patientes HPV positif, trente et un pour cent sont des fumeuses passives et 38% ont une infection mycosique associée.

Les deux tiers des participantes n'ont jamais fait de test de dépistage, et la plupart d'entre elles n'ont pas de connaissance à propos du papillomavirus humain et son implication dans la genèse du cancer du col de l'utérus.

En conclusion, les résultats préliminaires obtenus peuvent être élargies sur le plan national pour déterminer les géotypes les plus fréquents au Maroc. Cette étude incite à mettre le point sur la vaccination anti HPV et la sensibilisation sur l'infection à papillomavirus humain.

Abstract

The prevalence of cervical infection by human papillomavirus (HPV) in women varies widely around the world and is closely related to the risk of cervical cancer. The detection of high-risk human papillomavirus has become increasingly attractive as a primary screening tool because of its sensitivity and cost-effectiveness.

In this work, we report the cytological and molecular results of 96 cervico-vaginal smears performed in the Genecology Department of the Med VI university hospital center, the molecular study is carried out within the Microbiology-Virology department of the Avicenne Military Hospital. Marrakech supplemented by a cytological study carried out within the Department of Pathology of the Arrazi Hospital of Med VI university hospital center.

The purpose of this prospective, analytical study is to determine circulating genotypes of papillomavirus in the Marrakech region among women aged 25 to 65 years.

The prevalence of papillomavirus is estimated at 14%, highly represented by HPV 52 accounting for 23%, papillomavirus is more common in women <37 years, however, the prevalence of high-risk papillomavirus is over 45 years old. This infection is unique and not associated with suspicious cytologic lesions.

Although 52% of smears are inflammatory, the correlation between the results of cytology and the molecular study is well established. In fact, 17% of all smears had parakeratosis lesions (62% of positive HPV smears).

The most common risk factor in this series is oral contraception accounting for 85% of HPV positive patients, thirty one percent are passive smokers and 38% have associated mycotic infection.

Two-thirds of the participants have never been screened, and most of them have no knowledge about human papillomavirus and its involvement in the genesis of cervical cancer.

In conclusion, the preliminary results obtained can be broadened at the national level to determine the most frequent genotypes in Morocco. This study incites us to update HPV vaccination and humain papillomavirus infection awareness.

ملخص

يختلف انتشار فيروس الورم الحليمي البشري (HPV) عند النساء على نطاق واسع حول العالم، ويرتبط ارتباطا وثيقا بخطر الإصابة بسرطان عنق الرحم. أصبح الكشف عن فيروس الورم الحليمي البشري عالي الخطورة مهما بشكل متزايد كأداة فحص أولية بفضل فعاليته.

من خلال عملنا نقدم النتائج الخلوية والجزيئية لـ 96 عينة مخبرية لعنق الرحم أجريت بقسم أمراض النساء والتوليد بالمركز الاستشفائي الجامعي محمد السادس مراكش، الدراسة الجزيئية تم إجرائها بقسم البكتيريا والفيروسات بالمستشفى العسكري ابن سينا بمراكش، تبعتها دراسة خلوية بقسم التشريح المرضي بمستشفى الرازي التابع للمركز الاستشفائي الجامعي محمد السادس.

الغرض من هذه الدراسة التحليلية هو تحديد الأنماط الجينية المتداولة من فيروس الورم الحليمي البشري في منطقة مراكش عند النساء اللواتي تتراوح أعمارهن بين 25 و 65 سنة. يقدر انتشار فيروس الورم الحليمي البشري بنسبة 14%، مع هيمنة فيروس الورم الحليمي البشري 52 الذي يمثل 23%. فيروس الورم الحليمي البشري أكثر شيوعا عند النساء اللواتي أعمارهن أقل من 37 سنة، ومع ذلك فإن فيروس الورم الحليمي عالي الخطورة ينتشر بشكل أكبر عند النساء اللواتي أعمارهن أكثر من 45 سنة. هذه العدوى وحيدة ولا ترتبط بأفات خلوية مشبوهة.

على الرغم من أن 52% من العينات كانت التهايبية، فإن العلاقة بين الدراسة الخلوية والجزيئية تبقى ثابتة، لأن 17% من العينات المعالجة تظهر آفات مرضية متعلقة بفيروس الورم الحليمي البشري (ما يمثل 62% من العينات التي كانت نتيجة الفيروس فيها إيجابية).

عامل الخطورة الأكثر شيوعا في هذه الدراسة هو استعمال حبوب منع الحمل الذي ينتشر بنسبة 85% عند النساء الحاملات للفيروس. بينما يمثل التدخين السلبي 31% وعدوى الفطريات 38%.

ثلاثي المشاركات لم يسبق لهن القيام بأي فحص لعنق الرحم، كما أنهن لسن على دراية بالفيروس وبعلاقته بسرطان عنق الرحم.

في الختام، يمكن تعميم النتائج الأولية التي تم الحصول عليها على المستوى الوطني لتحديد الأنماط الجينية الأكثر شيوعا في المغرب. تحت هذه الدراسة على تحديث التطعيم ضد فيروس الورم الحليمي البشري والتوعية بخطورته.



BIBLIOGRAPHIE



1. **Irena Aleksioska–Papestiev, Vesna Chibisheva, Megi Micevska et al**
Prevalence of Specific Types of Human Papilloma Virus in Cervical Intraepithelial Lesions and Cervical Cancer in Macedonian Women
MED ARCH 2018;72:26–30

2. **Alizon S, Murall CL, Bravo IG.**
Why human papillomavirus acute infections matter.
Viruses 2017;9: 293.

3. **Steenbergen RD, Snijders PJ, Heideman DA et al.**
Clinical implications of (epi) genetic changes in HPV–induced cervical precancerous lesions.
Nat Rev Cancer 2014;14:395–405

4. **C.H. Bretagne, V. Jooste , D. Guenat et al**
Prevalence and distribution of HPV genotypes and cervical–associated lesions in sexually active young French women following HPV vaccine
J Gynecol Obstet Hum Reprod 2018; 47:525–531

5. **Ke Zhang¹, Zhanjun Liu, Ji Li Et Al**
Analysis of human papilloma virus type 52 integration status in exfoliated cervical cells
Experimental and Therapeutic Medicine 2017;14:5817–5824

6. **Sabeena S, Bhat PV, Kamath V et al**
Global human papilloma virus vaccine implementation: An update
J. Obstet. Gynaecol. Res. 2018;44:989–997

7. **Feiyan Xiang, Qing Guan, Xinwen Liu et al**
Distribution characteristics of different human papillomavirus genotypes in women in Wuhan, China
J Clin Lab Anal 2018;32:e22581

8. **Robert François**
Détection des HPV à haut risque comme alternative pour les femmes non adhérentes au dépistage cytologique du cancer du col utérin : Etude pilote sur l’acceptabilité et la faisabilité de l’auto–prélèvement vaginal et du prélèvement urinaire.
These phar 2016 ; Université de Poitiers Faculté de Médecine et de Pharmacie

9. <http://singes.win/wp-content/uploads/2018/09/papillomaes-epithelial-rhmdpicom-papilloma-infection-wikiwandrhwikiwandcom-human-hpv-virus-cell-structure-papilloma-infection-wikiwandrhwikiwandcom-frontiers-filopodia-and-es-an-analysis-of-membrane.jpg>
10. <https://disiciencia.files.wordpress.com/2012/02/papiloma.jpg?w=300>
11. https://www.researchgate.net/profile/Thales_Fernandes/publication/221922588/figure/fig1/AS:305268136136704@1449793003194/The-structure-of-HPV-Adapted-from-Swiss-Institute-of-Bioinformatics-Viral-Zone.png
12. https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRxs9Yf0X7kG7zObw8PbK8GZ7dhNv9KajWCz4-BcBNBjRXT3gy_7g
13. https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRsIPwf0uKral8nk5ZPnPf3nm0W7bSJ_EFzb36S1JPeOp07DS8I
14. Tommasino M.
The human papillomavirus family and its role in carcinogenesis.
Semin Cancer Biol 2014;26:13-21.
15. <https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcR8wRM7SYRt8B9JqqD23Ulluj77PXCibsLgr9RUgwgLk-fDpgr>
16. https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcS-j0-g58V9Swnzd5Ko6QWREWpz3s8-7C7GfgCKSyS_I-7AFGO_8w
17. https://scontent-atl3-1.cdninstagram.com/vp/57b503a633217f7a28d402b97f349218/5BF54098/t51.2885-15/e35/14027351_664200350395920_652014148_n.jpg
18. <https://ars.els-cdn.com/content/image/1-s2.0-S0090825808004939-gr1.jpg>

19. **Vaccin papillomavirus humain 9-valent, recombinant, adsorbé**
Has Commission de la Transparence Avis 13 septembre 2017
https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/evamed/CT-15867_GARDASIL_9_PIC_INS_Avis3_CT15867.pdf
20. https://openi.nlm.nih.gov/imgs/512/1/3101335/PMC3101335_gr8.png?keywords=regression,virus,immune+suppression,infection
21. **Mighty KK, Laimins LA.**
The role of human papillomaviruses in oncogenesis.
Recent Results Cancer Res 2014;193:135-48.
22. https://images.slideplayer.fr/11/3347222/slides/slide_45.jpg
23. <http://mediaserv.climatetmeteo.fr/users/ChristineMontixi/HPV/images/Figure35ProductionVLPGardasil.jpg>
24. **HAS. Haute Autorité de Santé – Cancer du col de l’utérus: une meilleure couverture vaccinale et un dépistage renforcé restent la priorité . HAS HAUTE AUTORITE SANTE.**
https://www.has-sante.fr/portail/jcms/c_2797450/fr/cancer-du-col-de-l-uterus-une-meilleure-couverture-vaccinale-et-un-depistage-renforce-restent-la-priorite [accessed 10.03.18]
25. **Riethmuller D, Jacquard A-C, Lacau St Guily J et al**
Potential impact of a nonavalent HPV vaccine on the occurrence of HPV-related diseases in France.
BMC Public Health. 2015;15:453
26. **Warner K Huh, Elmar A Joura, Anna R Giuliano et al**
Final efficacy, immunogenicity, and safety analyses of a nine-valent human papillomavirus vaccine in women aged 16-26 years: a randomised, double-blind trial
Lancet. 2017;390:2143-2159
27. **Lee L-Y, Garland SM.**
Human papillomavirus vaccination: the population impact. *F1000Research* 2017;6:866.
<http://dx.doi.org/10.12688/f1000re-search.10691.1>.

- 28. Heard I, Tondeur L, Arowas L et al.**
Effectiveness of human papillomavirus vaccination on prevalence of vaccine genotypes in young sexually active women in France.
J Infect Dis 2017;215:757–63.
<http://dx.doi.org/10.1093/infdis/jiw639>.
- 29. Tabrizi SN, Brotherton JM, Kaldor JM et al.**
Assessment of herd immunity and cross-protection after a human papillomavirus vaccination programme in Australia: a repeat cross-sectional study.
Lancet Infect Dis 2014;14:958–66.
[http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099\(14\)70841-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70841-2).
- 30. Hamsikova E, Smahelova J, Ludvikova V et al.**
The prevalence of HPV infections in HPV-vaccinated women from the general population.
APMIS 2017;125:585–95.
<http://dx.doi.org/10.1111/apm.12677>.
- 31. Maud Veselic-Charvat, Klaas van der Ham, Anneke van Driel-Kulker**
The Bethesda System and Beyond
Atlas for cervical cytology in BD Surepath
Germany: BD Diagnostics, 2013:128
- 32. Monia Ardhaoui, Emna Ennaifer, Hajer Letaief et al**
Prevalence, Genotype Distribution and Risk Factors for Cervical Human Papillomavirus Infection in the Grand Tunis Region, Tunisia
PLoS One. 2016;11:e0157432
- 33. Y.T. Nejo, D.O. Olaleye, G.N. Odaibo**
Prevalence and Risk Factors for Genital Human Papillomavirus Infections Among Women in Southwest Nigeria
Arch Basic Appl Med 2018;6:105–112.
- 34. SN Akarolo–Anthony, Ayo O Famooto, Eileen O Dareng et al**
Age-specific prevalence of human papilloma virus infection among Nigerian women
BMC Public Health 2014;14:656
- 35. Nyengidiki Tamunomie Kennedy, Durugbo Ikechukwu, Bassey Goddy**
Risk factors and distribution of oncogenic strains of human papilloma virus in women presenting for cervical cancer screening in Port Harcourt, Nigeria
Pan African Medical Journal 2016;23:85

- 36. Z. Baloch, T. Yuan, S. Yindi et al**
Prevalence of genital human papillomavirus among rural and urban populations in southern Yunnan province, China
Brazilian Journal of Medical and Biological Research 2016;49:e5254
- 37. Huilan Xu, Sam Eggerb, Louiza S Velentzisz et al**
Hormonal contraceptive use and smoking as risk factors for high-grade cervical intraepithelial neoplasia in unvaccinated women aged 30–44 years: A case–control study in New South Wales, Australia
Cancer Epidemiology 2018;55:162–169
- 38. InaMarie Angèle Traore, Théodora Mahoukèdè Zohoncon, Adama Dembele et al**
Molecular Characterization of High-Risk Human Papillomavirus in Women in Bobo-Dioulasso, Burkina Faso
Biomed Res Int. 2016;2016:7092583.
- 39. S. Rachel Skinner, Cosette M. Wheeler, Barbara Romanowski et al**
Progression of HPV infection to detectable cervical lesions or clearance in adult women: Analysis of the control arm of the VIVIANE study
*Int. J. Cancer*2016;138:2428–2438
- 40. Pablo Romero–Morelos, Cindy Bandala, Julián Jiménez–Tenorio et al**
Bacterias relacionadas con vaginosis bacteriana y su asociación a la infección por virus del papiloma humano
*MedClin(Barc)*2018 disponible sur <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2018.01.027>
- 41. Geilson Gomes de Oliveira, Judite Maria da Silva Costa de Oliveira, Renata Mirian Nunes Eleutério et al**
Atypical Squamous Cells: Cytopathological Findings and Correlation with HPV Genotype and Histopathology
Gynecologic Cytopathology 2018;62:386–392.
- 42. Aaron Atkinson, PhD, Courtney Studwell et al**
Rural Distribution of Human Papilloma Virus in Low- and Middle-Income Countries
Exp Mol Pathol. 2018;104:146–150
- 43. Geraldine McQuillan, Ph.D., Deanna Kruszon–Moran et al**
Prevalence of HPV in Adults Aged 18–69: United States, 2011–2014
NCHS Data Brief. 2017;(280):1–8.

- 44. D. Tasic, I. Lazarevic, A. Knezevic et al**
The impact of environmental and behavioural cofactors on the development of cervical disorders in HR-HPV-infected women in Serbia
Epidemiol Infect. 2018;146:1714–1723
- 45. Daniel Boda, Monica Neagu, Carolina Constantin et al**
HPV strain distribution in patients with genital warts in a female population sample
*ONCOLOGY LETTERS.*2016;12:1779–1782
- 46. Gozde Kir, Billur Cosan Sarbay, Hatice Seneldir**
The Significance of Parakeratosis Alone in Cervicovaginal Cytology of Turkish Women
Diagn Cytopathol. 2017;45:297–302
- 47. Jahic M, Jahic E**
Diagnostic approach to patients with atypical squamous cells of undetermined significance cytologic findings on cervix.
Med Arch 2016;70:296–298.

قسم الطبيب

أقسِمُ باللهِ العَظِيمِ

أن أراقبَ اللهَ في مِهْنَتِي.

وأن أصونَ حَيَاةَ الإنسانِ في كَافَّةِ أطوارها في كلِّ الظروفِ والأحوالِ

بِإِدْنَةٍ وَسَعِيٍّ فِي إِنْقَادِهَا مِنَ الْهَلَاكِ وَالْمَرَضِ وَالْأَلَمِ وَالْقَلْقِ.

وأن أحفظَ لِلنَّاسِ كِرَامَتَهُمْ، وَأَسْتُرَ عَوْرَتَهُمْ، وَأَكْتُمُ سِرَّهُمْ.

وأن أكونَ عَلَى الدَّوَامِ مِنْ وَسَائِلِ رَحْمَةِ اللَّهِ، مَسْخَرَةً كُلِّ رِعَايَتِي الطَّبِيبَةِ لِلْقَرِيبِ وَالْبَعِيدِ،

لِلصَّالِحِ وَالطَّالِحِ، وَالصَّدِيقِ وَالْعَدُوِّ.

وأن أَتَأَبَّرَ عَلَى طَلَبِ الْعِلْمِ الْمُسَخَّرِ لِنَفْعِ الْإِنْسَانِ .. لَا لِأَذَاهِ.

وأن أُوقِرَ مِنْ عِلْمَنِي، وَأُعَلِّمَ مَنْ يَصْغُرُنِي، وَأَكُونُ أَخْتًا لِكُلِّ زَمِيلٍ

فِي الْمِهْنَةِ الطَّبِيبَةِ مُتَعَاوِنِينَ عَلَى الْبِرِّ وَالتَّقْوَى.

وأن تكونَ حَيَاتِي مِصْدَاقَ إِيمَانِي فِي سِرِّي وَعَلَانِيَتِي،

نَقِيَّةً مِمَّا يَشِينُهَا تُجَاهَ اللَّهِ وَرَسُولِهِ وَالْمُؤْمِنِينَ.

واللهَ عَلَى مَا أَقُولُ شَهِيدٌ.

أطروحة رقم 009

سنة 2019

الكشف عن فيروس الورم الحليمي البشري في منطقة مراكش

الأطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم 2019/01/16
من طرف

السيدة **فاطمة ايت الحاج**

المزداة في 28 مارس 1989 بطا
لنيل شهادة الدكتوراه في الطب

الكلمات الأساسية:

فيروس الورم الحليمي البشري - كشف - نمط جيني

اللجنة

الرئيس	ل. بوخني	السيد
المشرف	أستاذ في طب النساء و التوليد س. الزوهير	السيد
المشرفة المساعدة	أستاذ في علم البكتريا و الفيروسات ح. الرايس	السيدة
	أستاذة في طب التشريح المرضي	