

Ministère de l'Éducation Nationale

République du Mali

Université de Bamako

Un peuple Un but Une foi

**Faculté de Médecine, de Pharmacie et
d'Odonto-Stomatologie**

Année Universitaire 2005-2006

Thèse N°/2005

**DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DU VIRUS
DU PAPILLOME HUMAIN DANS LES
PRELEVEMENTS ENDOCERVICAUX AU
BENIN**

Thèse présentée et soutenue publiquement le.....2005 devant la
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie par :

Aïchatou Carole EYISSE

Pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie Diplôme d'Etat.

Jury

Président : Professeur Gaousou KANOUTE

**Membres : Docteur Souleymane DIALLO
Docteur Bakarou KAMATE**

Directeur de thèse : Professeur Flabou BOUGOUDOGO

**Codirecteurs : Professeur Ambaliou SANNI
Professeur Marie-Thérèse AKELE AKPO**

**FACULTE DE MEDECINE DE PHARMACIE ET
D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2004-2005**

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE – PROFESSEUR

1^{er} ASSESSEUR : MASSA SANOGO – MAITRE DE CONFERENCES

**2^{ème} ASSESSEUR : GANGALY DIALLO – MAITRE DE CONFERENCES
AGREGE**

**SECRETAIRE PRINCIPAL: YENIMEGUE ALBERT DEMBELE – MAITRE DE
CONFERENCES AGREGE**

**AGENT COMPTABLE: MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL-
CONTROLEUR DES FINANCES**

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	: Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	: Orthopédie Traumatologie Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	: Pneumo-phtisyologie
Mr Yaya FOFANA	: Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	: Chirurgie générale
Mr Balla COULIBALY	: Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	: Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	: Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	: Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	: Médecine Interne
Mr Aly GUINDO	: Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. ET PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	: Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	: Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE D.E.R	: Orthopédie Traumatologie, Chef de
Mr Kalilou OUATTARA	: Urologie
Mr Amadou DOLO	: Gynéco-obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	: O.R.L.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO	: Ophtalmologie
Mr Djibril SANGARE	: Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE dit DIOP	: Chirurgie Générale

Mr Abdoulaye DIALLO : Anesthésie –Réanimation
Mr Gangaly DIALLO : Chirurgie Viscérale
Mr Mamadou TRAORE : Gynéco-obstétrique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïda SOW : Gynéco-obstétrique
Mr Salif DIAKITE : Gynéco-obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE : Gynéco-obstétrique
Mr Sadio YENA : Chirurgie Générale et Thoracique
Mr Filifing SISSOKO : Chirurgie Générale
Mr Issa DIARRA : Gynéco-obstétrique
Mr Youssouf COULIBALY : Anesthésie –Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO : Oto-Rhino-Laryngologie

5. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mme Diénéba DOUMBIA : Anesthésie –réanimation
Mr Mamadou L. DIOMBANA : Stomatologie
Mr Sékou SIDIBE : Orthopédie –Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO : Anesthésie –Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY : Orthopédie – Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS : Ophtalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA : Anatomie et chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA : Urologie
Mr Zimogo Zié SANOGO : Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE : Orthopédie –Traumatologie
Mme TOGOLA Fanta KONIPO : Oto- Rhino- Laryngologie
Mr Sanoussi BAMANI : Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO : Ophtalmologie
Mr Ibrahim ALWATA : Orthopédie –Traumatologie
Mr Lamine TRAORE : Ophtalmologie
Mr Mady MAKALOU : Orthopédie –Traumatologie
Mr Aly TEMBELY : Urologie
Mr Niani MOUNKORO : Gynéco- Obstétrique
Mr Tiemoko D. COULIBALY : Odontologie
Mr Souleymane TOGORA : Odontologie
Mr Mohamed KEITA : Oto- Rhino- Laryngologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO : Chimie Générale et Minérale
Mr Bréhima KOUMARE : Bactériologie- Virologie (OMS)
Mr Siné BAYO : Anatomie-Pathologie- Histo-
embryologie
Mr Yéya T. TOURE : Biologie (OMS)
Mr Amadou DIALLO : Biologie
Mr Moussa HARAMA : Chimie Organique

Mr Ogobara DOUMBO : Parasitologie –Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE : Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA : Immunologie, **Chef de D.E.R.**
Mr Amadou TOURE : Histo- embryologie
Mr Flabou BOUGOUDOGO : Bactériologie- Virologie
Mr Amagana DOLO : Parasitologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE : Biologie
Mr Abdourahmane S. MAIGA : Parasitologie
Mr Adama DIARRA : Physiologie
Mr Mamadou KONE : Physiologie
Mr Massa SANOGO : Chimie Analytique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE : Biologie
Mr Sékou F. M. TRAORE : Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO : Malacologie, Biologie Animale
Mr Abdourahmane TOUNKARA : Biochimie
Mr Ibrahim I. MAIGA : Bactériologie-Virologie
Mr Moussa Issa DIARRA : Biophysique
Mr Kaourou DOUCOURE : Biologie
Mr Bouréma KOURIBA : Immunologie
Mr Souleymane DIALLO : Bactériologie-Virologie
Mr Cheik Bougadari TRAORE : Anatomie-Pathologie
Mr Lassana DOUMBIA : Chimie Organique

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY : Hématologie
Mr Mahamadou A. THERA : Parasitologie
Mr Mangara M. BAGAYOKO : Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Guimogo DOLO : Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Abdoulaye TOURE : Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Djibril SANGARE : Entomologie Moléculaire Médicale
Mr Mouctar DIALLO : Biologie-Parasitologie
Mr Bokary Y. SACKO : Biochimie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY : Médecine Interne
Mr Mamadou K. TOURE : Cardiologie
Mr Mahamane MAIGA : Néphrologie
Mr Baba KOUMARE : Psychiatrie, Chef de D.E.R.
Mr Moussa TRAORE : Neurologie
Mr Issa TRAORE : Radiologie
Mr Mamadou M. KEITA : Pédiatrie

Mr Hamar A. TRAORE : Médecine Interne
Mr Dapa Aly DIALLO : Hématologie
Mr Moussa Y. MAIGA : Gastro-Entérologie-Hépatologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE : Pédiatrie
Mr Bah KEITA : Pneumo-Phtisiologie
Mr Boubakar DIALLO : Cardiologie
Mr Somita KEITA : Dermato-Leprologie
Mr Abdel Kader TRAORE : Médecine Interne
Mr Siaka SIDIBE : Radiologie
Mr Mamadou DEMBELE : Médecine Interne

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamady KANE : Radiologie
Mme Tatiana KEITA : Pédiatrie
Mme TRAORE Mariam SYLLA : Pédiatrie
Mr Adama D. KEITA : Radiologie
Mme SIDIBE Assa TRAORE : Endocrinologie
Mme Habibatou DIAWARA : Dermatologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE : Psychiatrie
Mr Bougouzié SANOGO : Gastro-Entérologie
Mr Saharé FONGORO : Néphrologie
Mr Bakoroba COULIBALY : Psychiatrie
Mr Kassoum SANOGO : Cardiologie
Mr Seydou DIAKITE : Cardiologie
Mr Mahamadou B. CISSE : Pédiatrie
Mr Arouna TOGORA : Psychiatrie
Mme DIARRA Assétou SOUCKO : Médecine Interne
Mr Boubacar TOGO : Pédiatrie
Mr Mahamadou TOURE : Radiologie
Mr Idrissa CISSE : Dermatologie
Mr Mamadou B. DIARRA : Cardiologie
Mr Anselme KONATE : Hépto-Gastro-Entérologie
Mr Moussa T. DIARRA : Hépto-Gastro-Entérologie
Mr Souleymane DIALLO : Pneumologie
Mr Souleymane COULIBALY : Psychologie
Mr Daouda K. MINTA : Maladies Infectieuses
Mr Soungalo DAO : Maladies Infectieuses
Mr Cheïck Oumar GUINTO : Neurologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE : Toxicologie
Mr Gaoussou KANOUTE : Chimie Analytique, Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Ousmane DOUMBIA : Pharmacie Chimique
Mr Drissa DIALLO : Matières Médicales

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boulkassoum HAIDARA : Législation
Mr Elimane MARIKO : Pharmacologie

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Benoît KOUMARE : Chimie Analytique
Mr Alou KEITA : Galénique
Mr Ababacar MAIGA : Toxicologie
Mr Yaya KANE : Galénique

5. ASSISTANTS

Mme Rokia SANOGO : Pharmacognosie
Mr Saïbou MAIGA : Législation
Mr Ousmane KOITA : Parasitologie Moléculaire
Mr Boubacar TRAORE : Immunologie-Pharmacologie

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA : Santé Publique, Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Moussa A. MAIGA : Santé Publique

3. MAITRE DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE : Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE : Santé Publique
Mr Adama DIAWARA : Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO : Santé Publique
Mr Massambou SACKO : Santé Publique
Mr Alassane A. DICKO : Santé Publique

5. ASSISTANTS

Mr Samba DIOP : Anthropologie Médicale
Mr Seydou DOUMBIA : Epidémiologie
Mr Oumar THIERO : Biostatistique

6. CHARGES DE COURS ET ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	: Botanique
Mr Bouba DIARRA	: Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	: Physique
Mr Boubacar KANTE	: Galénique
Mr Souleymane GUINDO	: Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	: Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	: Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	: Hygiène du milieu
Mr Mahamadou TRAORE	: Génétique
Mr Yaya COULIBALY	: Législation

7. ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr Doudou BA	: Bromatologie
Pr Babacar FAYE	: Pharmacodynamie
Pr Eric PICHARD	: Pathologie Infectieuse
Pr Mounirou CISSE	: Hydrologie
Pr Amadou DIOP	: Biochimie

*Louange à Dieu qui, par Sa Puissance et Sa
Majesté, mène à leur terme les bonnes œuvres.*

DEDECEES

A

Mes parents : Elise et Fatiou EYISSE. Ma réussite et mon bonheur ont toujours été vos soucis permanents ; vous ne ménagez aucun effort pour que mes sœurs et moi ne manquions de rien. Recevez à travers ce travail, exaucement de vos vœux, fruit de votre abnégation, de vos sacrifices et de vos conseils toute mon affection et ma profonde reconnaissance. Puisse Dieu vous garder encore longtemps parmi nous.

Mes sœurs Yasmine et Amâl. Infinie tendresse.

Assana et Ousmane SY. Les mots me manquent pour vous exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance. J'ai trouvé au sein de votre foyer hospitalité, chaleur, joie et plus encore une seconde famille. Que Dieu vous bénisse.

REMERCIEMENTS

A Rébecca KOKODE. Merci pour tout.

A Patricia, Ingrid, Carmelle, Fatou, Hamsatou, Kodjo, René, Maurice, Arnaud.

Le temps s'est écoulé sans rien effacer de nos larmes, de nos rires, de nos souvenirs. Merci pour votre amitié.

A La famille DIAKITE. Pour votre hospitalité.

A Abdoulaye DIALLO et Hama CISSE. Jamais je n'oublierai votre soutien et aide durant ma difficile première année. Recevez ici l'expression de ma gratitude.

A Lisette, Aurore, Hamda, Raymonde, Wahid, Achille, Yasfir, Angelo, Wielfried. Courage et persévérance

A Raimi KPOSSOU pour ton soutien et tes conseils.

A Tagnon, Patrice, Eugène, Latifou, Bérénice, Inès. Au-delà de vos soutiens et conseils je garderai un souvenir de votre bonne humeur et de votre fou-rire.

A Lucie AYI, Lamine BABA-MOUSSA, Nicodème CHABI. Pour vos conseils et soutiens de chaque instant.

A Pierre SAGBO pour ton soutien.

Aux familles EYISSE et DENDE pour vos prières et vos conseils.

A Théophile GNAMBODOUE merci pour tout.

A Aty, Muriel, Amadou, Seydou et Ibrahim SY que notre fraternité toujours dure.

Une pensée pour **Estonie** et **Dramane**.

Au Personnel du Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire de la FAST, du Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique

de la FSS : pour leur soutien matériel et leur collaboration tout au long de ce travail. Merci infiniment.

Au Personnel du Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique de l'Institut National de Recherche en Santé Publique.

Au Mali et au peuple malien

Le Mali, symbole d'hospitalité africaine nous a accueilli les bras ouverts. Nous n'oublierons jamais les moments passés sur cette terre qui est devenue notre second pays.

Au corps professoral de la FMPOS pour la formation de qualité que j'ai reçue.

A tous les étudiants béninois au Mali.

A tous mes ami (e) s des communautés africaines au Mali.

Que Tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude.

**Au Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire de la FAST,
au Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique de la FSS :**
pour leur soutien matériel et leur collaboration tout au long de ce travail.
Merci infiniment.

Au Mali et au peuple malien

Le Mali, symbole d'hospitalité africaine nous a accueilli les bras ouverts.
Nous n'oublierons jamais les moments passés sur cette terre qui est
devenue notre second pays.

Au corps professoral de la FMPOS pour la formation de qualité que j'ai
reçue.

A tous les étudiants béninois au Mali.

A tous mes ami (e) s des communautés africaines au Mali.

**Que Tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de
ce modeste travail, trouvent ici nos sentiments de profonde gratitude.**

ՀՕՊՈՊԱԳԵՏ ԱՄ
ԳՐԿ

A notre Maître et Président de jury:

Professeur Gaoussou Kanouté

Professeur de Chimie Analytique à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie,

Chef de DER des sciences pharmaceutiques,

Directeur Général du Laboratoire National de la Santé.

C'est un honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre thèse. Votre rigueur scientifique a suscité en nous une grande admiration. Recevez l'expression de notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge

Docteur Souleymane Diallo

Maître Assistant en Bactériologie-Virologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie,

Chef de service du laboratoire du CHU Gabriel Touré,

Lieutenant-colonel des Forces Armées du Mali.

C'est avec promptitude que vous avez accepté de juger notre travail. Votre sens du travail bien fait nous a profondément marqué. Recevez ici notre reconnaissance.

A notre Maître et Juge

Docteur Bakarou Kamaté

Anatomo-pathologiste à l'INRSP.

Nous vous remercions de l'intérêt que vous portez à ce travail en acceptant de le juger. Vous nous donner ainsi l'occasion d'apprécier vos qualités intellectuelles et votre humanisme. Recevez notre reconnaissance. Trouvez ici le témoignage de notre sincère reconnaissance.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur Flabou Bougoudogo

Maître de conférence agrégé en Bactériologie- Virologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie,

Directeur de l'Institut National de Recherche en Santé publique.

Nous avons apprécié la qualité de vos enseignements. Cher Maître, pour la confiance que vous avez placée en nous pour permettre la réalisation de ce travail en dehors de notre cadre de formation, veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude.

A notre Maître et Co-directeur de thèse

Professeur Ambaliou Sanni

Professeur agrégé de Biochimie à la Faculté des Sciences et Techniques de l'Université d'Abomey-Calavi

Vous nous avez fait l'honneur de diriger ce travail. Vos qualités intellectuelles et votre rigueur scientifique nous ont marqué. Grâce à votre disponibilité et à vos conseils nous sommes arrivées à bout. Trouvez ici l'expression de notre profonde gratitude.

A notre maître et co-directeur de thèse

Professeur Marie-Thérèse Akélé Akpo

Professeur agrégé d'Anatomie-Pathologique à la Faculté des Sciences de la Santé de l'Université d'Abomey-Calavi.

Nous avons été touchée par la disponibilité constante dont vous avez fait preuve pour la réalisation de ce travail. Recevez toute notre reconnaissance

SOMMAIRE

INTRODUCTION	2
GENERALITES	5
1- Historique	5
2- Classification et nomenclature des papillomavirus	6
3- Structure du virion et organisation génomique	8
4- Transmission des papillomavirus	11
5- Epidémiologie de l'infection à VPH	11
6- La multiplication virale	12
7- Aspects cliniques de l'infection à VPH	15
8- VPH et cancer du col de l'utérus	17
9- Méthodes diagnostiques des infections à papillomavirus	19
10- Principes thérapeutiques	21
METHODOLOGIE	24
1- Cadre d'étude	26
2- Matériel	27
3- Méthodes d'étude	29
RESULTATS	39
DISCUSSION	51
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	60
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	62

ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxyribonucléique
Bet	Bromure d'éthidium
°C	Degré Celsius
DO	Densité optique
dNTP	Désoxyribonucléotide 5' triphosphate
EDTA	Ethylène diamine tétraacétate
HPV	Human Papillomavirus
KCl	Chlorure de potassium
MgCl ₂	Chlorure de magnésium
Min	Minute
mM	Millimolaire
nm	Nanomètre
NaCl	Chlorure de sodium
ng	Nanogramme
ORF	Open Reading Frame
pb	Paire de bases
PBS	Phosphate buffer saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
pmol	Picomoles

rpm	Révolution par minute
TE	Tris EDTA
μl	Microlitre
V	Volt
VPH	Virus du Papillome Humain

INTRODUCTION

Approximativement 500.000 femmes développent chaque année le cancer du col de l'utérus dans le monde [56]. Statistiquement, le cancer du col de l'utérus vient en deuxième position des cancers féminins au niveau mondial alors qu'il occupe la première place en Afrique. L'incidence est élevée en Afrique sub-saharienne avec 57000 cas en l'an 2000 [57].

Le taux d'incidence était pour 100.000 habitants de:

- 29,7 en Guinée entre 1996 et 1999,
- 14,3 au Mali entre 1988 et 1997,
- 23,1 au Congo entre 1996 et 1999 et,
- 10,2 au Kenya entre 1998 et 2000 [57].

Au Bénin, le taux de prévalence du cancer du col a été évalué à 7,7‰ et celle des lésions pré-cancéreuses à 10,6‰ en 1990[71].

Les facteurs de risque du cancer du col sont divers et variés. On distingue entre autres:

- les grossesses multiples,
- les partenaires multiples,
- le tabagisme,
- l'usage prolongé des contraceptifs oraux,
- et le bas niveau socio-économique.

Mais il est maintenant clairement établi que l'infection par des Virus du Papillome Humain (VPH) de types oncogènes est une cause nécessaire mais non suffisante pour la genèse du cancer du col utérin [7, 29, 44, 81].

Ainsi, les infections à VPH oncogènes multiplient par un facteur de 8 à 11 le risque de développer des lésions cervicales pré-néoplasiques et seules les lésions de bas grades contenant des VPH oncogènes évoluent vers une lésion de haut grade [40, 26].

Enfin, 99,8% des cancers du col utérin contiennent des VPH oncogènes ce qui fait du cancer du col la seule tumeur solide humaine quasi-totalement viro-induite [81].

De ce fait, l'intérêt pour la détection des VPH en pathologie cervicale a pris de plus en plus d'importance au cours de ces dernières années surtout que le dépistage classique par la cytologie a des limites [17]. En effet, seuls les frottis présentant une koïlocytose, une dyskératose ou une multi nucléation indiquent une infection à VPH sans toutefois préciser le type viral en cause; alors que les techniques de biologie moléculaire telle que la « Polymerase Chain Reaction » (PCR) permettent de détecter la présence virale à un stade où les cellules de la muqueuse cervicale n'expriment pas encore les atypies caractéristiques d'une infection à VPH et de préciser le type en cause.

C'est dans cette optique que se situe la présente thèse dont l'objectif principal est de comparer les résultats de la cytologie et de la technique de la PCR.

Les objectifs spécifiques sont de:

- détecter la présence du VPH dans les prélèvements endocervicaux par la PCR
- rechercher les VPH oncogènes de type 6/11,16, 18, et 33 par la PCR
- déterminer la proportion de femmes porteuses du VPH ayant un frottis exempt d'atypies caractéristiques de l'infection virale
- déterminer la fréquence des VPH oncogènes dans les prélèvements endocervicaux
- déterminer l'existence d'une corrélation entre l'âge, la parité, l'utilisation de contraceptifs et la présence des VPH oncogènes.

GENERALISTES

LES PAPILOMAVIRUS ET LES VIRUS DU PAPILLOME HUMAIN

1-Historique

L'étiologie infectieuse des verrues et des condylomes fut longtemps suspectée et probablement prouvée au cours du 19^e siècle. La première transmission des verrues chez les êtres humains fut accidentelle et rapportée en 1845 par Chandler qui, en enlevant un large condylome avec son instrument, blessa son assistant au-dessous du pouce. A la place de la blessure apparut quelque temps après une verrue qui même régulièrement enlevée réapparaissait bien que l'ongle du pouce blessé fut enlevé [77].

Ulmann nota aussi une similaire transmission accidentelle de papillomes laryngés et réalisa des expériences d'auto inoculation sur l'avant-bras avec un filtrat de broyat de papillomes laryngés. Après une période de latence de neuf mois, des verrues apparurent.

L'origine virale des verrues et des condylomes n'a été démontrée pour les lésions verruqueuses humaines qu'en 1907 par Ciuffo qui s'auto inocula le dos de la main par un filtrat de broyat stérile de verrues vulgaires [21].

Le premier papillomavirus (PV) décrit est celui du lapin de Garenne en 1933 par Shope. Les particules virales n'ont été mises en évidence en microscopie électronique qu'en 1950 par Strauss [73].

L'impossibilité de le cultiver in vitro a longtemps limité la connaissance du virus. Son identification génomique a été rendue possible grâce à la biologie moléculaire seulement depuis les années 1970, avec un essor particulier après la découverte en 1985 de la *polymerase chain reaction* (PCR) (amplification génique).

2-Classification et nomenclature des papillomavirus

2-1-Classification

Les papillomavirus constituent de larges groupes diversifiés de virus; ils sont largement répandus dans le règne animal et plusieurs types ont été retrouvés chez les mammifères et les oiseaux.

Les papillomavirus ont été rassemblés dans la famille des *Papovaviridae* par Melnick en 1962 [49]. Cependant, la différence de taille du virion et la longueur de leur ADN ainsi que l'absence de similitude dans la comparaison des génomes font que récemment, le Comité International sur la Taxonomie des Virus a divisé les *Papovaviridae* en deux familles distinctes: les *Polyomaviridae* et les *Papillomaviridae* [80].

Nous ne nous intéresserons qu'aux *Papillomaviridae*.

La classification des papillomavirus est essentiellement fondée sur la spécificité d'hôte et l'homologie génomique (*Figure 1*). Ainsi, on distingue entre autres les PV du lapin de Garenne (CRPV «*cottontail rabbit papillomavirus*»), du bovin (BPV «*bovine papillomavirus*»), des ovins (OVPV «*ovine papillomavirus*») et de l'homme (HPV «*human papillomavirus*»).

Les PV sont classés en genre, espèce, type, sous-type, et variété. Seize (16) genres de PV ont été répertoriés dont cinq (5) genres de HPV. Les genres de papillomavirus sont désignés par les lettres grecques $\alpha, \beta, \gamma, \dots, \pi$. Les espèces sont désignées par des chiffres.

Les Virus du Papillome Humain (VPH) sont responsables d'affections cutanéomuqueuses fréquentes et en général bénignes (verrues, papillomes). Certains types sont responsables d'affections malignes: les VPH 16,18 et 33 sont associés aux néoplasies intra- épithéliales du col de l'utérus [15].

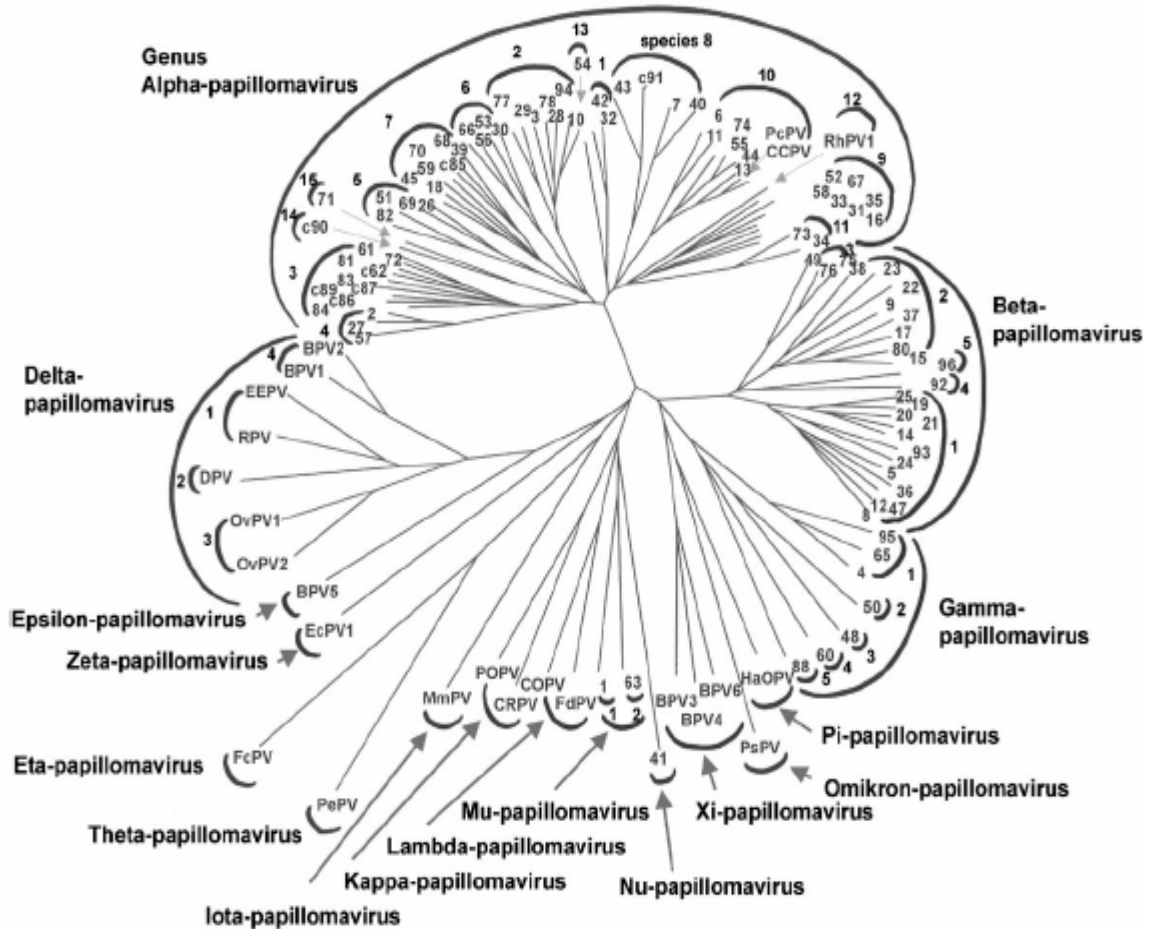


Figure 1: *Classification des papillomavirus [80]*

Les nombres à la fin de chaque branche identifient un type de VPH. Les nombres précédés de la lettre «c» identifient les types de VPH candidats. Toutes les autres abréviations font référence aux types de papillomavirus animaux. Les symboles semi-circulaires extérieurs indiquent les genres; les nombres au niveau des symboles semi-circulaires intérieurs indiquent les espèces.

2-2-Nomenclature

2-2-1 Les types de Papillomavirus

La distinction des types de PV se fait par la biologie moléculaire. Le cadre ouvert de lecture L1, région la plus conservée du génome est utilisé pour identifier les types de PV. Ainsi un nouveau type est reconnu lorsque son génome est complètement séquencé et qu'il existe par rapport aux autres types connus une différence de 10% dans la séquence des nucléotides du gène L1 [80]. Les types de VPH sont identifiés par des chiffres et des nombres.

Les types de VPH dont le génome a été séquencé par la polymérase chain reaction plutôt que par les traditionnelles techniques de clonage sont identifiés par l'abréviation «cand» (candidat) devant leur nombre: exemple candHPV-86 [80].

Il existe plus de 200 types de VPH parmi lesquels plus de 100 ont leur génome déjà séquencé [5].

2-2-2 Les sous-types et les variants de Papillomavirus

Une différence entre 2 et 10% dans la séquence du gène L1 définit un sous-type. Une différence de moins de 2% définit un variant [80].

3-Structure du virion et organisation génomique

3-1-Structure

Les VPH sont des virus de petite taille (de 52 à 55 nm de diamètre) non enveloppés, constitués d'une nucléocapside à symétrie cubique de 72 capsomères; leur culture est impossible. Leur génome est constitué d'une molécule circulaire d'acide désoxyribonucléique (ADN) double brin de 7000 à 8000 paires de bases environ [21, 80].

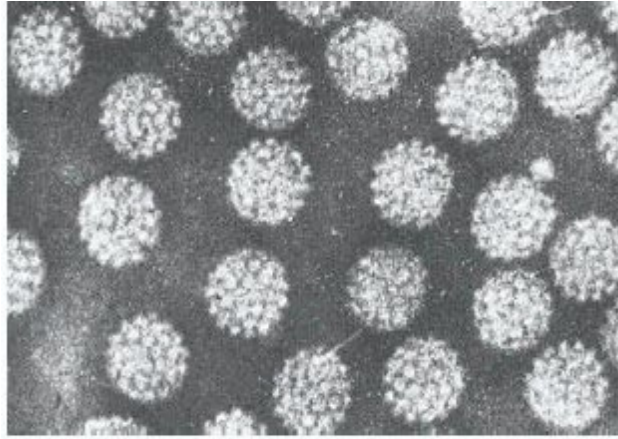


Figure 2: Structure électronique du Virus du Papillome Humain

Source: www.123bio.net

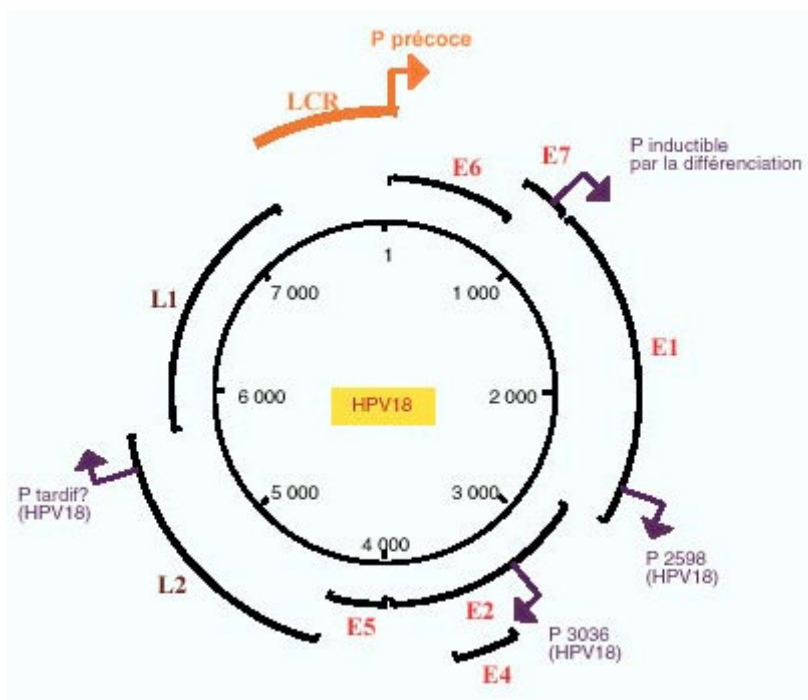


Figure 3: Organisation génomique du VPH 18

P: promoteur; *LCR*: long control region; *E*: région précoce; *L*: région tardive

Source: www.123bio.net

3-2-Organisation génomique

Toute l'information génétique des PV se trouve localisée sur un seul brin (figure 3). Le génome des PV est très statique et les mutations ou recombinaisons sont rares.

Le brin d'ADN contient environ 10 cadres ouverts de lecture (ORF: *open reading frame*) qui sont classés en précoce «early» et tardif «late» en fonction de leur localisation au niveau du génome et de leur rapidité d'expression.

Le cadre précoce de lecture représente 45% du génome et peut contenir jusqu'à huit cadres ouverts de lecture (E1 à E8) codant pour des protéines intervenant dans:

- la réplication virale (E1, E2),
- le maintien du génome sous forme d'épisome (E2),
- l'encapsidation du génome (E4).

Les cadres E5, E6 et E7 codent pour les protéines intervenant dans le processus de transformation et d'immortalisation cellulaire. Le cadre E3 ne se trouve que dans le génome du papillomavirus bovin.

Le cadre tardif de lecture représente environ 40% du génome et est composé de deux ORF (L1 et L2) codant pour les protéines de structure de la capsid.

Les 15% restants du génome correspondent à des régions non codantes (LCR: *long control region*) impliquées dans la régulation de la réplication virale et de l'expression des gènes [21, 80].

4-Transmission des papillomavirus

La transmission des papillomavirus est surtout directe, favorisée par de minimes excoriations, mais une transmission indirecte par l'intermédiaire d'objets et de surface contaminés est vraisemblable (les douches favorisent la propagation des verrues plantaires). Les PV peuvent se transmettre par auto inoculation; la transmission des verrues vulgaires est favorisée par le grattage. La transmission peut également se faire dans les lieux publics, les piscines par exemple; mais dans ces cas l'infection est surtout cutanée.

Les VPH sont principalement transmis par contact sexuel [39, 62].

Au niveau du col utérin, c'est la jonction squamocylindrique qui est la plus sujette aux microlésions, en particulier à l'occasion des relations sexuelles; la période d'incubation varie d'une semaine à plusieurs mois [21].

La transmission verticale de la mère à l'enfant se fait principalement lors du passage à travers la filière génitale par contact direct [12, 75, 76].

Une transmission horizontale entre individus autre que sexuelle est démontrée bien que moins fréquente [69, 42].

5-Epidémiologie de l'infection au VPH

L'infection génitale à VPH est une infection fréquente puisqu'on admet que près de 80% des femmes auront été en contact avec le virus durant leur vie [21]. Son pic de fréquence se situe entre 20 et 25 ans, un deuxième pic, plus petit, est signalé vers 45-50 ans expliquant la petite recrudescence de dysplasie vers 55-60 ans [8, 9, 33].

Le taux cumulé d'incidence de portage du VPH mis en évidence chez les jeunes plusieurs années après leurs premiers rapports sexuels est de plus de 50% [83].

Seuls, 5 à 10% des porteuses des VPH à risques développeront des anomalies cytologiques et moins de 1% de ces formes persistantes évolueront vers un cancer. Plusieurs publications ont montré l'importance

de la charge virale et de la clairance du virus dans le déterminisme de cette évolution [55, 74, 86, 87].

En somme, le fort taux de portage du VPH chez les jeunes femmes représente plus un marqueur d'activité sexuelle qu'une véritable pathologie cervico- vaginale.

L'évolution naturelle de l'infection virale est la guérison spontanée mais la persistance de l'infection et la virulence du type de VPH liées à d'autres cofacteurs (activité sexuelle précoce, nombre de partenaires sexuels, immunodépression locale ou générale, tabac, contraception orale, association à d'autres maladies sexuellement transmissibles et le bas niveau socio-économique) sont à l'origine de l'oncogenèse.

Les infections à VPH de l'appareil génital ont des caractères épidémiologiques analogues à ceux des maladies sexuellement transmissibles et elles leur sont fréquemment associées en particulier *Chlamydia trachomatis*, *Herpes virus* et le virus de l'immunodéficience humaine [21, 27, 31, 45, 66].

6-La Multiplication virale

Suite à une microlésion, le virus pénètre dans les cellules germinales de la couche basale épithéliale (*figure 4*). La pénétration se fait par liaison avec un récepteur situé sur la cellule cible, dont la nature n'est pas bien connue; il pourrait s'agir de l'intégrine $\alpha_4\beta_6$ ou des glycosaminoglycanes [23,38]. De plus l'existence d'une virémie n'est pas démontrée [29].

Le cycle multiplicatif est étroitement lié à la différenciation des kératinocytes [23]. Ainsi la multiplication virale avec synthèse complète du virion, ne s'observe que dans les couches les plus superficielles de l'épithélium lorsque les kératinocytes sont bien différenciés.

Dans les couches basales et intermédiaires, seules les régions précoces de lecture du génome s'expriment. Au cours des stades précoces de

l'infection, le génome viral se multiplie dans les couches basales de l'épithélium sous forme d'épisomes à raison de 50 à 100 copies par cellule.

Dans les kératinocytes différenciés le virus se réplique en un grand nombre de copies; les gènes tardifs sont exprimés, les protéines de la capsidie synthétisées et les particules virales produites [21].

Les VPH sont des virus non lytiques et les particules virales se répandent sous forme de cargo à l'intérieur de la muqueuse épithéliale infectant de ce fait les cellules saines.

L'effet cytopathique est caractérisé par la koïlocytose [21]. Les koïlocytes sont des cellules des couches intermédiaires ou plus externes de l'épithélium; ils sont caractérisés par un noyau hyper chromatique et l'existence d'une vacuole intra cytoplasmique périnucléaire refoulant le cytoplasme en périphérie.

Lors de la transformation cellulaire, on note une perturbation de la croissance et de la différenciation cellulaire. En effet les cellules basales prolifèrent et la différenciation cellulaire s'estompe au fur et à mesure de l'évolution vers les couches externes. Dans ce cas, il n'y a plus de réplication virale, plus de synthèse de protéines de la capsidie mais intégration de l'ADN viral avec apparition d'une aneuploïdie [78].

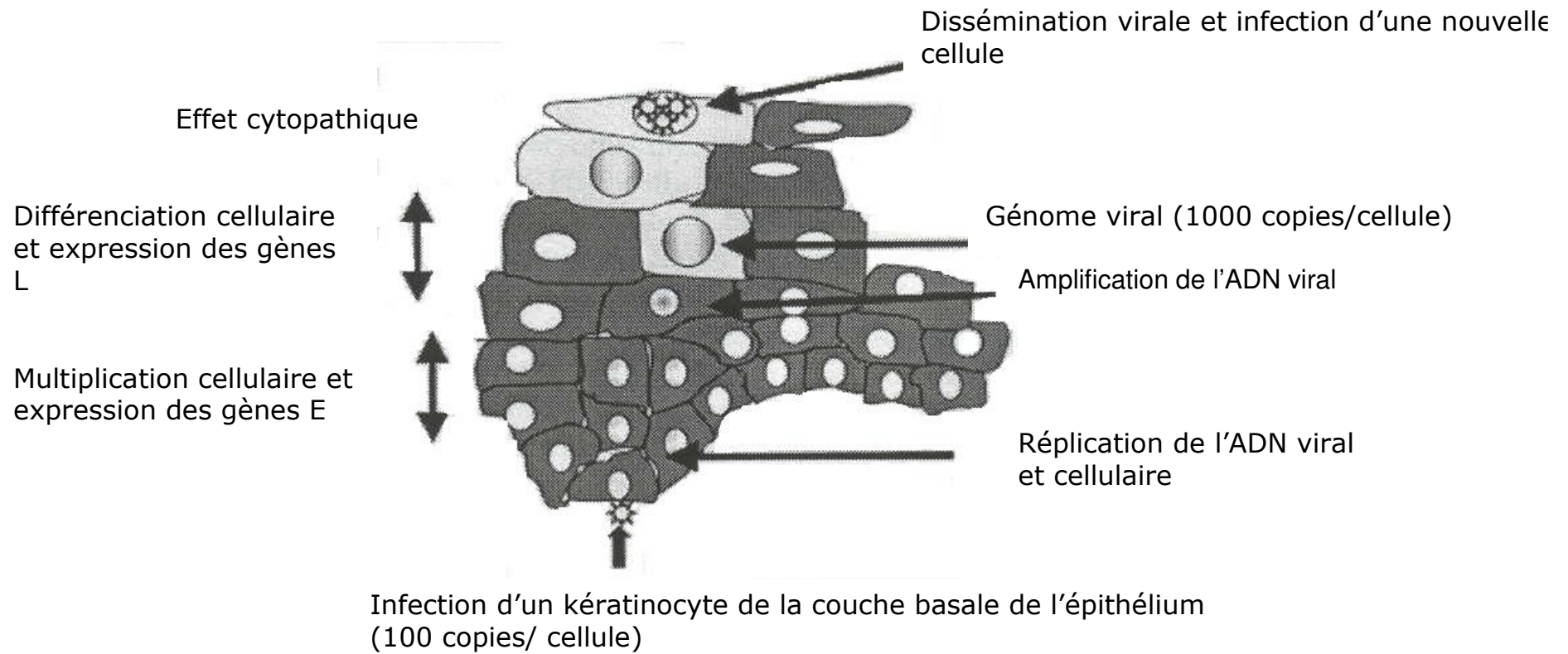


Figure 4: Cycle infectieux du Virus du Papillome Humain [46]

7-Aspects cliniques de l'infection à VPH

Les papillomavirus ont un tropisme tissulaire particulier pour la peau et les muqueuses malpighiennes. Chez l'homme, les papillomavirus sont responsables d'affections cutanéomuqueuses fréquentes et en général bénignes. Au niveau génital, les condylomes représentent une authentique maladie sexuellement transmissible. Mais les VPH sont aussi associés aux néoplasies intraépithéliales du col de l'utérus et il est bien établi maintenant qu'il existe une relation entre l'infection par certains types de VPH et le cancer du col de l'utérus [21,80]. Le tableau suivant résume les lésions provoquées par les cinq genres de VPH ainsi que leurs localisations. La liste des espèces et des types n'est pas exhaustive.

CLASSIFICATION DES PAPILOMAVIRUS SELON LES LESIONS ASSOCIEES [21, 80]

Genre	Espèces	Types d'HPV	Localisation	Lésions associées
Alpha papillomavirus	1	32, 42, 43,44	Muqueuse anogénitale, laryngée	Condylome acuminé, papillome laryngé, CIN
	2	3,10, 28,29	Face, mains, membres	Verrues planes, épidermodysplasie bénigne
	7	18 ,45 ,56 ,66	Muqueuse anogénitale	Condylomes acuminés, CIN, VaIN, VuIN, PIN, carcinome du col Papulomatose bowenoide
	9	16, 31, 33, 35		
	10	6 ,11 ,13 ,44	Muqueuse anogénitale, laryngée	Maladie de Heck, condylome acuminé, CIN, papillome laryngé
Bêta papillomavirus	1	5, 8, 12, 14	Cutanée: mains, membres, tronc	Epidermodysplasie verruciforme
	2	9, 37, 38, 80	Cutanée	Kératoacanthome
Gamma papillomavirus	1	4 ,26 ,29 ,65	Mains, membres	Verrues vulgaires
	2	48	Cutanée	Verrues multiples, carcinomes cutanés
	4	57,60	Cutanée	Kyste épidermoïde plantaire ou palmaire
Mu papillomavirus	1	1		
	2	63	Cutanée	Myrmécies, Verrues multiples, kyste épidermoïde plantaire ou palmaire
Nu papillomavirus	1	41	Cutanée	

CIN: néoplasie intracervicale; VaIN: néoplasie intravaginale; VuIN: néoplasie intravulvaire; PIN: néoplasie intrapénienne

8-VPH et cancer du col de l'utérus

8-1-Les VPH oncogènes

La relation entre VPH et cancer du col utérin est maintenant bien établie [7].

Parmi la centaine de types de VPH identifiée, quarante (40) peuvent infecter le tractus génital [79]. Ces virus sont généralement classés en bas et haut risque.

Les VPH à bas risque sont principalement retrouvés dans les verrues génitales, alors que les types à haut risque sont fréquemment associés au cancer invasif du col de l'utérus.

Les VPH de type 6 et 11 sont les deux plus fréquents virus à bas risque retrouvés dans les cancers pré invasifs [24]. Les types 40, 42, 43 et 44 ont été également identifiés comme à bas risque.

Les VPH à haut risque ont été identifiés dans 90 à 99% des cancers invasifs du col utérin [54, 81]. Les plus fréquents sont les types 16, 18, 31, 33, 35, 39 et 45.

8-2-Mécanisme d'action oncogène

Le pouvoir oncogène des VPH est lié à l'expression des protéines E6 et E7 [70]. Leur synthèse est codée respectivement par les cadres ouverts de lecture E6 et E7. Elles interviennent dans la réplication virale mais leur action principale correspond à la transformation et à l'immortalisation de la cellule hôte.

8-2-1 La protéine E6

Protéine de 150 acides aminés, elle intervient dans l'oncogenèse en induisant une dégradation de la protéine anti-oncogène p53; celle-ci est codée par un gène suppresseur de tumeurs localisé sur le bras court du chromosome 17.

La p53 empêche la transformation tumorale des cellules en contrôlant le déroulement de la mitose. Essentielle au maintien de l'intégrité du génome elle induit un arrêt du cycle cellulaire en phase G1 permettant la réparation des mutations de l'ADN, voire l'apoptose des cellules altérées [22].

La protéine E6 se lie à la p53 et stimule sa dégradation par le système ubiquitine-protéasome [84].

La protéine E6 des VPH à haut risque a une plus grande affinité pour la p53 que celle des virus à bas risque [16,43].

8-2-2 La protéine E7

Elle inactive la protéine anti-oncogène Rb codée par le gène onco-suppresseur Rb (rétinoblastome). La pRb (protéine Rb) est localisée dans le noyau et a la propriété de se fixer à l'ADN. La pRb a une action inhibitrice sur la progression du cycle cellulaire [22].

En effet dans sa forme active hypophosphorylée la pRb est étroitement liée au facteur de transcription E2F et est ainsi capable de bloquer le cycle cellulaire à la phase G1 si les conditions sont défavorables à la poursuite de la mitose.

La protéine E7 se lie à la pRb dissociant ainsi le complexe E2F-pRb; il s'en suit une activation des gènes nécessaires à la transition de la phase G1 à la phase S et la dérégulation du cycle cellulaire [82].

La E7 des VPH à haut risque a une plus grande affinité pour la pRb que celle des virus à bas risques [16, 43].

9-Méthodes diagnostiques des infections à papillomavirus

9-1-Microscopie électronique

Le virus ne se multipliant pas sur culture cellulaire in vitro, il n'est pas possible de l'isoler à partir des prélèvements. Il est cependant possible de visualiser les virions dans les tissus grâce à la microscopie électronique. Mais elle ne peut reconnaître les différents types viraux et nécessite la présence d'une importante réplication virale [35, 63].

9-2-Marquage des antigènes de structure

Cette méthode consiste à rechercher les antigènes de structure par des anticorps spécifiques du genre papillomavirus. Elle se réalise sur coupes ultrafines à partir de biopsie. La révélation, par des méthodes immunohistochimiques, montre des inclusions dans le cytoplasme et le noyau des koïlocytes situés dans les couches les plus superficielles. Elle nécessite la présence d'une quantité importante d'antigène viral donc d'une réplication [35, 63].

9-3-Méthodes cyto-histologiques

Le diagnostic est fait habituellement cliniquement ou par colposcopie suite à un badigeonnage du col utérin par du lugol ou de l'acide acétique. Il sera confirmé par l'étude cytohistologique de frottis ou de biopsie des lésions mises en évidence.

L'aspect le plus caractéristique est le koïlocyte; il s'y associe des signes histologiques indirects, non constants, mais pouvant parfois, à eux seuls, évoquer l'infection virale: la dyskératose ou la parakératose, témoins de la prolifération des couches intermédiaires ou superficielles, l'hyperplasie des cellules basales ou l'aspect bi ou plurinucléé. Ces lésions viro-induites peuvent s'associer à des lésions de «dysplasie» avec atypies nucléaires témoignant d'une néoplasie intraépithéliale [35, 63].

9-4- Méthodes moléculaires

9-4-1-La Polymerase Chain Reaction

La PCR est une amplification d'une séquence d'ADN spécifique délimitée par deux amorces grâce à une polymérase bactérienne. Elle est spécifique et sensible; le seuil de détection varie de 0,1 à 0,001 pg d'ADN. La révélation du produit amplifié se fait par migration électrophorétique sur gel et visualisation de la bande de poids moléculaire attendu.

9-4-2-Techniques d'hybridation moléculaire

Elles permettent de mettre en évidence l'ADN viral en l'absence de multiplication virale ou lors de l'intégration virale aux moyens de sonde nucléique spécifique.

Les étapes de l'hybridation moléculaire comprennent une dénaturation de l'ADN double brin, puis une réassociation en présence de la sonde. S'il existe une complémentarité entre la sonde et l'ADN, il y aura hybridation. Celle-ci sera révélée par autoradiographie ou immunoenzymologie

Il existe différentes méthodes d'hybridation permettant le diagnostic d'une infection à HPV et l'identification du type viral impliqué [35, 63].

➤ Southern-Blot

C'est la technique la plus fiable et la plus spécifique. Elle consiste à révéler l'ADN viral digéré par des enzymes de restriction, transféré sur une membrane et révélé par une sonde spécifique. La digestion permet de fragmenter l'ADN viral. Les différents fragments du génome sont séparés par migration électrophorétique sur gel d'agarose, puis transférés sur un filtre de nitrocellulose ou de nylon. A partir de ce filtre sera réalisée l'hybridation avec une sonde nucléique spécifique.

La technique est longue et nécessite une quantité suffisante de matériel biologique (minimum 10 µg d'ADN). Le seuil de sensibilité est d'environ 0,1 copie virale par cellule.

➤ **Le Dot blot**

Il s'agit d'une technique plus simple puisqu'elle ne comprend pas de digestion de l'ADN, ni de migration électrophorétique. L'ADN est extrait puis directement déposé sur une membrane de nylon ou de nitrocellulose où il sera hybridé avec les sondes spécifiques. Le Dot blot est rapide mais a une sensibilité moindre par rapport au Southern-Blot. Le seuil de sensibilité est d'environ 1 copie virale par cellule.

➤ **Les techniques d'hybridation in situ**

Elles ne nécessitent pas d'extraction préalable d'ADN. Il s'agit d'une technique in vivo qui permet de localiser au microscope une hybridation cellulaire sur des cellules précises. L'hybridation est effectuée directement sur des suspensions cellulaires ou sur des coupes histologiques, et permet de localiser, au sein du tissu, le site de l'infection virale. Elle est de réalisation aisée mais manque de sensibilité.

10-Principes thérapeutiques

Les objectifs visés en traitant les maladies sexuellement transmissibles sont les suivants: l'éradication de l'infection, l'élimination des symptômes, la prévention à long terme des séquelles et l'interruption de la transmission.

Le traitement des verrues génitales est symptomatique, avec le but principal d'éliminer ou de réduire la taille des lésions cliniquement apparentes. L'objectif visé dans le traitement des lésions de la muqueuse cervicale est de prévenir la progression vers un stade plus sévère [46].

10-1-Traitements locaux

Il existe des préparations topiques cytolytiques qui ont une action antiproliférative ou chimicodestructive. Les réactions secondaires locales peuvent être sévères et les taux de récurrence sont élevés.

10-1-1-Podophyllotoxine (Condyline®)

Il s'agit d'un antimitotique cytolytique d'origine végétale (extrait de la résine de podophylline, elle-même extraite de racines de *Podophyllum*), provoquant une nécrose des tissus traités, utilisé pour détruire les condylomes acuminés externes. Il est contre-indiqué pendant la grossesse.

10-1-2-5-fluoro-uracile

Cet antimétabolique permet un traitement local assez simple des lésions génitales externes. Il est utilisé à la concentration de 5% et est contre-indiqué pendant la grossesse.

10-1-3-Acide trichloracétique

Il a une action kératolytique et est utilisé à des concentrations de 50 à 85%. Il est aussi efficace que la podophyllotoxine mais peut causer des ulcérations, des cicatrices sur la peau, et des infections secondaires s'il n'est pas appliqué de manière appropriée. Cependant sa non toxicité systémique autorise son utilisation pendant la grossesse

10-1-4-Imiquimod (Aldara®)

Disponible sous forme de crème à la concentration de 5%, il modifie la réponse immunitaire. Sans activité antivirale directe, il agit sur les papillomavirus en stimulant l'immunité cellulaire locale par induction de l'interféron alpha et d'autres cytokines. Il est efficace sur les verrues génitales.

10-2-Traitement systémique

Il consiste à utiliser l'interféron par voie générale et reste limité aux formes diffuses et récidivantes, en particulier chez les immunodéprimés. Les rétinoïdes exercent une activité modulatrice sur les épithéliums pathologiques, favorisant leur différenciation et réduisant leur prolifération. Ils inhibent préférentiellement la prolifération des kératinocytes humains

infectés par HPV 16 en diminuant la transcription des gènes E2, E5, E6 et E7.

10-3-Traitements médicochirurgicaux

Ils comprennent:

La cryothérapie à l'azote liquide

L'électrocoagulation

L'exérèse-curetage des verrues

La vaporisation au laser CO₂.

၅။ အကျဉ်းချုပ်



Figure 5 : *Carte Géographique du Bénin*

1-Cadre d'étude

1-1-La République du Bénin et Cotonou

Situé en Afrique de l'ouest, le Bénin comptait en 2003, 6.918.300 habitants dont 52% de femmes. Les indices de santé reproductive indiquaient cette même année 50% de femmes en âge de procréer et un taux d'utilisation par celles-ci des méthodes modernes de contraception de 7%. L'âge moyen au premier mariage était de 18ans et le taux de fécondité 5,6% [88].

1-2-Cadre d'étude proprement dit

L'étude a eu pour cadre le Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire (LBBM) de la Faculté des Sciences et Techniques (FAST) de l'Université d'Abomey-Calavi. Le laboratoire placé sous la direction du Professeur Ambaliou Sanni se trouve dans l'enceinte de l'Institut des Sciences Biomédicales Appliquées (ISBA) sis à Cotonou. Le laboratoire sert de cadre aux activités de formation théorique et pratique des étudiants; à l'issue des activités de recherche, des publications, des communications et des thèses sont réalisées.

Le Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique de la Faculté des Sciences de la Santé (FSS) de Cotonou a également été impliqué dans l'étude. Placé sous la responsabilité du Professeur Akélé-Akpo Marie-Thérèse, c'est le seul laboratoire du genre au Bénin; il assure le diagnostic histopathologique des lésions (étude des prélèvements biopsiques et des pièces opératoires) et le diagnostic cytopathologique (examen des prélèvements cellulaires exécutés par frottis ou par ponction).

2-Matériel

2-1-Matériel humain

Il est constitué par toutes les femmes venues à la demande d'un médecin traitant au Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique pour un frottis cervical.

2-2Matériel utilisé au Laboratoire d'Anatomie Pathologique

- Spéculum
- Abaisse-langue
- Cytobrush
- Lames porte-objets
- Lamelles couvre-objets
- Alcool à 70° ou laque à cheveux
- Réactifs pour la coloration de Papanicolaou
- Milieu de montage (Eukitt)
- microscope optique binoculaire (Olympus)

2-3-Matériel utilisé au Laboratoire de Biochimie et de Biologie Moléculaire

2-3-1- Réactifs

- PBS(10mM NaH₂PO₄, 0.15 M Na₂HPO₄, 0.15 M NaCl, pH 7,2)
- Protéinase K
- Triton X- 100
- TE (10mM Tris HCl, 1mM EDTA Na₂, pH 8,0)
- Phénol/Chloroforme/Alcool isoamylique (25: 24: 1)
- NaCl 3M pH 6
- Ethanol absolu
- Amorces consensus et spécifiques

- Tampon PCR
- $MgCl_2$
- dNTP
- TBE 1X obtenu à partir du TBE 10X (0,89M Tris base, 0,89M Acide borique, 2mM EDTA Na_2 , pH 8,3)
- Agarose
- Tampon de charge (bleu de bromophénol 0,025%, xylène cyanol 0,025%, glycérol 60%)
- Marqueur de poids moléculaire (ladder)
- Bromure d'éthidium

2-3-2- Consommables

- Tubes Eppendorff
- Cônes
- Micropipettes
- Tubes Eppendorff pour la PCR
- Gants

2-3-3- Appareils

- Centrifugeuse
- Spectrophotomètre (Jenway Genova)
- Thermocycleur (T3 Biometra)
- Cuves d'électrophorèse
- Générateur (Apelex PS 3002)
- Etuve
- Transilluminateur (Vilber Lourmat)
- Appareil photo numérique (Coolpix 5000)

3- Méthodes d'étude

3-1-Type d'étude

Il s'agit d'une étude transversale et descriptive portant sur 256 échantillons de frottis cervicaux.

3-2-Recueil des échantillons

Il a consisté à prélever des cellules cervicales par frottis cervicaux chez toutes les femmes venues au Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologique de Mai à Août 2004. Les prélèvements obtenus ont été congelés à -20°C .

3-3-Réalisation des frottis cervicaux vaginaux

Les cellules de l'exocol ont été prélevées avec un abaisse-langue; le prélèvement uniformément étalé sur une lame porte-objet a été immédiatement fixé avec de l'alcool à 70° .

Le cytobrush a été utilisé pour prélever les cellules de l'endocol en particulier les cellules de la zone de jonction. Ce prélèvement a été également étalé sur une lame porte-objet et immédiatement fixé avec l'alcool à 70° .

Après étalement, le cytobrush a été rincé dans 1ml de PBS contenu dans un tube Eppendorff de 1,5 ml pour la PCR.

Les lames ont été colorées suivant la technique de Papanicolaou et observées au microscope optique.

Le contenu du tube Eppendorff a été centrifugé à 4°C pendant cinq minutes à 5000 tours par minutes. Le surnageant a été jeté et le culot obtenu conservé à -20°C .

3-4-Méthodes relatives à l'étude de l'ADN viral

3-4-1- Extraction de l'ADN viral

Les cellules de la jonction cervicale contenues dans le tube Eppendorff ont été soumises à une lyse par addition de 25µl de protéinase K à 20mg/ml de TE, de 100µl de triton X-100 à 6% et de 50µl de TE toute une nuit à 37°C.

La protéinase K a été ensuite inactivée par chauffage à 97°C pendant dix minutes.

La suspension a été reprise par un volume de phénol/chloroforme/alcool isoamylique (25:24:1).Après 30 secondes d'agitation le mélange a été centrifugé pendant 5 min à 12000 rpm à température ambiante. La phase aqueuse a été récupérée et retraitée par le mélange phénol/chloroforme/isoamylalcool comme décrit ci-dessus. Un volume de chloroforme a été additionné à la phase aqueuse afin d'éliminer le phénol; après centrifugation pendant 5 min à 12000 rpm à température ambiante, la phase aqueuse finale contenant l'ADN a été récupérée. L'ADN a été additionné de 2,5 volumes d'éthanol absolu ,1/10 de volume de NaCl et a été précipité toute la nuit. Après centrifugation du mélange pendant 20 min à 12000 rpm et à 4°C, le surnageant a été renversé et le précipité contenant l'ADN viral a été séché et repris dans 100µl de TE.

3-4-2- Estimation des quantités d'ADN

Elle s'est effectuée par spectrophotométrie dans l'ultraviolet à 260 nm. L'absorption à 280 nm a permis d'estimer la contamination éventuelle de l'extrait par des protéines. Le ratio ($DO_{260\text{ nm}}/DO_{280\text{ nm}}$) a été déterminé. Un échantillon est considéré comme purifié lorsque le ratio est compris entre 1,5 et 1,8.

3-4-3-Amplification des fragments d'ADN par la «Polymerase

Chain Reaction»

➤ Principe

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est une technique décrite en 1985 par Kary Banks Mullis. Elle permet d'amplifier des séquences d'ADN de manière spécifique et d'augmenter de manière considérable la quantité d'ADN dont on dispose initialement.

Cette technique impose de connaître la séquence des régions qui délimitent le segment de l'ADN à amplifier. Ces séquences serviront à synthétiser des oligonucléotides qui auront deux fonctions:

- repérer la partie de l'ADN à amplifier
- servir d'amorce à l'ADN polymérase.

➤ Réalisation pratique

La technique comporte des cycles successifs. Chaque cycle comprend une succession de trois phases:

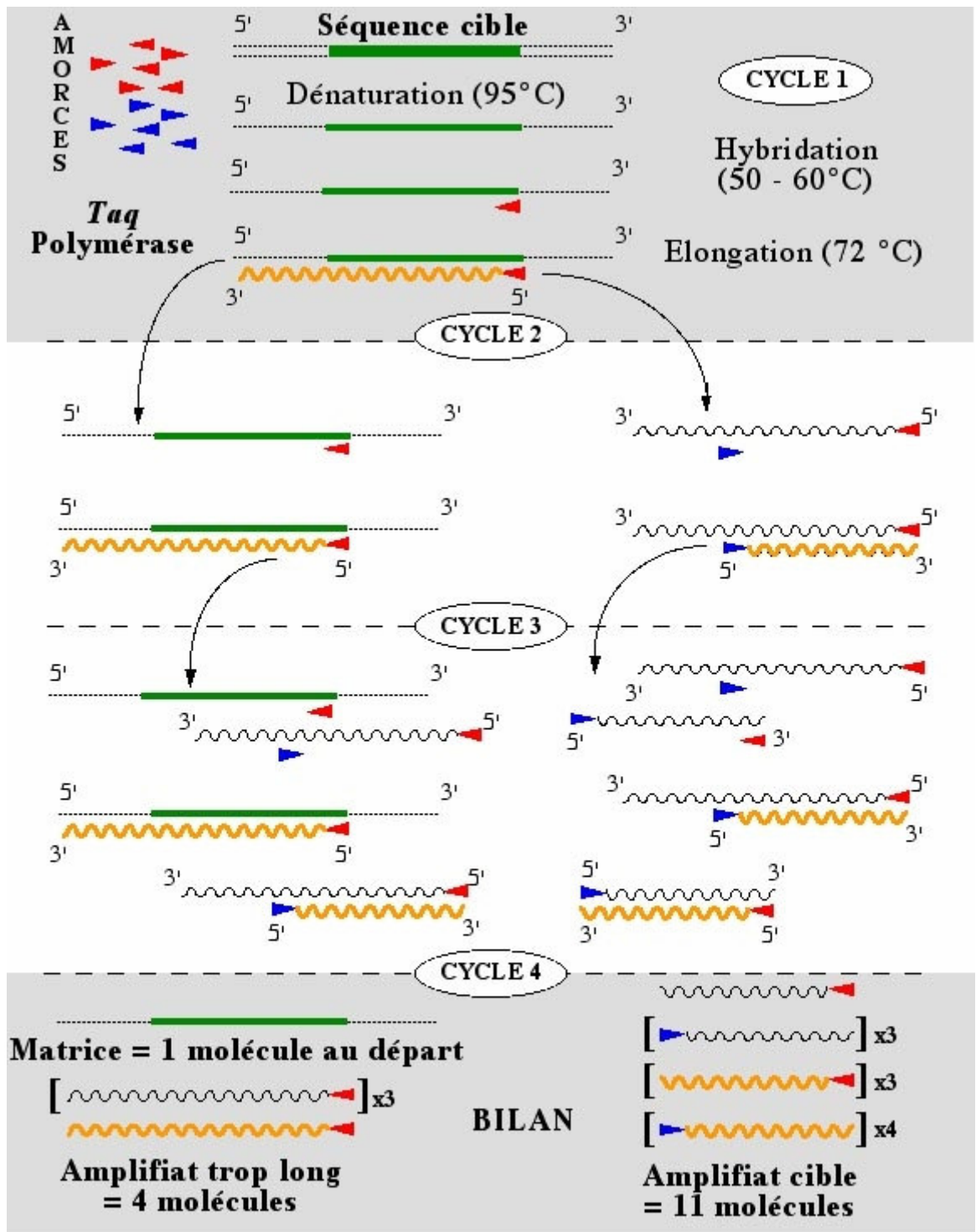
- une phase de dénaturation par la chaleur à 92-95°C pour séparer les deux brins d'ADN
- une phase d'hybridation avec les deux amorces spécifiques.

Leur fixation est rendue possible grâce à un abaissement de la température à 50-55°C. Un des deux oligonucléotides se fixe sur un brin de l'ADN, le second sur l'autre brin.

- une phase d'extension ou d'élongation des amorces par l'ADN polymérase à 70-72°C.

Cette technique a pris un essor considérable depuis qu'il est possible d'utiliser une ADN polymérase non activée par la chaleur. Il s'agit de la Taq polymérase isolée d'une bactérie thermophile *Thermus aquaticus* adaptée à la vie dans les sources chaudes. Elle permet une automatisation de la technique dans les thermocycleurs. Le nombre de cycles est

généralement compris entre 30 et 40, et à la fin de chaque cycle le nombre de brins d'ADN a été multiplié par deux.



LA P.C.R. : UNE AMPLIFICATION SPÉCIFIQUE D'ADN
 d'après Sambrook, Fritsch & Maniatis (1989); modifié par E. Douzery.

Figure 6 : Schéma de la PCR
 Source: www.isem.univ-montp2.fr

3-5-Détection et génotypage des VPH par PCR

Les amorces consensus ont servies à détecter la présence virale. Les types de VPH 6/11, 16, 18, 33 ont été recherchés par PCR avec des amorces spécifiques. Au préalable la qualité des échantillons d'ADN a été vérifiée par PCR; l'amplification du gène β -actine indique que l'ADN est de bonne qualité.

Séquences des amorces β -actine

Séquences nucléotidiques	Taille (pb)
5'-TGACGGGGTCACCCACACTGTGCCCATCTA	600
3'-CTAGAAGCATTGTGCGGTGGACGATGGAGGG	

3-5-1 Détection des VPH par les amorces consensus

La PCR s'est effectuée dans un milieu réactionnel de 50 μ l contenant 100 mM de KCl, 20mM de Tris -HCl pH8, 2 mM de MgCl₂, 2.5 mM de dNTP, 2.5 Unités de *Taq* polymerase, 25 pmoles de chaque amorce et 250ng d'ADN de chaque échantillon. L'ADN a été amplifié dans un thermocycleur pendant 40 cycles. Chaque cycle comporte une phase de dénaturation (2 min à 95°C), une phase d'hybridation (2 min à 55°C), une phase d'élongation (1min 30s à 72°C) et une extension finale (5 min à 72°).

Séquences des amorces consensus

5'- TTTGTTACTGTGGTAGATACTAC-3'
5'- GAAAAATAAACTGTAAATCATA-3'

3-5-2 Détection des VPH par les amorces spécifiques

La réaction s'est effectuée avec des amorces spécifiques de chaque type de VPH dans le même milieu réactionnel que ci-dessus. Au bout de 35 cycles l'ADN a été amplifié. Chaque cycle comporte une phase de dénaturation (2 min à 95°C), une phase d'hybridation (2 min à 55°C), une phase d'élongation (1min 30s à 72°C) et une extension finale (5 min à 72°C).

Séquences des amorces spécifiques

Types de HPV	Séquences nucléotidiques des amorces	Taille (pb)
HPV 6/11	5'-TTGCACTATAGGCGTTAGCTG-3' 5'-ATGTTATGGCAGCACAGTTA-3'	306/303
HPV16	5'- GTGGACCGGTCGATGTATGT-3' 5'- CATGCAATGTAGGTGTATCT-3'	93
HPV 18	5'- CGCCATTTGTAGTTACCTGA-3' 5'- GCAGCACAGAAAACAGTCCA-3'	185
HPV 33	5'- ACTAATTTCTGCAACGTAA-3' 5'- AGTCAAATGGCGACACAAA-3'	119

3-6-Séparation des fragments d'ADN par électrophorèse sur gel d'agarose

L'appareil à électrophorèse est formé d'une plaque en plexiglas placée horizontalement sur un support plat. Un peigne pour former les puits est aligné parallèlement au sommet de la plaque. L'ensemble est relié par des électrodes à un générateur de courant.

De l'agarose a été préparé à une concentration de 1,5% en tampon TBE 1X. La solution d'agarose fondue à la chaleur, refroidie, a été additionnée de 3µl de Bet, un agent s'intercalant entre les brins d'ADN.

La solution a été ensuite versée sur la plaque. Après durcissement du gel, le peigne a été enlevé et le gel durci recouvert de tampon TBE 1X.

15µl de chaque échantillon d'ADN mélangé à quelques microlitres de tampon de charge est déposé dans chaque puits. En parallèle avec les échantillons, un marqueur de poids moléculaire est déposé dans un puits. La migration dure 30 à 45 minutes et se réalise sous une tension électrique de 150V. En gel d'agarose, la migration des fragments d'ADN dépend de la taille du fragment plus que de la charge de celui-ci. Plus le fragment a une taille élevée, moins la migration par rapport au puits d'inclusion sera importante. A l'opposé les fragments de petite taille auront une distance de migration la plus élevée.

3-7- Révélation des fragments d'ADN

Après migration, les fragments séparés ont été observés aux rayons ultraviolets grâce à un transilluminateur. La présence du Bet dans le gel d'agarose permet la révélation des fragments à l'ultraviolet. Une photo de chaque gel a été prise.

3-8-Collecte et analyse des données

La collecte des données relatives à l'étude s'est faite sur la base des bulletins d'analyse des femmes, des résultats de la cytologie et de la

biologie moléculaire. La saisie des données a été faite sur Microsoft World 2000 et l'analyse sur le logiciel SPSS version 11.6. Le test khi deux a été utilisé pour analyser les résultats.

RESULTS

1-Caractéristiques des femmes

1-1-L'âge

Le tableau 1 représente la répartition des femmes par tranches d'âge. Leur âge varie de 20 à 87 ans avec une moyenne de 43 ans et un écart-type de 11,2 ans. La tranche d'âge de 40 à 49 ans est la plus représentée : 41% de l'effectif.

Tableau I : Répartition des femmes par tranches d'âge

TRANCHE D'AGE	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)
20-29 ans	33	13
30-39 ans	70	27
40-49 ans	105	41
> 50 ans	48	19
Total	256	100

1-2-La parité

La répartition des femmes selon leur parité est exposée dans le tableau II. Les femmes ont une parité moyenne de 3,5. Plus des trois-quarts (76,2%) ont une parité supérieure à un. 12,5% des femmes sont primipares et 11,3% nullipares.

Tableau II: Répartition des femmes selon la parité

PARITE	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)
Nullipare (0)	29	11,3
Primipare (1)	32	12,5
Paucipare (2 ,3)	79	31
Multipare (4 ,5)	77	30
Grande multipare >5	39	15,2
TOTAL	256	100

1-3-L'utilisation de méthodes contraceptives

Le taux d'utilisation par les femmes des différentes méthodes contraceptives est représenté dans le tableau III. Plus de quatre cinquième des femmes n'emploient aucune méthode contraceptive. 17,6 % en utilisent et se répartissent comme suit: 13,2% pour les contraceptifs oraux et 4,3% pour les autres formes.

Tableau III: Répartition des femmes selon l'utilisation de méthodes contraceptives

UTILISATION DE CONTRACEPTIFS	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)
Contraceptifs oraux	34	13,2
Autres (DIU, implants, injectable)	11	4,3
Pas de contraception	211	82,4
TOTAL	256	100

1-4-Les aspects des frottis cervico-vaginaux

Les aspects des frottis réalisés chez les femmes sont exposés dans le tableau IV.

Les frottis inflammatoires ont été les plus nombreux: 203 (soit 79,3%). Deux frottis (soit 0,8%) ont présenté une modification architecturale à savoir une dysplasie sévère et un carcinome. Les koilocytes, signes d'une infection à VPH ont été retrouvés dans un seul frottis inflammatoire. Les frottis n'ayant présenté aucune altération cytologique ou frottis propres sont au nombre de 50 (soit 19,5%).

Tableau IV: Répartition des frottis selon leurs aspects

ASPECTS DES FROTTIS	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)
Frottis propres (FP)	50	19,5
Frottis inflammatoires (FI)	203	79,3
Frottis inflammatoire à VPH	1	0,4
Carcinome	1	0,4
Dysplasie sévère	1	0,4
TOTAL	256	100

2-Détection et génotypage des virus oncogènes dans les prélèvements endocervicaux

2-1-La détection et le génotypage

Tous les 256 prélèvements endocervicaux se sont révélés positifs après amplification du gène β -actine par la PCR. Les fragments d'ADN obtenus après migration électrophorétique des dix premiers échantillons sont représentés sur la photo numéro 1.

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 L



Photo1: Fragments d'ADN obtenus après amplification du gène β -actine.

L'échelle de 100 paires de bases a été utilisée comme mesure de taille.

Puits 1 à 10: échantillons d'ADN; L: ladder ou marqueur de poids moléculaire.

La présence virale a été détectée dans 192 prélèvements (soit 75%) avec des amorces consensus.

Parmi ces prélèvements 64 se sont révélés positifs aux types oncogènes 6/11, 16, 18, 33.

Les photos suivantes sont les gels de quelques échantillons réalisés après l'électrophorèse des fragments d'ADN amplifiés.

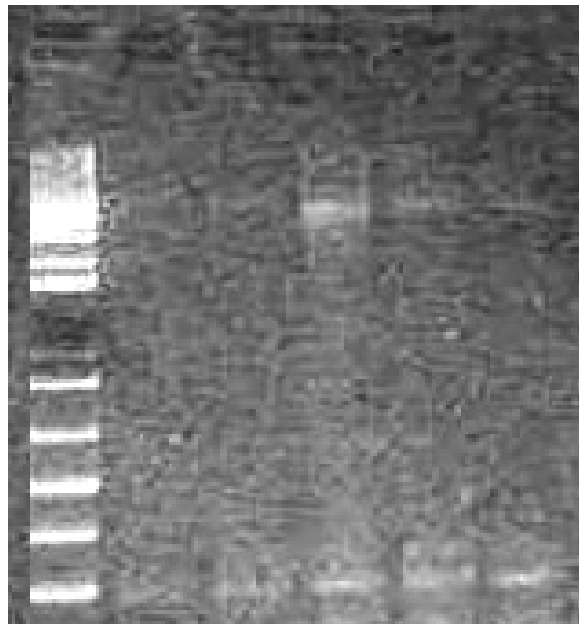


Photo 2: *Fragments d'ADN obtenus après une PCR consensus. Les bandes observées dans les puits indiquent la présence de VPH.*

1 L 2 3



Photo 3: *Fragments d'ADN obtenus après une PCR spécifique. Les bandes observées dans les puits 1, 2 et 3 correspondent respectivement aux types viraux 33, 18 et 6/11. L: ladder ou marqueur de poids moléculaire.*

L 1 2 3

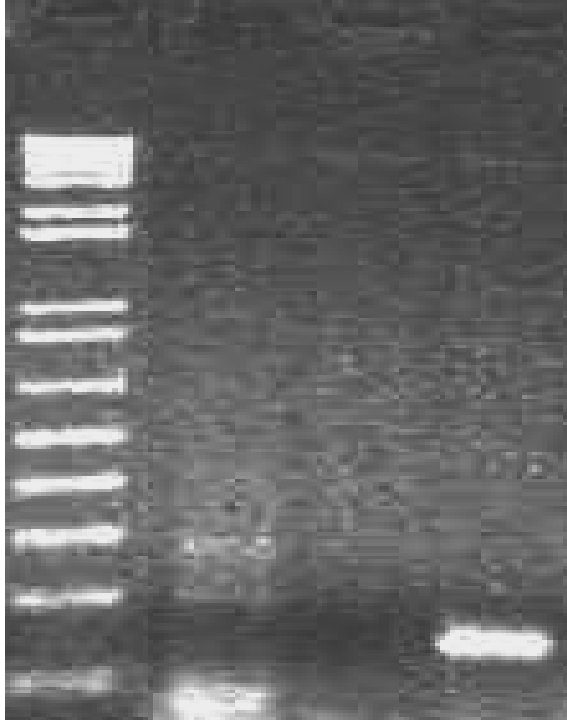


Photo 4: *Fragments d'ADN obtenus après une PCR spécifique. Deux bandes sont observées dans le puits n°1 et correspondent aux types viraux 6/11 et 16. La bande observée dans le puits 3 identifie le type viral 18.
L: ladder ou marqueur de poids moléculaire.*

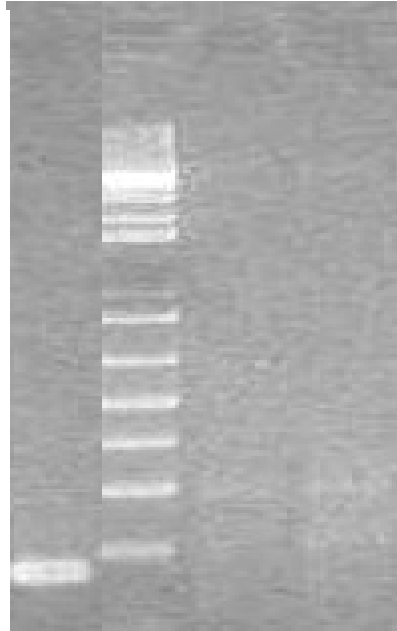


Photo 5: *Fragment d'ADN représentant le type viral 16.*

2-2-Fréquence des VPH oncogènes dans les prélèvements endocervicaux

Un quart des prélèvements s'est révélé positif au génotypage. (Tableau V)

Tableau V: Répartition des échantillons selon les résultats du génotypage

GENOTYPAGE	EFFECTIFS	POURCENTAGE %
Positif	64	25
Négatif	192	75
TOTAL	256	100

2-3-Les types viraux oncogènes

Tableau VI: Répartition des types viraux oncogènes selon leur fréquence

Le tableau VI représente la répartition des échantillons selon les résultats du génotypage.

TYPES VIRAUX ET ASSOCIATIONS	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)
6/11	4	6,2
16	12	18,7
18	6	9,3
33	25	39
6/11+18	2	3,1
6/11+33	4	6,2
6/11+16+33	3	4,7
6/11+18+33	1	1,5
16+18	1	1,5
16+33	2	3,1
18+33	4	6,2
Total	64	100%

Parmi les échantillons VPH positifs nous avons noté une association virale dans 17 cas (soit 26,5%), les associations 6/11+33 et 18+33 étant les plus fréquentes (6,2%).

Les échantillons positifs à un seul type viral sont au nombre de 47(73,4%). Le type 33 a été retrouvé chez 39% des femmes, le type 16 chez 18,7%, le type 18 chez 9,3%, et les types 6/11 chez 6,2%.

3-Corrélation entre la présence virale et l'aspect cytologique des frottis

3-1-Présence virale et aspect des frottis

Les aspects cytologiques des échantillons VPH positifs sont exposés dans le tableau VII. Sur les 50 frottis propres mis en évidence par la cytologie, 12 (soit 24%) se sont révélés positifs à la PCR. 25,2% des frottis inflammatoires se sont révélés positifs à la PCR ainsi que le carcinome. Par contre le frottis inflammatoire à VPH et la dysplasie sévère se sont révélés négatifs. La cytologie seule a permis de révéler la présence de VPH chez une femme sur 256 tandis que la PCR en détecte 64. La différence est significative ($p=0,01$).

Tableau VII: Répartition des frottis selon les résultats du génotypage

	Génotypage Positif	Négatif	Total
Cytologie			
Frottis propres	12	38	50
Frottis inflammatoires	51	152	203
Frottis inflammatoire à VPH	0	1	1
Dysplasie sévère	0	1	1
Carcinome	1	0	1
Total	64	192	256

3-2-Répartition des types viraux selon l'aspect des frottis

Le tableau VIII représente la répartition des types viraux selon l'aspect des frottis. Le type viral 33 est prédominant dans 58,3% des frottis propres et 35,3% des frottis inflammatoires. Les types 6/11 et 18 sont plus retrouvés dans les frottis propres que dans les frottis inflammatoires. Par contre le type 16 n'a été retrouvé que dans 23,5% des frottis inflammatoires. Seules les associations 6/11+33 et 18+33 ont été identifiées dans les frottis propres. Toutes les autres associations ont été retrouvées dans les frottis inflammatoires dans des proportions inférieures à 7%. Le carcinome s'est révélé positif au type viral 18.

Tableau VIII: Répartition des types viraux selon l'aspect des frottis

Types viraux	Frottis propres	Frottis inflammatoires	Carcinome
6/11	1 (8,3%)	3 (5,8%)	0
16	0	12 (23,5%)	0
18	1 (8,3%)	4 (7,8%)	1 (100%)
33	7 (58,3%)	18 (35,3%)	0
6/11+18	0	2 (3,9%)	0
6/11+33	2 (16,6%)	2 (3,9%)	0
6/11+16+33	0	3 (5,8%)	0
6/11+18+33	0	1 (1,9%)	0
16+18	0	1 (1,9%)	0
16+33	0	2 (3,9%)	0
18+33	1 (8,3%)	3 (5,8%)	0
TOTAL	12	51	1

4-Corrélation entre l'âge, la parité, l'utilisation de contraceptifs et la fréquence de VPH

4-1-Fréquence selon les tranches d'âge

La répartition des femmes VPH positives selon les tranches d'âge est représentée dans le tableau IX.

La fréquence de l'infection augmente de façon significative avec l'âge ($p=0,01$) avec un pic chez les femmes âgées de 40 à 49 ans. La fréquence est plus élevée dans la tranche d'âge 40-49 ans.

Tableau IX: Répartition des femmes VPH positives selon les tranches d'âge

TRANCHE D'AGE	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)	Total
20-29 ans	7	21,2	33
30-39 ans	18	25,7	70
40-49 ans	29	27,6	105
50 ans et plus	10	20,8	48
TOTAL	64	25	256

4-2-Fréquence selon la parité

La répartition des femmes VPH positives selon leur parité est représentée dans le tableau X. Une augmentation significative de la fréquence des VPH oncogènes avec la parité a été notée ($p=0,01$).

La fréquence la plus élevée (28,6%) a été retrouvée chez les multipares; la plus faible (17,2%) chez les nullipares.

Tableau X : Répartition des femmes VPH positives selon leur parité

PARITE	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)	Total
Nullipare	5	17,2	29
Primipare	7	21,9	32
Paucipare	20	25,3	79
Multipare	22	28,6	77
Grande multipare	10	25,6	39
TOTAL	64	25	256

4-3-Fréquence selon l'utilisation des contraceptifs

Tableau XI : Répartition des femmes VPH positives selon l'utilisation des contraceptifs

CONTRACEPTIFS	EFFECTIFS	POURCENTAGE (%)	Total
Contraceptifs oraux	11	32,3	34
Autres	1	9,1	11
Pas de contraception	52	24,6	211
TOTAL	64	25	256

La fréquence de portage la plus élevée (32,3%) a été retrouvée chez les femmes utilisant les contraceptifs oraux. Mais la différence entre elles et celles qui n'utilisent pas de méthodes contraceptives n'est pas significative ($p=0,34$). Il n'y a donc pas de relation entre la prise de contraceptifs et l'infection à VPH.

DISCUSSION

Nous nous sommes intéressés à la recherche des VPH oncogènes que sont les types 6/11, 16, 18 et 33 car de nombreuses études ont mis en lumière son intérêt dans le dépistage des lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin. Ils ont été recherchés chez 256 femmes adressées par un médecin pour bénéficier d'un frottis cervical.

1-Fréquence de l'infection à VPH

25% des femmes de notre étude se sont révélées positives aux VPH oncogènes recherchés.

Ce chiffre est en concordance avec le taux de prévalence mondiale de l'infection à VPH oncogènes parmi les femmes qui varie de 2% au Vietnam [1] à 42,8% au Zimbabwe [6].

Il se rapproche des résultats suivants:

-27,4% par Kilasingam et al. [41] aux Etats-Unis

-21,6% par Chaouki et al. [14] au Maroc

Mais il est inférieur aux 33,3% retrouvés au Mali par Bayo et al. [4].

1-1-Infection à un seul type viral

73,4% des femmes de notre étude sont infectées par un seul type viral. Munoz et al. [54] rapportent une proportion de 86,1% de femmes infectées par un seul type viral.

Dans la répartition des types viraux, les fréquences retrouvées dans notre étude diffèrent de celles retrouvées dans la majorité des études portant sur la relation entre le cancer du col et le virus du papillome humain.

En effet, Munoz et al. [54] dans une revue de onze études cas témoins réalisées sur le cancer du col et le virus du papillome ont remarqué que le type viral 16 était le premier type le plus retrouvé dans tous les pays aussi bien dans les cas de cancer que chez les témoins. Dans notre étude le type 16 vient en deuxième position après le type 33.

La fréquence du type 16 dans notre étude (18,7%) se rapproche de celle retrouvée par Cucherousset et al. [17] en France (14,7%). Par contre elle est nettement inférieure aux 24,3% notés par Munoz et al. [54]

Alors qu'il vient en troisième position dans notre étude, le VPH 18 est le deuxième type viral le plus fréquemment retrouvé dans le monde [54]. 9,3% des femmes de notre étude sont positives au type 18; ce chiffre se rapproche des 7,3% observés par Munoz et al. [54].

39% des femmes de notre étude sont positives au type 33 alors que Munoz et al. [54] n'ont noté que 1,5% de femmes infectées par ce type.

Selon les pays, la fréquence du type 33 varie mais il est toujours considéré comme un type à haut risque comme les types 16 et 18; seuls les types 6/11 sont considérés comme des virus à bas risque [54].

1-2 Infection à plusieurs types viraux

26,5% des femmes sont infectées par deux, trois ou quatre types de virus. Munoz et al. [54] ont noté 13,9% de femmes infectées par plusieurs types viraux

Ils ont également noté que les types 16 et 18 étaient fréquemment associés à d'autres types de virus; dans notre étude, c'est le type 33 qui était présent dans toutes les infections multiples.

Les tranches d'âges des femmes, la taille de notre population d'étude et la méthode de détection de l'ADN viral pourraient expliquer les différences observées entre nos estimations et celles décrites dans la littérature.

Ho et al. [33] et Woodman et al. [86] ont remarqué que la présence de plusieurs types viraux était associée à la persistance de l'infection. Cependant les femmes infectées par plusieurs types ne présentent pas plus de risque de développer un cancer que celles infectées par un seul [54]. Dans une infection à types multiples, les virus agissent indépendamment les uns des autres [30].

2-Influence de l'âge dans l'infection à VPH

La fréquence de l'infection chez les femmes âgées de 20 à 29 ans est de 21,2% et est proche de celles retrouvées par plusieurs auteurs:

- 23,6% entre 20 et 29 ans par Cucherousset et al. [17]
- 24% entre 20 et 25 ans par Sellors et al. [64]
- 19,4% entre 25 et 29 ans par Boulanger et al. [11]
- 19,6% entre 25 et 29 ans par Jacobs et al. [37]

Cucherousset et al. [17], Herrero et al. [30], Jacobs et al. [37] ont noté une diminution progressive de la fréquence de l'infection après trente ans. C'est l'inverse qui est observé dans notre étude où entre 30 et 49 ans la fréquence de portage croît. Ceci s'explique par le fait que les femmes VPH positives âgées de plus de 30 ans sont soit des porteuses persistantes du virus ou soit exposées à de nouvelles infections [10].

L'étude de Smith et al. [68] confirme cette observation. Ils ont en effet retrouvé chez des femmes en période de post-ménopause âgées de 45 à 64 ans et ayant bénéficié pendant 7 ans d'une recherche virale, une fréquence de portage de 34%; par ailleurs 24% des femmes étaient porteuses de virus oncogènes à haut risque.

3-Influence de la parité et des contraceptifs oraux dans les infections à VPH

3-1-Influence de la parité

Nous avons constaté une augmentation significative de la fréquence des virus oncogènes avec la parité. Nos observations sont conformes à celles de David et al. [20], Bayo et al. [4], Munoz et al. [53] qui ont rapporté une augmentation du risque de cancer du col chez les multipares.

L'explication probable est donnée par Autier et al. [2] qui pensent que les accouchements multiples maintiennent une zone de transformation sur

l'exocol pendant plusieurs années, facilitant ainsi l'exposition directe au VPH.

Les changements hormonaux induits par la grossesse (augmentation du taux d'œstrogène et de progestérone) semblent avoir une influence sur le risque de persistance ou de progression de l'infection. [53, 65].

3-2-Influence de la contraception orale

L'usage prolongé de la contraception orale pendant au moins 5 ans semble être un co-facteur qui multiplie par quatre le risque de cancer du col de l'utérus chez les femmes VPH positives [14, 51, 67].

L'absence de données sur la durée d'utilisation de la contraception orale, le faible taux d'utilisation des moyens contraceptifs par les femmes ne nous a pas permis de retrouver une relation entre l'infection à VPH et la prise de contraceptifs oraux.

Dans l'état de la population mondiale en 2003 établi par le Fonds des Nations Unies pour la Population, seulement 7% des femmes béninoises en âge de procréer utilisent les méthodes modernes de contraception.

4-Présence virale et résultats cytologiques

Le frottis inflammatoire à VPH et la dysplasie sévère retrouvés dans notre étude se sont révélés négatifs au typage viral. La présence virale ayant été détectée dans ces frottis, le résultat négatif du typage peut être expliqué par le fait que les virus présents ne sont pas oncogènes ou ne font pas partie des types viraux que nous avons recherchés.

4-1-Fréquence de l'infection chez les femmes à cytologie normale

24% des femmes ayant eu des frottis normaux sont VPH positives. Ce chiffre est supérieur aux fréquences suivantes retrouvées également chez des femmes à cytologie normale:

10,8% par Melkert et al. [48]

10,2% par Riethmuller et al. [59]

19,5% par Sellors et al. [64]

Par contre il est inférieur aux 31% retrouvés par Cucherousset et al. [17].

4-2-Fréquence dans le carcinome

Un seul carcinome positif au type 18 a été trouvé dans notre étude. Nous ne pourrions donc pas faire une comparaison réaliste avec la prévalence observée par d'autres auteurs dans les carcinomes. Toutefois David et al. [20] ont détecté le type 18 dans 13,7% des carcinomes invasifs et 7,7% des carcinomes in situ.

4-3-Fréquence dans les frottis inflammatoires

25,2% des femmes porteuses de VPH oncogènes ont des frottis inflammatoires. Cette prévalence est inférieure aux 38,1% observés dans les travaux de Castle et al. [13]. Les polynucléaires neutrophiles caractérisent les frottis inflammatoires et il semble que l'inflammation des cellules cervicales associée à une présence virale oncogène contribue à la progression des infections à VPH en lésions de haut grade. [13]

4-4-Les limites de la détection des VPH oncogènes

Nos résultats et ceux de la littérature confirment que la cytologie seule ne suffit plus pour détecter les lésions précancéreuses du col utérin. La recherche et le typage des VPH oncogènes sont indispensables surtout qu'il est maintenant clairement établi que l'infection par des VPH de types oncogènes est une cause nécessaire quoique non suffisante pour la genèse du cancer du col utérin. A ce titre, il faut rappeler le travail de Rozendaal et al.[61] qui ont démontré que les femmes avec des frottis normaux porteuses de VPH oncogènes avaient un risque 116 fois plus élevé de développer une lésion de haut grade, comparées aux femmes VPH négatives.

Malgré les bénéfices apportés par la recherche des VPH oncogènes, la détection d'un type de virus ne signifie pas toujours la présence de lésion. En effet Cuschieri et al. [18], Ho et al. [33] ont remarqué que la plupart des femmes infectées par un type spécifique de VPH ne seront plus détectées positives pour ce même type 6 à 12 mois plus tard.

Par ailleurs Ho et al. [33] dans leur étude prospective portant sur une population d'étudiantes a constaté que chez 70% d'entre elles l'ADN viral n'est plus détectable dans les 12 mois qui suivent l'infection par le VPH même par les techniques les plus sensibles de la PCR. Après 18 mois, l'infection a disparu chez plus de 80% des étudiantes. C'est donc la persistance de l'infection à VPH oncogènes qui est déterminante dans le développement, le maintien et la progression des lésions précancéreuses et cancéreuses du col utérin [32, 58].

Dans l'interprétation des données sur la durée des infections à VPH, la persistance est définie comme la détection du même type de virus deux ou plusieurs fois pendant une période donnée [3]. Cependant il n'existe pas de consensus sur le temps au bout duquel une infection peut être considérée comme persistante. Plusieurs auteurs indiquent une durée moyenne d'un à deux ans. [25, 60, 86].

D'autres questions sur l'histoire naturelle des infections à VPH demeurent toujours posées et les réponses apportées par les auteurs ne sont pas unanimes. C'est le cas de l'influence du type viral, oncogène ou non, sur la durée de l'infection. Selon Richardson et al. [60], la durée de l'infection est similaire, que les virus soient oncogènes ou non. Par contre pour Franco et al. [25], Ho et al. [33] les infections causées par un type viral oncogène durent plus longtemps que celles induites par un type non oncogène et le type 16 a une clairance particulièrement plus longue que les autres types, qu'ils soient oncogènes ou non.

De plus, dans les cas où le virus est indétectable, il n'est pas certain que le virus soit déjà complètement éliminé ou qu'il soit en phase de latence

maintenu à un taux en dessous du seuil détectable par les tests de typage actuels.

Il n'est également pas certain que les infections détectées après une période donnée soient des infections persistantes ou en cours d'élimination.

Au vu de toutes ces incertitudes, Cuzick et al. [19], Stoler [72], Wright et al. [85] recommandent l'utilisation des tests de typage associés à la cytologie après 30 ans. Chez les femmes VPH positives dont la cytologie est normale, le dépistage annuel est recommandé. Selon Meijer et al. [47], les femmes ayant eu des frottis normaux et un test VPH négatif, pourraient être suivies tous les 8 ans.

ලෝකයේ
වි
විකල්ප
විකල්ප

CONCLUSION

Au terme de notre étude réalisée au Bénin portant sur la détection et le génotypage du VPH par PCR à partir de prélèvements endocervicaux obtenus chez 256 femmes , nous pouvons retenir que :

- ❖ La fréquence générale de l'infection est de 25%. Elle augmente avec l'âge et la parité. Bien que 32,5% des femmes VPH positives utilisent des contraceptifs oraux, l'infection à VPH n'est pas liée à la prise des contraceptifs oraux.
- ❖ Les types viraux oncogènes 33, 16, 18 et 6/11 ont été respectivement retrouvés chez 39%, 18,7%, 9,3% et 6,2% des femmes.
- ❖ La PCR permet de détecter de façon précoce la présence de virus oncogènes même chez les femmes à cytologie normale.

RECOMMANDATIONS

Cette étude bien que n'ayant pas porté sur une large population féminine n'en demeure pas moins intéressante. Le rôle oncogène de certains papillomavirus doit amener les autorités sanitaires du Bénin à revoir les méthodes actuelles de dépistage en y incluant les méthodes moléculaires dont la PCR. Cela nécessite une étude des aspects épidémiologiques des infections à papillomavirus dans la population générale, une évaluation coût- bénéfice de ces méthodes en termes économiques, une implication des praticiens (gynécologues, sages-femmes) et une sensibilisation des femmes sur l'intérêt à se faire dépister.

REFERENČES
BIBLIOTHECA

1. **Anh PT, Hieu NT, Herrero R et al.** Human papillomavirus infection among women in South and North Vietnam. *Int J Cancer* 2003; **104**: 213-20.
2. **Autier P, Coibion M et al.** Transformation zone location and intraepithelial neoplasia of the cervix uteri. *Br J Cancer* 1996; **74**: 488-90.
3. **Baseman JG, Koutsky LA.** The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol* 2005; **32**: 16-24.
4. **Bayo S, Bosch FX, Munoz N et al.** Risk factors of invasive cervical cancer in Mali. *Int J Epidemiol* 2002; **31**: 202-9.
5. **Bernard HU.** The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J Clin Virol* 2005; **32**: 1-6.
6. **Blumenthal PD, Gaffikin L, Chirenje ZM et al.** Adjunctive testing for cervical cancer in low resource settings with visual inspection, HPV, and the Pap smear. *Int J Gynaecol Obstet* 2001; **72**: 47-53.

7. **Bosch FX, Manos MM, Munoz N, Sherman M, Jansen AM, Peto J, et al.** Prevalence of human papillomavirus in cervical cancer: a worldwide perspective. International Biological Study on Cervical Cancer (IBSCC) Study Group. *J Natl Cancer Inst* 1995; **87**: 796-802.

8. **Bosch FX, Rohan T, Schneider A, Frazer I, Pfister H, Castellsague X, et al.** Papillomavirus research update: highlights of the Barcelona HPV 2000 international papillomavirus conference. *J Clin Pathol* 2001; **54**: 163-75.

9. **Bosch FX, Lorincz A, Munoz N, Meijer CJ, Shah KV.** The causal relation between human papillomavirus and cervical cancer. *J Clin Pathol* 2002; **55**: 244-65.

10. **Bosch FX, de Sanjose S.** Chapter 1: Human papillomavirus and cervical cancer- burden and assessment of causality. *J Natl Cancer Inst Monogr* 2003; **31**: 3-13.

11. **Boulanger JC, Sevestre H, Bauville E et al.** Epidémiologie de l'infection à HPV. *Gynécol Obstét & Fertilité* 2004; **32**: 218-223.

12. **Cason J, Mant C.** High-risk mucosal human papillomavirus infections during infancy & childhood. *J Clin Virol* 2005; **32S**: S52-S58.

13. **Castle P, Hillier L, Rabe L et al.** An association of cervical inflammation with high-grade cervical neoplasia in women infected with oncogenic Human Papillomavirus (HPV). *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention* 2001; **10**: 1021-27.

14. **Chaouki N, Bosch FX, Munoz N et al.** The viral origin of cervical cancer in Rabat, Morocco. *Int J Cancer* 1998; **75**: 546-54.

15. **Clifford GM, Smith JS, Franceschi S.** Comparison of HPV type distribution in high-grade cervical lesions and cervical cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2003; **89**: 101-105.

16. **Crook T, et al.** Degradation of p53 can be targeted by HPV E6 sequences distinct from those required for p53 binding and trans-activation. *Cell* 1991; **67**: 547-556.

17. **Cucherousset J, Bory J, Nazeyrollas, et al.** Intérêt du typage HPV dans le dépistage primaire du cancer du col: une expérience sur une série de 10 569 femmes. *Gynécologie Pratique* 2003; **153**: 8-16.

18. **Cuschieri KS, Cubie HA, Whitley MW, et al.** Multiple high-risk HPV infections are common in cervical neoplasia and young women in a cervical screening population. *J Clin Pathol* 2004; **57**: 68-72.
19. **Cuzick J, Beverley E, Ho GY et al.** HPV testing in primary screening of older women. *Br J Cancer* 1999; **81**: 554-8.
20. **David BT, Qin Q et al.** Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. II. Risk factors for in situ and invasive squamous cell cervical carcinomas. *Am J Epidemiol* 2001; **153**: 732-9.
21. **Douvier S, Dalac S.** Infections à papillomavirus: Human papillomavirus. *EMC-Maladies Infectieuses* 2004; **1**: 235-261.
22. **Etienne J, Clauser E.** *Biochimie Génétique / Biologie Moléculaire*, 7^e édition, Masson, Paris, 2001, 423 pages.
23. **Evander M, Frazer IH, Payne E, Qi YM, Hengst K, McMillan NA.** Identification of the α_6 integrin as a candidate receptor for papillomaviruses. *J Virol* 1997; **71**: 2449-2456.

24. **Felix JC, Wright TC.** Analysis of lower genital tract lesions clinically suspicious for condylomata using in situ hybridization and the polymerase chain reaction for the detection of human papillomavirus. *Arch Pathol Lab Med* 1994; **118**: 39-43.
25. **Franco EL, Villa LL, Sobrinho JP, Prado JM et al.** Epidemiology of acquisition and clearance of cervical human papillomavirus infection in women from a high-risk area for cervical cancer. *J Infect Dis* 1999; **180**: 1415-23.
26. **Gaarenstroom KN, Melkert P, et al.** Human papillomavirus DNA genotypes: prognostic factors for progression of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Gynecol Cancer* 1994; **4**: 73-8.
27. **Golijow CD, Abba CD, Mourón SA, et al.** *Chlamydia trachomatis* and Human papillomavirus infections in cervical disease in Argentine women. *Gynecol Oncol* 2005; **96**: 181-186.
28. **zur Hausen H.** Molecular pathogenesis of cancer of the cervix and its causation by specific human papillomavirus types. *Curr Top Microbiol Immunol* 1994; **186**: 131-56.

29. **zur Hausen H.** Roots and perspectives of contemporary papillomavirus research. *J Cancer Res Clin Oncol* 1996; **122**: 3-13.
30. **Herrero R, Hildensheim A, Bratti C, Sherman ME et al.** Population-based study of human papillomavirus infection and cervical neoplasia in rural Costa Rica. *J Natl Cancer Inst* 2000; **92**: 464-74.
31. **Hildensheim A, Mann V, Brinton LA, Szklo M et al.** *Herpes simplex* virus type 2: a possible interaction with human papillomavirus type 16/18 in the development of invasive cervical cancer. *Int J Cancer* 1991; **49**: 335-40.
32. **Ho GY, Burk RD, Klein S et al.** Persistent genital human papillomavirus infection as a risk factor for persistent cervical dysplasia. *J Natl Cancer Inst* 1995; **187**: 1365-71.
33. **Ho GY, Bierman R, Beardsley L, Chang CJ, Burk R.** Natural history of cervicovaginal Papillomavirus infection in young women. *N Engl J Med* 1998; **338**: 423-8.

34. **Ho GY, Studentsov YY, Bierman R, Burk RD.** Natural history of human papillomavirus type 16 virus-like particle antibodies in young women. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2004; **13**: 110-6.
35. **Howley PM.** *Papillomaviridae and their replications.* In: Fields BN, Knipe D, editors, *Virology.* New York: Raven Press; 1990. 1625-50.
36. **John Doorbar.** The papillomavirus life cycle. *J Clin Virol* 2005; **32S**: S7-S15.
37. **Jacobs MV, Walboomers JMM et al.** Distribution of 37 mucosotropic HPV types in women with cytologically normal cervical smears: the age-related patterns for high-risk and low-risk types. *Int J Cancer* 2000; **87**: 221-27.
38. **Joyce JG, Tung JS, Przysiecki CT, Cook JC, Lehman ED, Sands JA, et al.** The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. *J Biol Chem* 1999; **274**: 5810-22.
39. **Kjaer SK, Chackerian B, van den Brule AJ, Svare EI, Paull G, Walboomers JM, et al.** High-risk human papillomavirus is sexually

transmitted: evidence from a follow-up study of virgins starting sexual activity (intercourse). *Cancer Epidemiol Biomark Prev* 2001; **10**: 101-6.

40.**Koutsky LA, Holmes KK, Critchlow CW et al.** A cohort study of the risk of cervical intraepithelial neoplasia grade 2 or 3 in relation to papillomavirus infection. *N Engl J Med* 1992; **327**: 1272-8.

41.**Kulasingam SL, Hughes JP, Kiviat NB, et al.** Evaluation of human papillomavirus testing in primary screening for cervical abnormalities: comparison of sensitivity, specificity, and frequency of referral. *JAMA* 2002; **288**: 1749-57.

42.**Lacey CJ.** Genital warts in children. In: Lacey CJ editor, Papillomavirus reviews: current research on papillomaviruses. *Leeds: Leeds University Press*; 1996.291-6.

43.**Lechner MS, Laimins LA.** Inhibition of p53 DNA binding by human papillomavirus E6 proteins. *J Virol* 1994; **68**: 4262-4273.

44.**Lorincz AT, Reid R, Jenson AB, Greeberg MD, et al.** Human papillomavirus infection of the cervix: relation risk association of 15 common anogenital types. *Obstet Gynecol* 1992; **79**: 328-37.

45. **Mardh PA, Tchoudomirova K, Elshibly S, Hellberg D.** Symptoms and signs in single and mixed genital infections. *Int J Gynecol Obstet* 1998; **63**: 145-52.
46. **Margaret Smith.** Genital Human Papillomavirus Infections – Current and Prospectives Therapies. *J Natl Cancer Inst Monographs.* No **31**, 2003. 117- 124.
47. **Meijer CJ, Helmerhorst, Rozendaal L et al.** HPV typing and testing in gynaecological pathology: has time come? *Histopathol* 1998; **33**: 83-6.
48. **Melkert PWJ, Hopman E, Van Der Brule ACJ.** Prevalence of HPV in cytomorphologically normal cervical smears, as determined by the PCR, is age dependant. *Int J Cancer* 1993; **53**: 919-23.
49. **Melnick J.** Papovavirus group. *Science* 1962; **135**: 1128-30.
50. **Miller RL, Gerster JF, Owens ML, Slade HB, Tomai MA.** Imiquod applied topically: a novel immune response modifier and new class of drug. *Int J Immunopharmacol* 1999; **21**: 1-4.

51. **Moreno V, Bosch FX, Munoz N et al.** Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002; **359**: 1085-192.
52. **Münger K, Baldwin A, Edwards KM, et al.** Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis (Minireview). *J Virol* 2004; **78**: 11451-11460.
53. **Munoz N, Franceschi S, Bosetti C et al.** Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 2002; **359**: 1093-101.
54. **Munoz N, et al.** Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer. *N Engl J Med* 2003; **348**: 518-527.
55. **Nobbenhuis MA, Meijer CJ, van der Brule AJ, Rozendaal L et al.** Addition of high-risk HPV testing improves the current guidelines on follow-up after treatment for cervical intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 2001; **84**: 796-801.

56. **Parkin DM, et al.** Estimating the world cancer burden: Globocan. *Int J Cancer* 2000; **94**: 153-156.
57. **Parkin DM, Ferlay J, Hamdi-Chérif M, et al.** Cancer in Africa: Epidemiology and prevention. IARC Scientific Publications No. 153 IARC Press Lyon 2003.
58. **Remmink AJ, Walboomers JMM et al.** The presence of persistent high-risk HPV genotypes in dysplastic cervical lesions is associated with progressive disease: natural history up to 36 months. *Int J Cancer* 1995; **61**: 306-11.
59. **Riethmuller D, Gray C, Bertrand X, Bettinger D et al.** Genital human papillomavirus infection among women recruited for routine cervical cancer screening or for colposcopy determined by HC2 and PCR. *Diagnostic Mol Pathol* 1999; **8**: 152-64.
60. **Richardson H, Kelsall G, Tellier P, et al.** The natural history of type-specific human papillomavirus infections in female university students. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2003; **12**: 485-90.
61. **Rozendaal L, Walboomers JMM, Van Der Linden JC et al.** PCR-based high-risk HPV test in cervical cancer screening gives objective

risk assessment of women with cytomorphologically normal cervical smears. *Int J Cancer* 1996; **68**: 766-9.

62. **Rylander E, Ruusuvaara L, Almstromer MW, Evander M, Wadell G.** The absence of vaginal human papillomavirus 16 DNA in women who have not experienced sexual intercourse. *Obstet Gynecol* 1994; **83 (5 Pt)**: 735-7.

63. **Schah KV, Howley PM.** *Papillomavirus*. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, editors, *Fields virology*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1996; 2077-109.

64. **Sellors JW, Lorincz AT, Mahony JB, Mielzynska I et al.** Comparison of self-collected vaginal, vulvar and urines samples with physician collected cervical samples for human papillomavirus testing to detect high-grade squamous intraepithelial lesions. *CMAJ* 2000; **163**: 513-8.

65. **Sethi S, Muller M, Schneider A et al.** Serologic response to the E4, E6 and E7 proteins of human papillomavirus type 16 in pregnant women. *Am J Obstet Gynecol* 1998; **178**: 360-4.

66. **Smith JS, Munoz N, Herrero R, Eluf-Neto J, Ngelangel C, Franceschi S, et al.** Evidence for *Chlamydia trachomatis* as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J Infect Dis* 2002; **185**:324-31.
67. **Smith J, Green J et al.** Cervical cancer and use of hormonal contraceptives: a systematic review. *Lancet* 2003; **361**: 1159-67.
68. **Smith EM, Johnson SR et al.** Persistent HPV infection in postmenopausal age women. *Int J Gynecol Obstet* 2004; **87**: 131-37.
69. **Sonnex C, Strauss S, Gray JJ.** Detection of human papillomavirus DNA on the fingers of patients with genital warts. *Sex Transm Infect* 1999; **75**: 317-9.
70. **Sotlar K, et al.** Detection of high-risk human papillomavirus E6 and E7 oncogene transcripts in cervical scrapes by nested RT-polymerase chain reaction. *J Med Virol* 2004; **74**: 107-116.
71. **Soton D.** Evaluation de l'utilité et de la faisabilité du dépistage du cancer du col utérin au Bénin (à propos de 2.438 frottis cervico-vaginaux effectués entre 1985 et 1990 à Cotonou) Thèse Med. Cotonou 1990 No 513.

72. **Stoler M.** Advances in cervical screening technology. *Med Pathol* 2003; **13**: 275-84.
73. **Strauss MJ, Bunting H, Melnick JL.** Virus-like particles and inclusion bodies in skin papillomas. *J Invest Dermatol* 1950; **15** : 433-43.
74. **Sun CA, Lai HC, Chang CC, Neih S, Yu CP, Chu TY.** The significance of human Papillomavirus load in prediction of histologic severity and size of squamous intraepithelial lesions of uterine cervix. *Gynecol Oncol* 2001; **83**: 95-9.
75. **Tenti P, Zappatore R, Migliora P, et al.** Perinatal transmission of human papillomavirus from gravidas with latent infections. *Obstet Gynecol* 1999; **93**: 475-479.
76. **Tseng CJ, Liang CC, et al.** Perinatal transmission of human papillomavirus in infants: Relationship between infection rate and mode of delivery. *Obstet Gynecol* 1998; **91**: 92-96.
77. **Ullmann EV.** On the aetiology of the laryngeal papilloma. *Acta Otolaryngol* 1923; **5**: 317-334.

78. **de Villiers EM, Lavergne D, McLaren, Benton EC.** Prevalence of papillomavirus types in non-melanoma carcinomas of the skin in renal allograft recipient. *Int J Cancer* 1997; **73**: 356-61.
79. **de Villiers EM.** Taxonomic classification of papillomaviruses. *Papillomavirus Rep.* 2001; **12**: 57-63.
80. **de Villiers EM, Fauquet C, Broker TR, Bernard HU, zur Hausen H.** Classification of papillomaviruses. *Virology* 2004; **324**: 17-27.
81. **Walboomers JM, et al.** Human papillomavirus is a necessary cause of invasive cervical cancer worldwide. *J Pathol* 1999; **189**: 12-19.
82. **Weinberg RA.** The retinoblastoma protein and cell cycle control. *Cell* 1995; **81**: 323-330.
83. **Weissenbacher ER, Schneider A, Gissmann L, Gross G, Heinrich J, et al.** Recommendations for the diagnosis and treatment of HPV infections of the female tract. *Eur J Infect Immunol Dis Obstet Gynecol* 2001; (**suppl. 2**): 1-2.
84. **Werness BA, et al.** Association of human papillomavirus types 16 and 18 E6 proteins with p53. *Science* 1990; **248**: 76-79.

85. **Wright TC, Lorincz AT, Ferris DG et al.** Reflex human papillomavirus deoxyribonucleic acid testing in women with abnormal Papanicolaou smears. *Am J Obstet Gynecol* 1998; **178**: 962-6.
86. **Woodman CB, Collins S, Winter H, Bailey A, Ellis J, Prior P, et al.** Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 2001; **357**: 1831-6.
87. **Ylitalo N, Sorenso P, Josefson AM, Magnusson PK, Andersen PK, Ponten J, et al.** Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ. *Lancet* 2000; **355**: 2194-8.
88. **<http://www.unfpa.org/swp/swpmain.htm>** Etat de la population mondiale en 2003 (Fonds des Nations Unies pour la Population).

FICHE SIGNALÉTIQUE

Prénoms et Nom: Aïchatou Carole EYISSE

Titre: Diagnostic Moléculaire du Virus du Papillome Humain dans les prélèvements endocervicaux au Bénin.

Année Universitaire: 2004 – 2005

Pays d'origine: République du Bénin

Ville de soutenance: Bamako (République du Mali)

Lieu de dépôt: Bibliothèque de la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie de l'Université de Bamako.

Secteurs d'intérêt: Virologie, Anatomie pathologique.

RESUME

L'infection par le Virus du Papillome Humain (VPH) est une cause nécessaire pour le développement du cancer du col. C'est la raison pour laquelle notre étude réalisée au Bénin a porté sur la détection et le génotypage du VPH à partir de prélèvements endocervicaux recueillis chez 256 femmes. Par la technique de la Polymerase Chain Reaction, les types viraux 6/11, 16, 18 et 33 ont été recherchés.

La fréquence générale de l'infection est de 25%. Elle augmente avec l'âge et la parité mais n'est pas liée à la prise de contraceptifs oraux.

Les types viraux oncogènes 33, 16, 18 et 6/11 ont été respectivement retrouvés chez 39%, 18,7%, 9,3% et 6,2% des femmes.

La PCR permet de détecter de façon précoce la présence de virus oncogènes même chez les femmes à cytologie normale.

Mots clés: VPH, prélèvements endocervicaux, diagnostic, PCR.

SERMENT DE GALIEN

Je jure en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

D'exercer dans l'intérêt de la Santé publique ma profession, avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

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

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

Je le jure !

DIAGNOSTIC MOLECULAIRE DU VIRUS DU PAPILLOME HUMAIN DANS LES PRELEVEMENTS ENDOCERVICAUX AU BENIN

THESE DE PHARMACIE

RESUME

L'infection par le Virus du Papillome Humain (VPH) est une cause nécessaire pour le développement du cancer du col. C'est la raison pour laquelle notre étude réalisée au Bénin a porté sur la détection et le génotypage du VPH à partir de prélèvements endocervicaux recueillis chez 256 femmes. Par la technique de la Polymerase Chain Reaction, les types viraux 6/11, 16, 18 et 33 ont été recherchés.

La fréquence générale de l'infection est de 25%. Elle augmente avec l'âge et la parité mais n'est pas liée à la prise de contraceptifs oraux.

Les types viraux oncogènes 33, 16, 18 et 6/11 ont été respectivement retrouvés chez 39%, 18,7%, 9,3% et 6,2% des femmes.

La PCR permet de détecter de façon précoce la présence de virus oncogènes même chez les femmes à cytologie normale.

Mots clés: VPH, prélèvements endocervicaux, diagnostic, PCR.