

République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة أبو بكر بلقايد- تلمسان
Université ABOUBEKR BELKAID – TLEMEN
كلية علوم الطبيعة والحياة، وعلوم الأرض والكون
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, et Sciences de la Terre et de l'Univers
Département Biologie



MÉMOIRE

Présenté par

KALAJDI Nouha Djazia & HAMMOUDI Ikhlass Meryem

En vue de l'obtention du

Diplôme de MASTER en Biologie

Option : Microbiologie fondamentale

Thème

**Étude de l'impact de la coinfection par le papillomavirus humain
et l'Epstein Barr virus dans les cancers colorectaux**

Soutenu le Juin 2022, devant le jury composé de :

Présidente	Hassaine H.	Professeur	Université de Tlemcen
Encadrant	Boublenza L.	Maître de conférences A	Université de Tlemcen
Examinatrice	Bellifa S.	Maître de conférences A	Université de Tlemcen

Année universitaire 2021/2022

Remerciements

Avant tout, nous remercions « Allah » le Tout Puissant de nous avoir donné la force de réaliser ce travail, que nous souhaitons à la hauteur de nos espérances si Dieu le veut.

Nous tenons à remercier chaleureusement notre encadrante **Mme BOUBLENZIA Lamia**, qui rien n'aurait été possible sans sa présence, pour laquelle nous exprimons notre profonde gratitude d'avoir accepté de diriger ce travail. On vous remercie infiniment, non seulement pour votre encadrement actif mais aussi pour votre dévouement, vos précieux conseils qui nous ont permis d'enrichir ce travail, votre soutien et encouragements, votre disponibilité responsable et votre suivi continué tout au long de la préparation et l'aboutissement de ce mémoire, sans oublier votre extrême gentillesse. Merci pour tout ce que vous nous avez appris et apporté.

Nous adressons nos sincères remerciements à **Mme HASSAINE Hafida** qui nous a fait l'honneur de présider ce jury de soutenance. Nous exprimons vivement nos remerciements à **Mme BELLIFA Samia**, pour avoir accepté d'examiner ce travail et faire partie de ce jury de soutenance. Veuillez accepter tout notre respect et gratitude.

Toutes nos considérations à nos dignes et respectables enseignants du département de biologie qui méritent autant d'égard et de reconnaissance pour nous avoir donné le meilleur d'eux-mêmes et contribué à notre formation durant ces cinq années.

Enfin, nous tenons à remercier nos précieux collègues et amis et tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

« L'esprit oublie toutes les souffrances quand le chagrin a des compagnons et que l'amitié le console »

-William SHAKESPEARE

DÉDICACE

Avec amour et affection, je dédie ce travail

À mes très chers parents, à qui je dois cette réussite, pour l'éducation et les sacrifices innombrables qu'ils m'ont prodigué. Toute l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers vous. Vous avez toujours été mon école de patience, de confiance et surtout d'espoir et d'amour. Vous êtes et vous resterez pour moi une référence, la lumière qui illumine mon chemin. Puisse Dieu, le tout puissant vous combler de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.

*À ma très chère mère **Nawel** qui a toujours veillé sur moi, tu as guetté mes pas et tu m'as couvé de tendresse, ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études. Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours.*

*À mon très cher père **Djamel**, tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es. Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité....*

*À mon très cher frère **Adil** et ma très chère sœur **Farah**, qui n'ont cessé d'être des exemples de persévérance, de courage et de générosité pour moi. Vous m'avez soutenu, réconforté et encouragé. Puissent nos liens fraternels se consolider et se pérenniser encore plus. À mon adorable belle-sœur **Dounia**, à qui je souhaite une très belle réussite et à mon beau-frère **Yacine** que j'estime beaucoup et je remercie pour l'aide qu'il m'a apporté.*

*À ma nièce adorée **Nelia**, tu as apporté beaucoup de bonheur à notre famille. Tes petites mains, ton envie de parcourir le monde, ton enthousiasme, ton sourire, tes yeux brillants sont admirables. Je t'aime ma princesse.*

À ma très chère grand-mère, notre bénédiction, que dieu vous garde pour nous.

*À mes chères amies proches **Aya, Hidayet, Samia, Lilia, Hadjer, Amel** et **Cherifa** et mes chers cousins et cousines, je suis contente que nous ayons passé tant de souvenirs ensemble.*

À tous ceux qui vont lire ce mémoire.

Djazia

DÉDICACE

Je dédie ce travail

*À ma chère mère **Nacera**, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur, que dieu la procure bonne santé et longue vie.*

*À mon cher père **Djamel**, mon bras droit, mon exemple éternel, mon soutien moral, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, que ce travail traduit ma gratitude et mon affection. Que dieu le protège.*

*À mon cher frère et ma chère soeur : **nadir** et **firdaouss** qui n'ont pas cessée de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mon chemin.*

*À mes chères amies proches : **abir**, **nessrine**, **ahlem**, **chaimaa** Nous sommes restés amis dans les hauts et les bas de nos vies. Je veux que vous sussiez combien je chéris mon amitié avec vous. Je suis vraiment chanceuse de vous avoir à mes côtés.*

*A la famille **Meziane**.*

*A mon très chère binôme **djazia***

Je te souhaite une vie heureuse pleine de succès et de joies.

*A tous ceux qui j'aime.
Merci !*

Ikhlass

ملخص

سرطان القولون والمستقيم (CCR) يعد ثالث أكثر أنواع السرطان شيوعاً في معظم البلدان. إنه كذلك ذات الصلة بعدة عوامل خطر، بما في ذلك العدوى الفيروسية، لا سيما عن طريق فيروس الورم الحليمي البشري عالي الخطورة (HPV-HR) وفيروس إبشتاين بار (EBV).

الهدف من هذا العمل هو إجراء دراسة تحليلية من ثلاث مقالات حول الإصابة المشتركة بفيروس الورم الحليمي البشري HPV وفيروس إبشتاين بار EBV في سرطانات القولون والمستقيم لدى المجتمع البوسني و السوري واللبناني. تم الكشف عن الفيروس بواسطة تقنية (PCR) ومصنوفة الأنسجة الدقيقة والكيمياء المناعية.

في هذه الدراسة، يختلف متوسط العمر من مجموعة سكانية إلى أخرى. كان 60 و 65 سنة في السكان اللبنانيين والبوسنيين على التوالي، بينما كانت 49 سنة في السكان السوريين. وبالمثل، كان التوزيع بين الجنسين مختلفاً، وغالبية كان المرضى من الإناث في السكان اللبنانيين والسوريين، في حين، وكان معظم المرضى من سكان البوسنة من الذكور. التواجد المشترك ل EBV و HPV في سرطانات القولون والمستقيم كان 16 في المائة، 16.6 في المائة، 27.6 في المائة في سكان البوسنة، السوريين و اللبنانيين على التوالي. لا يوجد ارتباط كبير بين فيروس الورم الحليمي البشري و EBV الحضور المشترك مع مرحلة الورم المتقدمة لدى السكان البوسنيين واللبنانيين على عكس السكان السوريين.

هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتوضيح الآليات الفرعية تكمن وراء الدور التعاوني لمركبات EBV و HPV عالية الخطورة في البدء و/أو التقدم لسرطان القولون و المستقيم..

الكلمات الرئيسية: فيروس الورم الحليمي البشري، فيروس إبشتاين بار، سرطان القولون والمستقيم، عدوى.

RÉSUMÉ

Le cancer colorectal (CCR) représente le troisième cancer le plus fréquent dans la plupart des pays. Il est lié à plusieurs facteurs de risque dont les infections virales, principalement par les papillomavirus humains à haut risque (HPV-HR) et l'Epstein Barr virus (EBV).

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude de synthèse à partir de trois articles sur la coinfection par l'HPV et l'EBV dans les CCR dans une population bosniaque, syrienne et libanaise. La détection des virus a été réalisée par des analyses moléculaires par PCR, puce à ADN tissulaires ainsi que par l'immunohistochimie.

Dans cette étude, l'âge moyen diffère d'une population à une autre. Il était de 60 et 65 ans dans la population libanaise et bosniaque respectivement, alors qu'il était de 49 ans dans la population syrienne. De même, la répartition selon le sexe était différente dont la majorité des patients était de sexe féminin dans la population libanaise et syrienne, tandis que, la plupart des patients de la population bosniaque était de sexe masculin. La coprésence de l'EBV et l'HPV dans les CCR était de 16%, 16,6% et 27,6% dans la population bosniaque, syrienne et libanaise respectivement. Aucune association significative entre la coprésence des HPV et des EBV avec le stade avancé de la tumeur n'a été observée dans la population bosniaque et libanaise, contrairement à la population syrienne.

Des études supplémentaires sont indispensables pour élucider les mécanismes sous-jacents du rôle coopératif des HPV à haut risque et de l'EBV dans l'initiation et/ou la progression du CCR humain.

Mots clés: HPV, EBV, Cancer colorectal, Coinfection.

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer in most countries. It is linked to several risk factors including viral infections, mainly by high-grade human papillomaviruses human papillomavirus (HPV-HR) and Epstein Barr virus (EBV).

The objective of this work is to carry out a review based on three articles on co-infection with HPV and EBV in CRC in a Bosnian, Syrian and Lebanese population. The detection of the viruses was performed by molecular analysis by PCR, tissue microarray and immunohistochemistry.

In this study, the mean age differed from one population to another. It was 60 and 65 years in the Lebanese and Bosnian population respectively, while it was 49 years in the Syrian population. Similarly, the gender distribution was different with the majority of patients being female in the Lebanese and Syrian population, whereas, most of the patients in the Bosnian population were male. The co-presence of EBV and HPV in CRC was 16%, 16.6% and 27.6% in the Bosnian population, Syrian and Lebanese respectively. No significant association between HPV and EBV co-presence with advanced stage of the tumor was observed in the Bosnian and Lebanese populations, unlike the Syrian population.

Further studies are needed to elucidate the underlying mechanisms of the cooperative role of high-risk HPV and EBV in the initiation and/or progression of human CRC.

Key words: HPV, EBV, Colorectal cancer, Coinfection.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES ABRÉVIATIONS	I
LISTE DES FIGURES	II
LISTE DES TABLEAUX	III
INTRODUCTION	1

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 : Le cancer colorectal

1. Epidémiologie.....	5
2. Définition.....	6
3. Classification.....	6
3.1. Instabilité chromosomique.....	7
3.2. Instabilité des microsatellites.....	7
3.3. Instabilité épigénétique.....	7
4. Les facteurs de risque du cancer colorectal.....	7
4.1. L'âge.....	8
4.2. Le sexe.....	8
4.3. L'obésité.....	8
4.4. Les facteurs alimentaires.....	8
4.5. Le tabagisme.....	9
4.6. L'alcool.....	9
4.7. Facteurs héréditaires et génétiques.....	9
4.8. Facteurs viraux.....	10
4.8.1. Papillomavirus humains.....	10
4.8.2. Epstein-Barr virus.....	10
4.8.3. Cytomégalovirus humain.....	10

Chapitre 2 : Les principaux facteurs viraux du cancer colorectal

1. Les papillomavirus humains.....	12
1.1. Historique.....	12
1.2. Phylogénie.....	12
1.3. Définition.....	12
1.4. Classification.....	13

1.4.1. Selon leur séquence génomique	13
1.4.2. Selon leur tropisme	13
1.4.3. Selon leur potentiel oncogène	13
1.5. Structure	14
1.5.1. Organisation structurelle	14
1.5.2. Organisation génomique	14
1.6. Cycle viral	15
1.6.1. Attachement, internalisation et décapsidation	16
1.6.2. Maintenance du génome viral	16
1.6.3. Prolifération cellulaire	16
1.6.4. Amplification du génome viral	16
1.6.5. Encapsidation et libération des virions.....	17
1.7. Carcinogénèse	17
1.8. Prévention	18
1.8.1. Dépistage.....	18
1.8.2. Vaccination.....	18
1.9. Traitement	19
1.10. HPV et cancers.....	19
2. Epstein-Barr virus.....	20
2.1. Définition.....	20
2.2. Classification.....	20
2.3. Cycle de vie	20
2.3.1. Attachement et pénétration.....	21
2.3.2. Latence et maintien du génome.....	21
2.3.3. Cycle lytique.....	23
2.4. Diagnostic.....	25
2.5. Prévention.....	26
2.5.1. Prévention par vaccination.....	26
2.5.2. Prévention par dépistage.....	26
2.6. Traitement.....	26
2.7. EBV et cancers	27
 ANALYSE D'ARTICLES	
1. Méthodologie.....	29

1.1. Objectif	29
1.2. Matériel et méthodes.....	29
1.2.1. Prélèvement des échantillons	30
1.2.2. Extraction d'ADN	30
1.2.3. Détection du HPV et de l'EBV par PCR	31
1.2.4. Électrophorèse.....	31
1.2.5. Puces à ADN tissulaires (TMA : Tissue microarrays).....	32
1.2.6. Immunohistochimie (IHC).....	33
1.2.7. Analyse statistique	33
2. Résultats	34
2.1. Selon l'âge	34
2.2. Selon le sexe	34
2.3. Selon le type de cancer.....	35
2.4. Selon la présence d'HPV et/ou EBV	35
2.4.1. Chez la population Bosniaque	35
2.4.2. Chez la population syrienne	37
2.4.3. Chez la population libanaise.....	39
3. Discussion	40
CONCLUSION	45

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

LISTE DES ABRÉVIATIONS

BamHI: Restriction Enzyme From Bacillus Amyloliquefaciens H.	IE: immediate-early.
BPV: Bovine papillomavirus.	IGG: Immunoglobulines G.
BZLF: BamHI Z fragment leftward open reading fram.	IGM: Immunoglobulines M.
CCR: cancer colorectal.	IHC: Immunohistochimie.
CD21: protéine de la surface membranaire.	InVS: l'institut de veille sanitaire.
CD4: Cluster of Differentiation 4.	JCV: John Cunningham Virus
CIMP: CpGislandmethylator.	L: Late.
CIN: chromosomalinstability.	LCL: Lymphoblastoid cell lines.
CIRC: Centre international de recherche sur le cancer.	LCL: Lymphoblastoid cell lines.
CMH II: complexe majeur d'histocompatibilité de classe II.	LCR: Long Control Region
CMV: Cytomégalovirus.	LCR: Long Control Region.
CRPV: cottontailrabbit papillomavirus.	LIEHG: lésions cervicales intra épithéliales de haut grade.
E: Early.	LOH+: loss of Heterozygosity.
EBER: EBV-Encoded small RNA.	MMR: DNAMisMatchRepair .
EBNA: Epstein-Barr nuclear antigen.	MNI: Mononucléose Infectieus.
EBNA-LP: Epstein Barr virus Nuclear Antigen Leader Protein.	MSI: microsatellite instability.
EBV: Epstien Barr Virus.	MVA: Modified VacciniaVirus Ankara
FFPE: Formalin fixed paraffin embedded.	NK: Natural killer.
GAPDH: glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase.	oriLyt: Lyticorigin.
GP: Glycoprotéine.	oriP: origine de répliation.
HCMV: cytomégalovirus humain.	P53: protéine 53.
HHV-4: Human Herpes Virus type 4.	PCR: Polymerase Chain Reaction.
HHV-8: Human Herpes Virus type 8.	PEL: lymphome d'épanchement primaire.
HPV: Papillomavirus Humains.	pRB: Retinoblastoma protein
HPV-BR: Papillomavirus Humains à Bas Risque.	PV: papillomavirus.
HPV-HR: Papillomavirus Humains à Haut Risque.	TIL: lymphocytes infiltrant la tumeur.
HSPG: Heparin Sulfate Proteoglycans.	TMA: Tissue Micro Array.
HSV-1: Herpès Simplex Virus 1.	TNM: tumor-node-metastasis.
	URR: Upstream regulatory region.
	VCA: Viralcapsid antigen.
	VLP: pseudo-particules virales.
	ZEBRA: Z Epstein-Barr replicationactivator.

LISTE DES FIGURES

Figure 1: Organisation génétique de l'HPV16.....	15
Figure 2: Réglementation et déréglementation du cycle de vie de papillomavirus à haut risque.....	15
Figure 3: Principales étapes de la carcinogenèse associée à E7 et E6 des HR-HPV.....	18
Figure 4: Représentation schématique du l'EBV.....	22
Figure 5: Modèles d'infection latente du virus d'Epstein-Barr pour atteindre la persistance virale.....	23
Figure 6: Cycle de vie de l'EBV.....	25
Figure 7: Vue diagramme des tumeurs malignes causées par une infection à l'EBV.....	27

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: Distribution des types d'HPV selon leur tropisme.....	13
Tableau 2: Classification des HPV selon leur potentiel oncogène.....	14
Tableau 3: Programmes de latence de l'EBV.....	22
Tableau 4: Les amorces utilisées.....	32
Tableau 5: La prévalence des types de HPV à haut risque et leur relation avec le statut EBV dans cohorte de cancer du rectum (n=102). Les valeurs p significatives sont marquées d'un astérisque.....	37
Tableau 6: Détection de L'EBV et des HPV à haut risque dans les cas de cancer colorectal humain et leur association avec le grade de la tumeur.....	39
Tableau 7: Corrélation entre les sous-types EBV et HPV chez les patients libanais atteints de cancer colorectal.....	40

INTRODUCTION

Environ 20% de l'ensemble des cancers sont causés par des agents infectieux, notamment des composants bactériens et viraux. Les infections virales par de petits virus à ADN, dont les polyomavirus, les papillomavirus humain à haut risque (HPV-HR), le virus de l'hépatite B (HBV), le virus de l'hépatite C (HCV), et le virus Epstein-Barr (EBV) sont connus pour être impliqués dans plusieurs cancers et se sont parmi les 11 agents pathogènes infectieux classés comme cancérigènes du groupe par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) [(**Antonic et al., 2013**) ; (**Plummer et al., 2016**)] comme le cancer du col de l'utérus, le cancer de l'oropharynx, le cancer du nasopharynx, le cancer gastrique et le cancer colorectal (CCR)...[(**Cobo, 2012**) ; (**Ayee et al., 2020**)].

Le CCR regroupe le cancer du côlon et le cancer du rectum, c'est une maladie complexe et multifactorielle (**Gupta et al., 2020**). Les recherches actuelles visent à identifier les facteurs de causalité sous-jacents (**Rosa et al. 2015**). Outre les facteurs environnementaux (alimentation, obésité) [(**Johnson et al., 2013**) ; (**Thrift et al., 2015**)] et les facteurs génétiques, plusieurs agents infectieux, dont les papillomavirus humains (HPV), le virus d'Epstein-Barr (EBV) et le cytomégalo virus humain (HCMV), sont considérés comme des facteurs de risque.

L'HPV et l'EBV sont les oncovirus les plus courants, contribuant à environ 10 à 15% de toutes les tumeurs malignes et ils ont été signalés comme étant présents dans différents types de cancers humains, où ils peuvent jouer un rôle clé dans l'apparition et/ou la progression de ces cancers (**Fernandes et al., 2020**). L'HPV qui joue un rôle crucial dans l'apparition et le développement de certains types de carcinomes, notamment le cancer du col de l'utérus, les tumeurs de la tête et du cou, doit être pris en compte pour prédire le risque de survenue et de développement du cancer colorectal dont les types les plus fréquemment retrouvés sont les HPV 16, 18 et 33 (**Ibragimova et al., 2018**). Quant à l'EBV, qui est à l'origine de la mononucléose infectieuse, il peut favoriser le développement de néoplasmes épithéliaux, notamment les carcinomes nasopharyngés et les carcinomes gastriques [(**Chen et al., 2015**) ; (**Cyprian et al., 2018**)], en plus, il est considéré comme un facteur de risque de cancer colorectal.

Les recherches actuelles indiquent une relation potentiellement plausible entre la co-présence d'HPV et d'EBV dans la pathogénèse et la progression de plusieurs tumeurs dont le cancer colorectal (**Fernandes et al., 2020**).

C'est dans cet ordre d'idées que s'inscrit ce travail de synthèse de trois articles portant sur la recherche de la coinfection de ces deux oncovirus (HPV-HR et EBV) et leur corrélation avec le phénotype tumoral dans les échantillons des CCR.

REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 1 :

Le cancer colorectal

1. Epidémiologie

Le cancer colorectal (CCR) se situe parmi les cancers digestifs les plus importants par sa fréquence et sa gravité. Il est le troisième cancer le plus fréquent au monde et en Europe et le deuxième en termes de mortalité chez les deux sexes (**Bray et al., 2018**). Les prévisions liées à ce fardeau mondial soulignent que le CCR atteindra un taux d'incidence 2,2 millions de nouveaux cas avec 1,1 millions de décès /an en 2030 (**Arnold et al., 2016**).

En 2006, environ 413 000 patients ont été diagnostiqués d'un cancer colorectal en Europe. Cela représente environ 13 % de tous les cancers de ce continent. La majorité des cancers colorectaux se localisent dans le côlon et représentent 9 % de tous les cancers en Europe et environ, un tiers des cancers colorectaux se localisent uniquement dans le rectum.

Le CCR est plus fréquent chez les hommes que chez les femmes. En Europe, 1 homme sur 20 et 1 femme sur 35 peuvent développer un CCR à un moment donné de leur vie (**Kinzler et Vogelstein, 2006**) et il est considéré comme la quatrième cause principale de décès par cancer chez les hommes et la troisième cause de mortalité liée au cancer chez les femmes (**Ferlay et al., 2018**).

Le cancer colorectal est l'un des problèmes importants de santé publique dans les pays développés à population vieillissante. La plupart des cancers colorectaux apparaissent après l'âge de 60 ans (**Belhamidi et al., 2018**) et il est rare chez les personnes âgées de moins de 40 ans (**Kinzler et Vogelstein, 2006**).

En Algérie, le CCR est le deuxième cancer le plus fréquent après le cancer du sein chez les femmes, et le cancer du poumon chez les hommes (**Touati, 2011**). Selon les spécialistes, 4 000 nouveaux cas de CCR sont signalés annuellement, sachant que 50% des cas sont localement avancés conduisant à un taux de mortalité élevé (**Labri, 2011**).

Selon les registres du cancer de l'Ouest Algérien pour l'année 2009-2010, Le CCR occupe le 2ème rang chez l'homme et le 6ème chez la femme avec une fréquence de 9,7 et 7,8% respectivement à Mascara (**Benarba et al., 2014**), à Oran ; il occupe le 2ème rang chez l'homme et le 4ème chez la femme avec une fréquence respective de 6,3 et 2,9%. À Tlemcen ; il occupe le 3ème rang chez l'homme et le 2ème chez la femme avec une fréquence respective de 7,61 et 8,13% (**Mokhtari, 2010**).

2. Définition

Le gros intestin est la partie terminale du tractus gastro-intestinal. Il se compose de trois segments: le cæcum, le côlon et le rectum. C'est dans le côlon que se produit l'ultime digestion des nutriments notamment grâce à la microflore colique. L'épithélium colique est un système dynamique en constant équilibre, doté de capacités de prolifération et de différenciation lui permettant d'assurer ses fonctions physiologiques d'absorption d'eau et d'ions, et de sécrétion de mucus.

De part ses caractéristiques, l'épithélium colique est particulièrement vulnérable aux agressions extérieures qui engendrent des hyperproliférations cellulaires pouvant évoluer vers un cancer. Les tumeurs malignes du côlon se développent sur la paroi intestinale, dans la plupart des cas dans la partie terminale du côlon ou le rectum constituant ainsi les cancers colorectaux, conduisant à la transformation de cellules épithéliales coliques normales en cellules adénomateuses et enfin en un carcinome glandulaire ou adénocarcinome (**Moghtit, 2014**).

3. Classification

Les cancers colorectaux sont classés comme héréditaires, inflammatoires ou sporadiques (**De Rosa et al., 2015**). Les cancers sporadiques représentent 70 à 80 % des cancers colorectaux, ils surviennent dans un contexte familial dans 10 à 30 % des cas et ils sont liés à une prédisposition génétique dans 5 % des cas (**Karoui et al., 2007**).

Le CCR est le résultat de plusieurs altérations successives qui altèrent certains oncogènes, suppresseurs de tumeur ou gènes de stabilité de l'ADN (**Olivier et al., 2011**). Une classification moléculaire du cancer colorectal a été proposée, elle évolue, au fur et à mesure que notre compréhension de la carcinogenèse colorectale s'améliore (**Ogino et Goel, 2008**).

Trois mécanismes de carcinogenèse ont été identifiés dans le cancer colorectal, se traduisant par 3 phénotypes tumoraux différents mais impliquant finalement des voies de signalisation identiques [(**Markowitz et al., 2009**) ; (**Laurent-Puig et al., 2010**)].

3.1. Instabilité chromosomique (CIN : chromosomal instability)

Le mécanisme le plus fréquemment impliqué dans la survenue du CCR, Les cancers de type CIN (ou CIN+) sont présents dans 80 % des CCR. Ils sont définis par des pertes récurrentes sur certains bras chromosomiques, conduisant à des pertes d'hétérozygotie (Phénotype LOH+ : loss of Heterozygosity), dont certaines sont associées à des mutations des gènes suppresseurs de tumeurs (**Bibeau et al., 2016**).

3.2. Instabilité des microsatellites (MSI : microsatellite instability)

Les cancers de type MSI (ou MSI+) sont présents dans 15 % des CCR. Ils se caractérisent par une instabilité génétique conduisant une instabilité des régions microsatellitaires liée à un défaut de réparation des mésappariements de l'ADN (DNA MisMatch Repair [MMR]) (**Ribic et al., 2003**).

3.3. Instabilité épigénétique (Hyperméthylation de l'ADN CIMP : CpG island methylator)

En plus de ces mécanismes d'instabilité, plusieurs phénomènes épigénétiques semblent être impliqués dans 10 à 40% des CCR (**Freitas et al., 2018**). Les anomalies épigénétiques n'altèrent pas la séquence codante du gène mais sa transcription.

Ce dernier phénotype CIMP est de découverte plus récente. Il correspond à une hyperméthylation des cytosines des îlots CpG des régions promotrices des gènes entraînant une inactivation transcriptionnelle de gènes suppresseurs de tumeur (**Barault et al., 2008**). La définition du phénotype CIMP+ ne se résume pas à l'hyperméthylation d'un seul gène, mais d'un groupe de gènes.

Il faut souligner que ces 3 groupes ne sont pas mutuellement exclusifs. Ainsi, une partie des CCR CIMP+ correspond à des CCR MSI+ présentant une hyperméthylation du promoteur hMLH1. Cette classification aboutissant à 3 groupes (CIN+, MSI+ et CIMP+) a trouvé en partie une application clinique, le statut MSI s'inscrivant dans le dépistage du syndrome de Lynch ou caractérisant des CCR de très bon pronostic (**Bibeau et al., 2016**).

4. Les facteurs de risque du cancer colorectal

Le cancer colorectal n'est pas attribuable à une cause unique, mais certains facteurs connus pourraient augmenter le risque de ce cancer (**Moghtit, 2014**). Les facteurs considérés comme les plus importants sont : l'âge, le sexe, les critères diététiques, le tabagisme, l'alcoolisme et l'obésité...

4.1. L'âge

L'âge est le facteur le plus prédictif de développer un CCR. Le CCR se déclare tardivement puisque seulement 7% des cas surviennent avant l'âge de 50 ans. L'incidence augmente ensuite fortement entre 50 et 80 ans, l'âge moyen au diagnostic est de 68 ans chez les hommes et de 71 ans chez les femmes (**Bruchez, 2010**).

4.2. Le sexe

Plusieurs études ont montré que le risque de développer des polypes et des CCR est très élevé chez les hommes par rapport aux femmes (**Iarc, 2008**). Cela pourrait être expliqué par la différence physiologique liée au sexe dans le processus de développement des polypes et des cancers. Les femmes développeraient moins fréquemment des cancers à partir de polypes et ces derniers auraient plus tendance, et plus rapidement, à se transformer en cancers [(**Mccashland et al., 2001**) ; (**Roy et Bianchi, 2009**)]. Une autre explication résulterait de la différence de localisation des cancers entre hommes et femmes [(**Schoenfeld et al., 2005**) ; (**Brenner et al., 2010**) ; (**Penn et al., 2010**)].

4.3. L'obésité

Le diagnostic précoce de l'obésité est crucial car il est considéré comme un facteur d'augmentation du risque de CCR (**Useros et Foncillas, 2016**). En effet, l'obésité est associée à un risque élevé d'adénomes colorectaux (polypes ou excroissances à potentiel cancéreux), mais on peut réduire ce risque en perdant du poids. Le risque relatif de CCR est très élevé chez les malades obèses sans activité physique (**Giovannucci et al., 2005**). L'importance du sur-risque de gros adénome et de cancer impose une réflexion sur la politique de dépistage chez les malades atteints d'obésité viscérale. L'intérêt chez ces malades d'un dépistage coloscopique identique à celui proposé en cas d'antécédents familiaux de cancers colorectaux devrait être évalué. Par ailleurs, la surcharge graisseuse abdominale pourrait réduire l'efficacité des traitements antiangiogéniques dans les cancers colorectaux métastatiques (**Guiu et al., 2010**).

4.4. Les facteurs alimentaires

Il est aujourd'hui incontestable que l'alimentation joue un rôle dans l'apparition et l'évolution du CCR. De nombreux travaux ont suggéré que les régimes alimentaires riches en protéines animales (graisses et viandes), en acides gras saturés et pauvres en fibres végétales favoriseraient le CCR [(**Bingham et al., 2002**) ; (**Fung et al., 2003**)]. Ce type d'alimentation augmenterait la concentration intra colique en stérols et en acides biliaires secondaires qui

stimuleraient la prolifération de l'épithélium colique. Des études ont montré qu'une consommation accrue de viande rouge et transformée augmente le risque de CCR d'environ 20% et d'autres ont montré que les sucres étaient un facteur de risque important de CCR (**Bostick et al., 1994**).

4.5. Le tabagisme

L'usage du tabac accroît le risque de CCR et le risque augmente selon la durée du tabagisme et la quantité fumée. Des études ont démontré qu'un usage abusif et à long terme de la cigarette (20 paquets-années) augmente de 2 à 3 fois le risque d'apparition de gros adénomes dans le côlon et le rectum. Donc, les adénomes de grande taille sont une source fréquente de CCR (**Von Roon, 2007**).

4.6. L'alcool

Différentes études suggèrent que la consommation d'au moins 80 gramme d'alcool par semaine augmente le risque de développement des adénomes et favorise l'augmentation de leur taille (**Fedirko et al., 2011**).

La consommation d'alcool, de vin et de bière était nettement plus élevée chez les sujets atteints d'adénomes du côlon par rapport à ceux qui ont des adénomes dans le rectum (**Erhardt et al., 2002**). D'autre part, l'alcool agit comme un solvant, il favorise donc la diffusion d'autres cancérigènes dans les cellules. Il peut aussi induire une carence en folate dans le côlon et le rectum, en diminuant son absorption ou en inhibant des enzymes (**Seitz et Becker, 2007**).

4.7. Facteurs héréditaires et génétiques

Des facteurs génétiques peuvent également être à l'origine de l'émergence de ce type de cancer, autant dans les cancers colorectaux héréditaires que dans les formes sporadiques (**Moghtit, 2014**). Les cancers héréditaires sont pour ceux qui ont des antécédents familiaux de cancers (père, mère, frère ou sœur) ou de polypes colorectaux, pour ceux qui ont une forme étendue et ancienne d'une maladie inflammatoire de l'intestin (rectocolite hémorragique ou maladie de Crohn) (**Nicolas et al., 2007**).

Selon l'institut de veille sanitaire (InVS), les CCR héréditaires représentent moins de 5% des cas, et surviennent principalement avant 40 ans, plus particulièrement au niveau du côlon droit (**Ducreux, 2014**).

4.8. Facteurs viraux

Les cancers colorectaux peuvent être associés à des infections virales par les papillomavirus humains (HPV), le virus d'Epstein-Barr (EBV), le cytomégalovirus humain (HCMV) et le John Cunningham virus (JCV) ... (Coelho *et al.*, 2010).

4.8.1. Papillomavirus humains

Des recherches menées dans le monde ont révélé que les HPV à haut risque sont présents dans environ 40 à 80 % des cas de CCR chez l'homme [(Damin *et al.*, 2007) ; (Ala-Eddin *et al.*, 2016)]. Cependant, la probabilité cancérogène de chaque souche diffère. Les types d'HPV les plus fréquemment exprimés dans le cancer colorectal sont les HPV 16, 18 et 33 (Ibragimova *et al.*, 2018).

4.8.2. Epstein-Barr virus

À l'échelle mondiale, des études utilisant des tests PCR en temps réel et l'immunohistochimie (IHC) ont rapporté une prévalence de 20 à 50% pour l'EBV dans le cancer colorectal [(Bodaghi *et al.*, 2005) ; (Song *et al.*, 2006) ; (Guan *et al.*, 2015)].

4.8.3. Cytomégalovirus humain

De plus en plus de preuves suggèrent que le cytomégalovirus humain (HCMV), infecte les êtres humains de manière chronique, est associé au cancer colorectal (CCR) (Chen *et Chan*, 2014).

Le HCMV, un bêta-herpèsvirus qui contient de nombreuses oncoprotéines virales potentielles, n'a pas été classé comme virus oncogène jusqu'à présent. Ce virus infecte 60 à 90 % de la population générale et il est considéré comme un virus oncomodulateur en raison de ses effets sur la progression du cycle cellulaire, la mutagenèse, l'angiogenèse et l'évasion immunitaire [(Castillo *et Kowalik*, 2002) ; (Powers *et al.*, 2008)].

Chen *et al* (2012) ont précédemment signalé qu'environ 40 % des échantillons de CCR étaient positifs pour le HCMV. Par la suite, ils ont constaté que la présence tumorale du HCMV est associée à un résultat défavorable chez les patients âgés atteints de cancer colorectal et prédit une période sans maladie plus courte, indépendamment de celle attendue par le stade de la tumeur-ganglion-métastase (TNM : tumor-node-metastasis). De telles découvertes impliquent que le HCMV peut affecter le microenvironnement tumoral du CCR via une certaine voie immunitaire (Chen *et al.*, 2014).

Chapitre 2 :

Les principaux facteurs viraux du cancer colorectal

1. Les papillomavirus humains

1.1. Historique

Les connaissances concernant les papillomavirus humains (HPV) ont beaucoup évolué au cours des 20 dernières années. En 1935, Bear et Rous prouvent que les papillomes cutanés chez le lapin peuvent évoluer vers un carcinome après une longue période de latence (**Mougin et al., 1997**). Dans les années 1970, Le professeur allemand Zur Hausen a mis en évidence les papillomavirus par des approches moléculaires. Cette découverte, et l'ensemble de ses travaux menés ensuite sur les cancers associés aux HPV, lui a valu le prix Nobel de Physiologie-Médecine en 2008 (**Cohen et Enserink, 2008**).

1.2. Phylogénie

Les papillomavirus appartiennent à la grande famille des *PAPILLOMAVIRIDAE* (**Mougin et Dalstein, 2004**). Beaucoup d'espèces animales abritent des papillomavirus telles que les bovins, les caprins, les canins, les équins, les rongeurs, les oiseaux, les reptiles et l'Homme (**Prétet et al., 2007**). La nomenclature consiste à rajouter, au suffixe PV (*Papillomavirus*), l'abréviation désignant l'hôte infecté dérivée du terme anglais. Ainsi on parle d'HPV (*Human papillomavirus*), de CRPV (*Cottontailrabbit papillomavirus*), de BPV (*Bovine papillomavirus*)... (**de Villiers et al., 2004**). L'ensemble actuel d'HPV est contenu dans cinq genres (alpha-, bêta-, gamma-, mu- et Nu-PVs) (**Van Doorslaer, 2013**) et la plupart des HPV appartiennent soit à l'alpha ou bêta (**Lazarczyk et al., 2009**). Ce sont les virus humains qui ont été étudiés de manière la plus extensive ; une centaine de types d'HPV ont été identifiés par séquençage complet de leur génome. Cependant, sur la base des nombreuses séquences subgénomiques disponibles dans les bases de données, on estime que le nombre réel de types d'HPV est beaucoup plus élevé [(**Segondy, 2008**) ; (**Alain et al., 2010**)] ; actuellement, plus de 200 génotypes identifiés d'HPV (**Lepiller et al., 2021**).

1.3. Définition

Les papillomavirus humains sont de petits virus, qui infectent exclusivement les épithéliums cutanés et muqueux. Ils sont retrouvés de façon ubiquitaire dans les tissus humains et ils sont en particulier responsables de lésions bénignes ou malignes des muqueuses anogénitales et oropharyngées (**Lepiller et al., 2021**). L'infection par l'HPV est considérée comme une infection sexuellement transmissible mais les HPV peuvent également être transmis par des voies non sexuelles (**Szydlowski et al., 2014**).

1.4. Classification

La classification des papillomavirus humains repose sur différents critères, en fonction de leur séquence génomique, leur tropisme et leur potentiel oncogène.

1.4.1. Selon leur séquence génomique

Cette classification est établie par le séquençage du gène, hautement conservée, codant la protéine L1 (protéine majeure de la capside). Un nouveau type de papillomavirus est caractérisé lorsque son génome présente des variations de plus de 10% des gènes L1 (**Leto et al., 2011**).

1.4.2. Selon leur tropisme

Au-delà de leur spécificité d'espèce, les papillomavirus présentent aussi une forte spécificité tissulaire. Les papillomavirus sont épithéliotropes stricts (**Coissard, 2005**). Les différents types d'HPV se caractérisent par leur tropisme tissulaire (site d'infection préférentiel) et on distingue des types d'HPV à tropisme cutané ou à tropisme muqueux (**Tableau 1**). Cependant il existe certains types d'HPV à tropisme mixte, c'est à dire à la fois cutané et muqueux (**Segondy, 2008**).

Tableau 1 : Distribution des types d'HPV selon leur tropisme (**Segondy, 2008**).

Tropisme	Types
Cutané	HPV1, 2, 4, 5, 8, 9, 12, 14, 15, 17, 19, 20, 21, 22, 23, 25, 27, 36, 37, 38, 41, 47, 48, 49, 50, 57, 60, 63, 65, 75, 76, 80, 88, 92, 93, 95, 96
Muqueux	HPV6, 11, 13, 16, 18, 26, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 39, 42, 44, 45, 51, 52, 53, 54, 56, 58, 59, 61, 62, 66, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 81, 82, 83, 84, 85, 86, 87, 89, 90
Mixte	HPV3, 7, 10, 28, 29, 40, 43, 78, 91, 94

1.4.3. Selon leur potentiel oncogène

Il est à noter que cette répartition ne prend en considération que les HPV à tropisme muqueux, on peut classer les HPV selon leur pouvoir pathogène en HPV à haut risque, HPV à bas risque et HPV à risque probable (**Tableau 2**).

Tableau 2 : Classification des HPV selon leur potentiel oncogène (**Segondy, 2008**).

Classification	Types
Haut risque	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59
Haut risque probable	26, 53, 66, 68, 73, 82
Bas risque	6, 11, 13, 40, 42, 44, 54, 61, 70, 72, 81, 89
Risque indéterminé*	30, 32, 34, 62, 67, 69, 71, 74, 83, 84, 85, 86, 87, 90

1.5. Structure

1.5.1. Organisation structurelle

Les papillomavirus humains sont des virus nus de petite taille, de 45 à 55 nm de diamètre dont la capsid est composée de 72 capsomères qui s'organisent en une symétrie icosaédrique, dépourvus d'enveloppe ce qui leur confère une très grande résistance aussi bien en milieu extérieur, qu'à la congélation et la dessiccation (**Riethmuler et al., 2002**). La capsid est constituée d'une protéine majeure L1 et d'une protéine mineure L2 [(**Ustav et al., 1991**) ; (**Favre et al., 1997**) ; (**Dixon et al., 2000**)].

1.5.2. Organisation génomique

Le génome de papillomavirus est constitué d'une molécule d'ADN double brin circulaire de 8kb dont un seul brin est codant. Ce dernier comporte trois régions ; deux régions codantes dont la région précoce E pour Early codant pour les six protéines non structurales (E1, E2, E3, E4, E5, E6 et E7) impliquées dans de multiples fonctions, y compris la réplication virale et la transformation cellulaire (**Bravo et Félez-Sanchez, 2015**) et occupe plus de 50% du génome du virus (**Zheng et Baker, 2006**) et la région tardive L pour Late qui code pour les protéines structurales de la capsid L1 (protéine majeure) et L2 (protéine mineure) (**Debaque et Eide, 2012**) qui sont séparées par une région non codante de régulation LCR (Long Control Region) ou URR (Upstream regulatory region) [(**Bernard, 2002**) ; (**Carcopino et al., 2011**)] (**Figure. 1**).

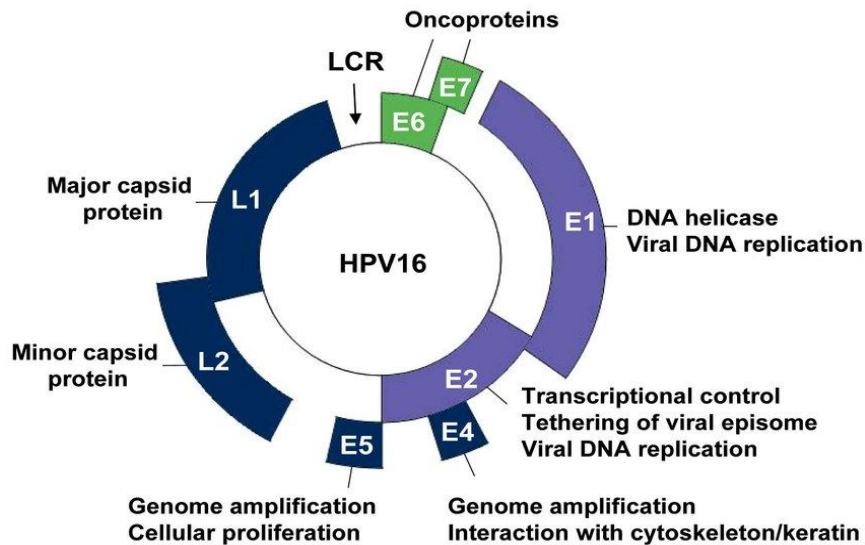


Figure. 1 : Organisation génétique de l'HPV16 (Abramo et Archambault, 2011).

1.6. Cycle viral

Les papillomavirus humains sont parfaitement adaptés à leurs cellules hôtes ; les épithéliums stratifiés de l'épiderme ou des muqueuses (Schiller, 2010) et leur réplication est intimement liée au processus de renouvellement cellulaire et à la différenciation des cellules de l'hôte (Grm *et al.*, 2009). Le cycle viral décrit dans la (Figure. 2) se déroule suivant les étapes ci-dessous:

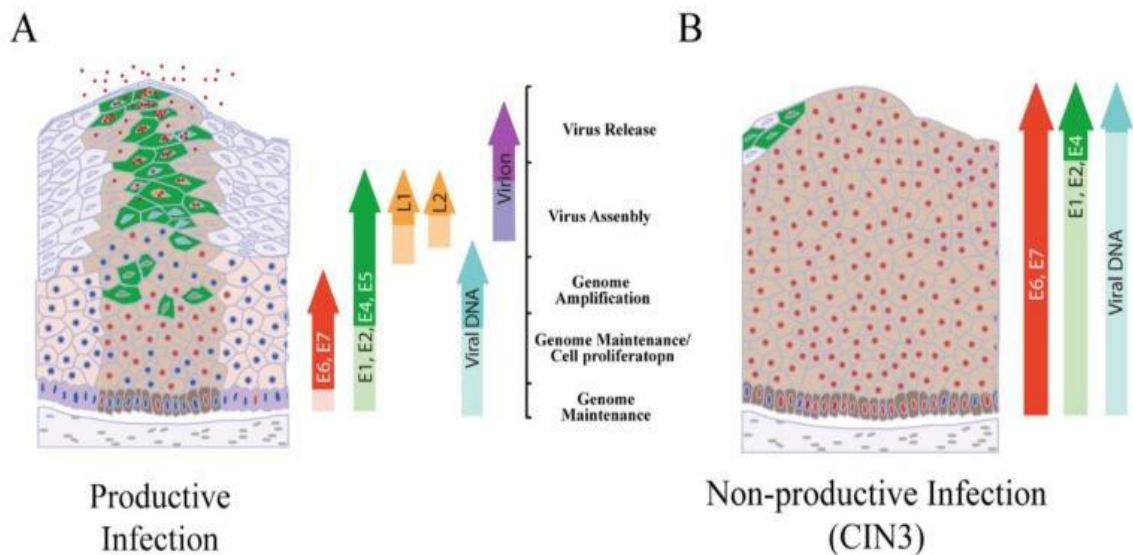


Figure. 2 : Réglementation et déréglementation du cycle de vie de papillomavirus à haut risque (Egawa *et al.*, 2015).

1.6.1. Attachement, internalisation et décapsidation

La première étape de l'infection virale est l'interaction de la protéine L1 de la capsid virale et les récepteurs de la membrane basale [(**Bourgault-Villada, 2007**) ; (**Johnson et al., 2009**)]. Les protéoglycanes à sulfate d'héparine (HSPG) semblent être le principal récepteur pour la liaison initiale. Lorsque l'HPV se lie aux HSPG, la capsid virale subit un changement conformationnel (**Graham, 2017**). Le virus est alors internalisé par endocytose grâce aux récepteurs à clathrine ou calvéoline (**Abban et Meneses, 2010**), puis, décapsidé par rupture de ponts disulfure intracapsomériques grâce au milieu réducteur intracellulaire (**Nelson et al., 2002**). L'ADN viral est transloqué au niveau du noyau de la cellule grâce au réseau de microtubule via la protéine mineure de capsid L2 (**Doorbar, 2006**).

1.6.2. Maintenance du génome viral

Les papillomavirus se répliquent et se rassemblent exclusivement dans le noyau. Cependant, l'expression des gènes viraux et la réplication se déroulent d'une façon étroitement contrôlée et régulée par la différenciation (**Zheng et Baker, 2006**). Le virus maintient son génome en un nombre faible de copies épisomales dans les cellules basales de l'épithélium (à environ 10 à 200 copies par cellule) (**Doorbar, 2005**). Il est admis que les protéines E1 et E2 suffisent à maintenir l'ADN viral sous forme épisomale et à faciliter sa ségrégation au moment de la division cellulaire au cours de laquelle le nombre de cellules basales portant le virus augmente (**You et al., 2004**). Les génomes d'HPV nouvellement synthétisés se répartissent, comme l'ADN cellulaire, dans chaque cellule fille (**Doorbar, 2005**), à ce stade, le cycle est dit non productif (**Mougin et al., 2008**).

1.6.3. Prolifération cellulaire

Contrairement aux cellules non infectées qui, une fois détachées de la lame basale, arrêtent leur division pour entrer dans un processus de différenciation en migrant vers la région suprabasale, les cellules filles infectées continuent leur prolifération sous l'effet des protéines E6 et E7 qui sont exprimées dans ces cellules et qui désactivent le blocage du cycle cellulaire pour permettre la poursuite de la réplication de l'ADN viral [(**Stubenrauch et Iaimins, 1999**) ; (**Beglin et al., 2009**)].

1.6.4. Amplification du génome viral

Après une phase de prolifération, les cellules infectées migrent vers les couches supérieures de l'épithélium et subissent une différenciation terminale. Les changements d'environnement de la cellule et les signaux de différenciation provoquent l'activation du promoteur tardif dépendant de la différenciation cellulaire. Ce promoteur contrôle

l'expression des protéines impliquées dans la réplication de l'ADN viral [(McBride, 2008) ; (Mougin *et al.*, 2008)]. Cela déclenche la phase végétative du cycle de vie du HPV [(Laimins et Hebner, 2006) ; (Moody et Mac, 2020)].

1.6.5. Encapsidation et libération des virions

La fin du cycle de vie viral implique la sortie du cycle cellulaire, les virions s'auto-assemblent, ainsi L1 et L2 s'expriment pour permettre l'encapsidation du génome de l'ADN du HPV. La maturation des particules virales se produit dans les couches supérieures des épithéliums pavimenteux différenciés au stade terminal. Les HPV sont libérés dans l'environnement, ils profitent de la desquamation naturelle des cellules épithéliales en l'absence de lyse ou de nécrose, ce qui contribue à la persistance du virus en évitant l'inflammation [(Bodily et Laimins, 2011) ; (Harden, 2016) ; (Doorbar, 2020) ; (Garbuglia *et al.*, 2020)].

1.7. Carcinogénèse

Le mécanisme oncogénique central est soutenu par les protéines virales E6 et E7 du HPV à haut risque et dépend de l'intégration du génome HPV-HR au génome de l'hôte (l'instabilité génomique) [(Mantovani et Banks, 2001) ; (McLaughlin-Drubin et Münger, 2009)] ; ces protéines assurent la réplication du génome du HPV dans les cellules épithéliales post-mitotiques différenciées, et cette déréglementation du programme de différenciation naturelle est proposée d'être responsable de la cancérogenèse liée au HPV (Lazarczyk *et al.*, 2009), elles interfèrent avec le cycle cellulaire en ciblant les protéines suppresseurs de tumeur p53 et pRb, respectivement (Peitsaro *et al.*, 2002).

L'oncoprotéine E6 cible la protéine p53 pour qu'elle soit dégradée par le protéasome, ce qui entraîne une dérégulation de cycle cellulaire et la perte de l'apoptose médiée par la protéine p53 dans les cellules infectées par le HPV. Alors que l'oncoprotéine E7 se lie à pRB phosphorylé avec une affinité élevée pour l'inactiver et favorise sa dégradation (Munger et Howley, 2002), ce qui jouent un rôle central dans la transformation maligne, l'immortalisation et l'invasion tumorale [(Mantovani et Banks, 2001) ; (McLaughlin-Drubin et Münger, 2009)] (Figure. 3).

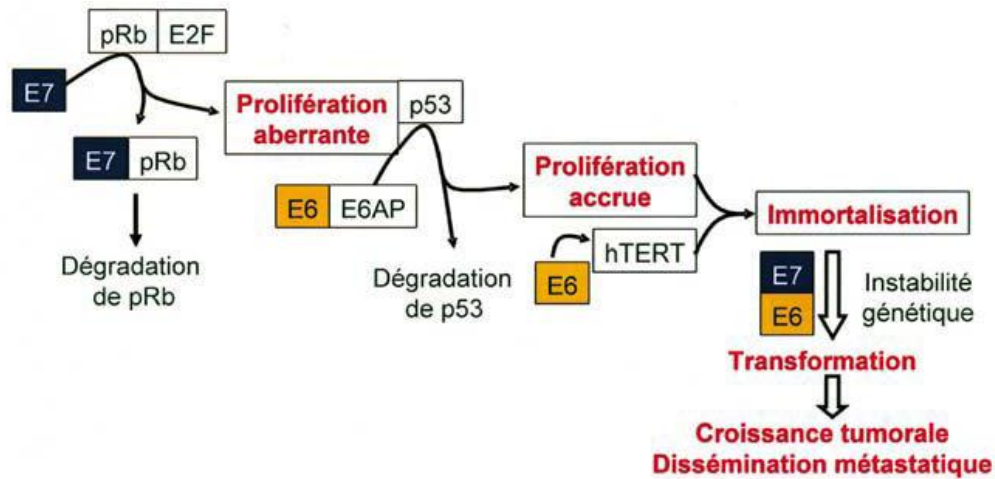


Figure. 3 : Principales étapes de la carcinogénèse associée à E7 et E6 des HPV-HR (Mougin *et al.*, 2008).

1.8. Prévention

La plupart des gens élimineront l'HPV spontanément. Ceux qui ne le font pas sont à haut risque pour développer une malignité (Hathaway *et al.*, 2012). L'HPV joue un rôle important dans la transformation oncogène d'une variété de lésions (en particulier les néoplasies cervicales intraépithéliales). La prévention de ce virus peut être soit par dépistage (prévention primaire) qui est réalisé plus particulièrement pour le CCU ou vaccination (prévention primaire) (Riethmuller *et al.*, 2008).

1.8.1. Dépistage

Pour détecter des cellules anormales et/ou une infection par l'HPV chez les femmes, deux tests sont utilisés le frottis et le test ADN-HPV qui est beaucoup plus sensible que le frottis où la recherche du génome viral peut être réalisé par PCR, hybridation moléculaire, hybridation *In situ*, typage d'HPV à haut risque oncogène ou à bas risque ou encore par séquençage [(Grosjean *et al.*, 2011) ; (Parks, 2014)].

1.8.2. Vaccination

Pour prévenir l'infection par les virus HPV, deux types de vaccins sont utilisés (Hathaway *et al.*, 2012).

Les vaccins prophylactiques contenant des pseudo-particules virales (VLP) obtenues par auto-assemblage de protéines recombinantes de la capsid L1 des HPV de différents types. Ces vaccins préviennent efficacement les infections à HPV causées par les types ciblés en suscitant la production d'anticorps neutralisants qui se lient aux particules virales et bloquent leur entrée dans les cellules de l'hôte (avant l'infection) [(Hitzeroth *et al.*, 2018) ;

(Garbuglia et al., 2020)]. En revanche, plusieurs vaccins thérapeutiques dirigés contre les HPV ont été testés, sous forme de vecteurs viraux recombinants, de polypeptides, de cellules dendritiques ou d'ADN. Le vaccin thérapeutique a pour but de stimuler le système immunitaire cellulaire spécifique ou inné de façon à augmenter les réponses préexistantes ou à générer des nouvelles et induire des lymphocytes TCD8 et CD4 dirigés contre des peptides antigéniques HPV, pour détruire les cellules tumorales associées à l'HPV (après l'infection). Ces mêmes vaccins ont été inefficaces sur les cancers invasifs associés à HPV [(Bourgault-Villada, 2007) ; (Lescaille et al., 2011)].

1.9. Traitement

À ce jour, aucune thérapie ne s'est avérée uniformément efficace et pratique dans le traitement des infections par l'HPV. De nombreuses thérapies ont été développées de manière empirique.

Par conséquent, l'objectif du traitement est d'éliminer ou de contrôler les maladies résultant de l'infection par l'HPV en détruisant les lésions par des moyens physico-chimiques : par des topiques, la cryothérapie, la vaporisation laser ou l'exérèse chirurgicale, ou encore en induisant une réponse inflammatoire ou immunitaire. Les taux de récurrence de la plupart des thérapies sont relativement élevés [(Grosjean et al., 2011) ; (Bonnez, 2019)].

1.10. HPV et cancers

Un taux de 30% des cancers seraient attribuable spécifiquement aux HPV (De-Martel et al., 2012). Les principaux cancers associés aux HPV sont le cancer du col de l'utérus (100 %), le cancer de l'anus (90 %), le cancer de la vulve (40 %), le cancer du vagin (40 %), le cancer du pénis (40 %) et le cancer de la cavité buccale et du pharynx (≤ 12 %) (Cobo, 2012).

Il est aussi associé à d'autres cancers, notamment ceux de la prostate, du côlon, de la vessie, de l'œsophage, du poumon et le cancer du sein. Dans ce dernier, le HPV pourrait être présent, mais non actif, dans les tumeurs mammaires HPV-positives [(Park, 2014) ; (Graham, 2017)].

2. Epstein-Barr virus

2.1. Définition

Le virus d'Epstein-Barr (EBV) a été découvert en 1964 sous microscopie électronique par A. Epstein dans des cellules dérivées de lymphomes de Burkitt africain. Sa morphologie est identique à celle des autres herpès virus. Les virions mesurent environ 150 nm et sont enveloppés. L'enveloppe qui dérive de la membrane cellulaire, contient un nombre de glycoprotéines virales variable d'un virus à l'autre. L'EBV présente à sa surface plusieurs glycoprotéines. En plus de l'enveloppe, le virus est constitué du tégument qui correspond à une structure protéique fibreuse, d'une capsidie protéique icosaédrique d'environ 100 nm de diamètre qui comprend 162 capsomères, et d'un core qui correspond à la structure contenant le génome viral. Le génome est un ADN bicaténaire linéaire de grande taille (172kb) [(Epstein et al., 1964) ; (Balfour et al., 2011) ; (Farrell, 2019) ; (Ayee et al., 2020)].

Le virus est transmis par voie orale avec la salive, où il présente un double tropisme en infectant deux cibles physiologiques principales, les lymphocytes B et les cellules épithéliales. Il a également été démontré que le virus infecte des cibles non naturelles telles que les lymphocytes T et les cellules tueuses naturelles (NK: Natural killer) [(Marelle et al., 1993) ; (Ayee et al., 2020)].

2.2. Classification

Le virus d'Epstein-Barr est aussi appelé Gamma herpès virus humain 4 (HHV-4), c'est un virus oncogène ubiquitaire appartenant à la famille des *HERPESVIRIDAE*, sous-famille des *GAMMA-HERPESVIRINAE*, genre *Lymphocryptovirus* (virus caché dans les lymphocytes), il est responsable de la mononucléose infectieuse [(Niedobitek et al., 1997) ; (Ayee et al., 2020)].

2.3. Cycle de vie

Le cycle de vie de l'EBV est très différent de celui des autres herpèsvirus, tels que l'herpès simplex virus de type 1 (HSV-1) ou le cytomégalovirus (CMV). Avec ce dernier, une réplication lytique complète peut être accomplie par l'infection de certains types de cellules. Un tel système de réplication lytique aussi efficace n'existe cependant pas pour l'EBV, qui infecte spécifiquement les lymphocytes B au repos et les cellules épithéliales [(Fields et al., 2002) ; (Tsurumi et al., 2004) ; (Guidry et Scott, 2018)]. Il passe par les étapes suivantes :

2.3.1. Attachement et pénétration

L'infection des lymphocytes B par l'EBV est initiée par l'attachement et la fixation du virus sur la membrane cellulaire par interaction entre la glycoprotéine d'enveloppe virale gp350/220 et la molécule CD21 (protéine de la surface membranaire). De plus, les cellules épithéliales n'expriment pas le CD21 (**Imai et al., 1998**). Ceci suggère également l'existence d'autres molécules cellulaires permettant l'adhésion du virus (**Larrat, 2010**). Selon (**Shannon-Lowe et al., 2009**), comme les récepteurs viraux ne se situent que sur les faces baso-latérales des cellules épithéliales, le virus pourrait les infecter via le relargage de particules virales par les lymphocytes sous-jacents plutôt que directement par la salive. Les cellules épithéliales auraient donc plutôt un rôle dans la dissémination virale que dans la primo-infection (**Larrat, 2010**). La pénétration du virus requiert un complexe de trois glycoprotéines virales (gp25, gp85, et gp42) et cellulaires (complexe majeur d'histocompatibilité de classe II). L'EBV peut se répliquer de deux manières: par la prolifération des cellules B infectées ou par la production de virions lytiques [(**Maréchal et Piolot, 2001**) ; (**Münz, 2019**)].

2.3.2. Latence et maintien du génome

Après pénétration et décapsidation, le génome viral migre jusqu'au noyau et s'intègre dans le génome de l'hôte et persiste en tant que provirus, ou il se circularise et reste dans la cellule immortalisée sous forme épisomique extra-chromosomique, fixé à la membrane nucléaire par une séquence d'intérêt oriP (origine de réplication) pour établir un état de latence [(**Marelle et al., 1993**) ; (**Ayee et al., 2020**)].

Ce statut de latence virale correspond à une phase spécifique de l'interaction virus-hôte dont elle repose sur deux phénomènes interdépendants. Le premier est le maintien du génome viral dans le noyau à long terme même si la cellule se divise et le deuxième, essentiel au maintien de la latence virale, est l'expression des gènes dits de latence (il n'y a pas production de particules infectieuses) (**Maréchal et Piolot, 2001**).

Ces gènes codent pour des protéines qui ont des fonctions diverses. Certains d'entre eux, ont la possibilité d'immortaliser *In vitro* les lymphocytes B infectés et d'obtenir des lignées cellulaires lymphoblastoïdes (LCL). Ces derniers expriment un nombre limité de produits génétiques de l'EBV, notamment six protéines nucléaires (EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3A, EBNA-3B, EBNA-3C et EBNA-LP), trois protéines membranaires (LMP-1, LMP-2A et LMP-2B), des micro ARN codés par l'EBV (EBER1 et EBER2) et des transcrits

de la région A de BamHI pour maintenir une prolifération continue et empêcher les cellules de subir l'apoptose (Tsurumi *et al.*, 2004) (Figure 04).

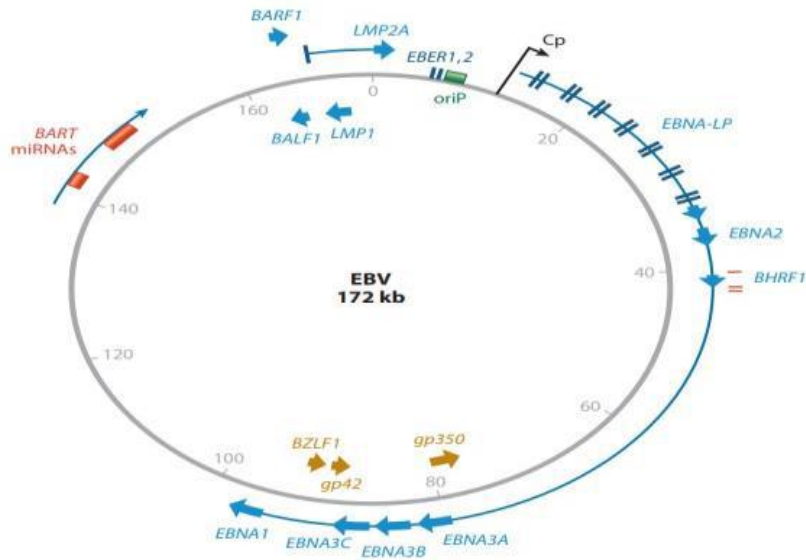


Figure. 4: Représentation schématique du l'EBV (Farrell, 2019).

L'EBV possède quatre programmes de latence distincts dans lesquels différents profils d'expression des gènes de l'infection latente ont été décrits *In vivo* et *In vitro* (Tableau 3) [(Hardie, 2010) ; (Larrat, 2010)].

Tableau 3: Programmes de latence de l'EBV (Hardie, 2010).

Programme de latence	Les gènes exprimés	Stade de différenciation de LB
latence III	EBNA1, 2, 3, LMP1, 2, EBERs	Blastocyste
latence II	EBNA1, LMP1, EBERs	Cellule B du centre germinatif
Latence I	EBNA1, EBERs	Cellule B mémoire
Latence 0	EBERs	Cellule B mémoire

Au cours de la prolifération de ces cellules B, l'EBNA1 est exprimé et impliqué dans le maintien de l'EBV sous forme épisomique et dans la réplication de l'épisome, après avoir traversé l'épithélium des muqueuses à partir de la salive. Le virus infecte les cellules B des tissus lymphoïdes secondaires tels que les amygdales, cette infection entraîne une prolifération des cellules infectées dépendante de l'EBNA2 [(Marelle *et al.*, 1993) ; (Münz, 2019)] (Figure. 5).

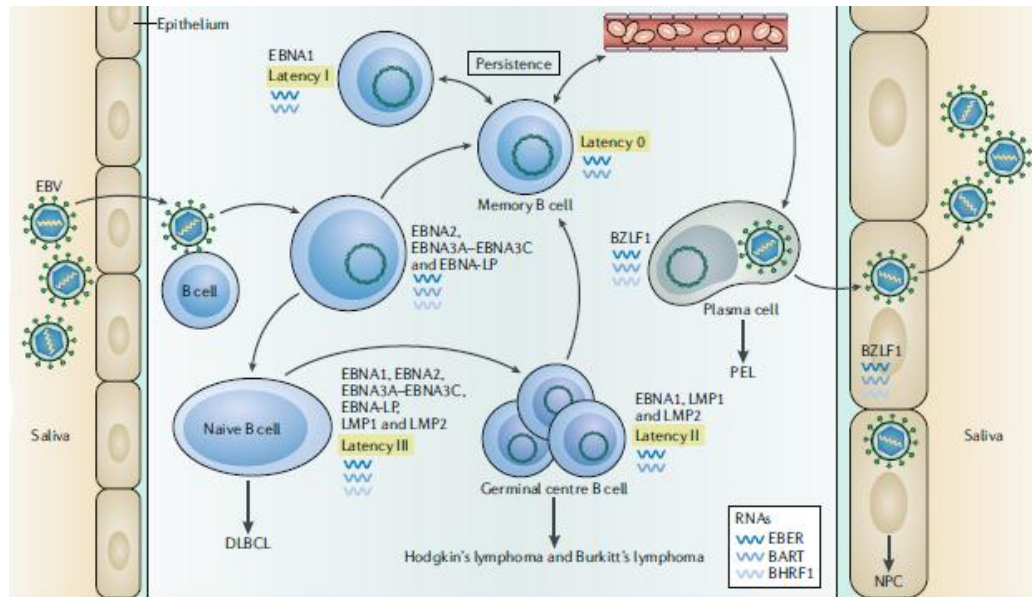


Figure. 5: Modèles d'infection latente du virus d'Epstein-Barr pour atteindre la persistance virale (Münz, 2019).

Cependant, si le lymphocyte B est la cellule qui permet la persistance de l'EBV dans l'organisme, les cellules épithéliales peuvent également être porteuses du virus (Shannon-Lowe et al., 2009). En effet, l'EBV est associé à différentes pathologies dans lesquelles sa présence a été montrée dans des cellules épithéliales. Il s'agit notamment du carcinome du cavum, de la leucoplasie orale chevelue, ainsi que d'autres cancers épithéliaux comme le carcinome gastrique et colorectal (Larrat, 2010).

Les types de latence changent parmi les différentes tumeurs malignes associées à l'EBV qui est un oncovirus bien caractérisé, associé à plusieurs malignités. La nature complexe et hétérogène du cancer colorectal (CCR) a conduit à de nombreuses associations épidémiologiques causales avec le CCR. Cependant, un lien de causalité direct entre les infections microbiennes et le CCR n'a pas encore été établi (Bedri et al., 2018).

2.3.3. Cycle lytique

L'EBV réactive la réplication lytique lors de la différenciation des plasmocytes et une réplication lytique élevée de l'EBV peut également être trouvée dans le lymphome d'épanchement primaire (PEL) associé à l'EBV. Cette réactivation lytique permet très probablement l'infection des cellules épithéliales pour une excrétion efficace dans la salive et la transmission du virus (Münz, 2019).

La réplication lytique diffère de l'état d'amplification latente dans la mesure où de multiples cycles de réplication sont initiés dans l'oriLyt (Lytic origin) (Hammerschmidt et

Sugden, 1988). Le processus de réplication dépend davantage des protéines de réplication codées par l'EBV (**Fixman et al., 1995**).

La protéine ZEBRA (Z Epstein-Barr replication activator), codée par le gène BZLF1 (BamHI Z fragment leftward open reading), est le commutateur induisant le passage de la latence au cycle répliatif [(**Lieberman et al, 1990**) ; (**Yin et al, 2004**)]. Elle induit sa propre expression mais également celle des facteurs de transcription codés respectivement par les deux gènes lytiques clés de l'EBV immediate-early (IE), BZLF1 et BRLF1 lors de la réactivation. Ces gènes codent pour les transactivateurs qui activent les promoteurs viraux et certains promoteurs cellulaires, conduisant à une cascade ordonnée de l'expression des gènes viraux : activation de l'expression des gènes précoces, suivie de la cascade lytique de réplication du génome viral et de l'expression des gènes tardifs (**Münz, 2019**).

Dans le cycle de production virale, le génome de l'EBV est amplifié plus de 100 fois. Les intermédiaires de la réplication de l'ADN viral se présentent sous la forme de grosses molécules, qui sont ensuite clivées en génomes de longueur unitaire et empaquetées dans des virions dans le noyau (**Tsurumi et al., 2004**).

Afin de pouvoir infecter de nouveaux hôtes et également renforcer le pool de cellules B mémoires porteuses du virus, ce dernier doit pouvoir aboutir à une excrétion de particules virales infectieuses. Les signaux naturellement à l'origine de la différenciation des cellules B mémoires en plasmocytes sécréteurs vont également permettre au virus de se réactiver. La capacité des cellules B mémoires infectées à se transformer en plasmocytes où le virus se réplique est confirmée par les travaux d'**Al Tabaa et al. (2009)**.

Le sort des cellules qui se divisent peut-être par apoptose, mais pas avant que le virus ne soit entré dans le programme lytique, libérant ainsi des virions infectieux (**Faulkner et al., 2000**). L'ensemble de ce phénomène de réplication virale se produit essentiellement dans les lymphocytes B mémoires lors de leur différenciation en plasmocytes. Cette différenciation cellulaire en plasmocyte conduit les cellules vers les épithéliums muqueux comme les amygdales, où il y a un relargage de particules virales dans la salive à la place des anticorps, ce qui permet la transmission inter-individus [(**Larrat, 2010**) ; (**Al Mohamad, 2016**)].

Le rôle de la réplication lytique de l'EBV dans la formation de tumeurs associées à l'EBV est étayé par les délétions des micro ARN codés par l'EBV, qui se sont avérées être enrichies dans les lymphomes NK/T et les lymphomes diffus à grandes cellules B associés à

l'EBV. On suppose que ces virus favorisent des niveaux plus élevés de réplication lytique de l'EBV en raison de la régulation positive de l'expression de BZLF1 et BRLF1 qui est supprimée par l'un des microARN (Münz, 2019) (Figure. 6).

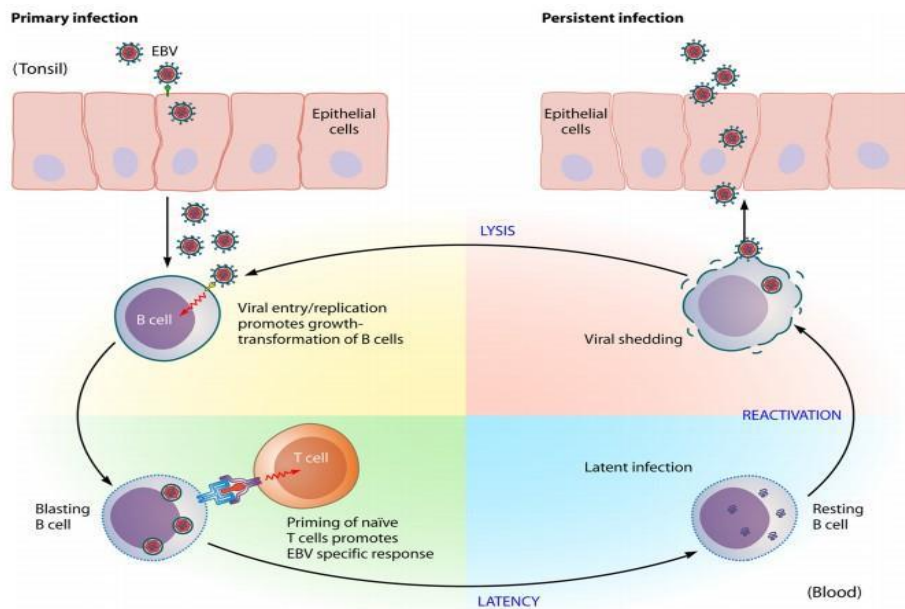


Figure. 6: Cycle de vie de l'EBV (Balfour et al., 2011).

2.4. Diagnostic

Le diagnostic d'EBV peut être réalisé par les méthodes suivantes:

- ✓ **Détection d'anticorps hétérophile (Technique ELISA) :** l'infection par l'EBV entraîne une stimulation de la production d'anticorps non spécifiques de type IgG et IgM. Dans la mononucléose infectieuse, ces anticorps sont capables d'agglutiner les hématies de certaines espèces animales [(Hanto, 1995) ; (Kara-Mostefa et al., 2003)]. La sérologie utilisant des techniques d'immunofluorescence ou surtout de type ELISA permet de faire le diagnostic d'une infection aiguë ou ancienne (Amiel, 2013).
- ✓ **L'immunohistochimie :** implique la coloration des protéines clés de latence de l'EBV telles que LMP-1, LMP-2A, EBNA-1 et -2 dans les biopsies tumorales, elle est utilisée pour confirmer la présence du virus et pour distinguer entre les tumeurs associées et les tumeurs non associées à l'EBV (Ayee et al., 2020).
- ✓ **Recherche de virus par culture :** elle permet la détection et le titrage de nombreux types d'anticorps ; mise en évidence certains antigènes (surtout les EBNA) ; culture du virus infectieux sur cellules *In vitro* ; les lymphocytes infectés sont eux même mis en culture (Seigneurin et Buisson, 1995).

- ✓ **Recherche par l'utilisation des microscopies électroniques**
- ✓ **Détection du génome viral** : la PCR est la technique actuellement la plus utilisée pour mettre en évidence le génome de l'EBV et surtout pour la quantification de la charge virale (PCR en temps réel) ; L'hybridation *In situ* de l'ARN est considérée comme le test de référence pour la détection et le diagnostic de l'infection par le virus EBV [(Grosjean et al., 2011) ; (Ayee et al., 2020)].

2.5. Prévention

2.5.1. Prévention par vaccination

De nombreux vecteurs viraux différents ont été développés pour être utilisés comme vaccins, notamment les poxvirus, les adénovirus et le virus de la fièvre jaune. Le premier vaccin qui a été mis au point comme vaccin thérapeutique contre le cancer EBV-positif testé chez l'homme a utilisé un virus recombinant vivant exprimant l'antigène membranaire de l'EBV, c'est le vaccin (MVA : modified vaccinia virus Ankara) codant pour les antigènes EBV EBNA1 et LMP2 (MVA-EL) (Rühl et al., 2020).

Ce type de vaccin pourrait avoir un intérêt, d'une part dans la prévention de l'infection, d'autre part, dans la diminution de la dissémination virale au cours de réactivations chez l'individu infecté (Biomnis, 2012).

2.5.2. Prévention par dépistage

Il est avantageux d'utiliser les (Ac anti-VCA : anticorps anti-viral capsid antigen) en première intention puis les Ac anti-EA en deuxième intention comme test de confirmation chez les personnes dépistées IgA anti-VCA positives (Karray-Hakim et al., 2009).

2.6. Traitement

Au cours des infections graves à EBV chez le patient immunodéprimé, des médicaments antiviraux tels que l'aciclovir, le ganciclovir, le foscarnet et le cidofovir ont été essayés avec des résultats inconstants. De plus, il existe des vitamines et des extraits de plantes qui inhibent efficacement la réplication de l'EBV. Dans chaque cas, l'activité anti-EBV est dirigée vers la prévention de la réplication, et aucun n'a d'effet sur la phase latente de l'infection (Kerr, 2019). Dans le cas des lymphoproliférations, outre la radio et la chimiothérapie, des essais de stimulations ou de restauration de la réponse cytotoxiques sont en cours (Biomnis, 2012).

2.7. EBV et cancers

L'EBV a été impliqué dans une grande diversité de cancers, dont la plupart apparaissent des années après la primo-infection (**Krueger et al., 2010**).

Les tumeurs malignes épithéliales qui sont associées à la présence de l'EBV dans les cellules épithéliales comprennent le cancer du nasopharynx, le cancer gastrique, le cancer du sein et le cancer colorectal. Il peut également être présent dans certains cas rares de léiomyosarcome (une tumeur des cellules musculaires lisses qui se développe chez les personnes immunodéprimées).

Les lymphomes dérivés des cellules B comprennent: Lymphome de Burkitt, lymphome de Hodgkin et les troubles lymphoprolifératifs post greffe qui sont causés par l'expression des produits des gènes de latence I, II, et III respectivement [(**Farrell, 2019**) ; (**Ayee et al., 2020**)] (**Figure. 7**).

Actuellement, les données sur le rôle et l'expression de l'EBV dans le cancer colorectal sont rares et contradictoires, sans preuve claire du rôle actif de l'EBV dans la carcinogénèse colorectale (**Collins et al., 2011**).

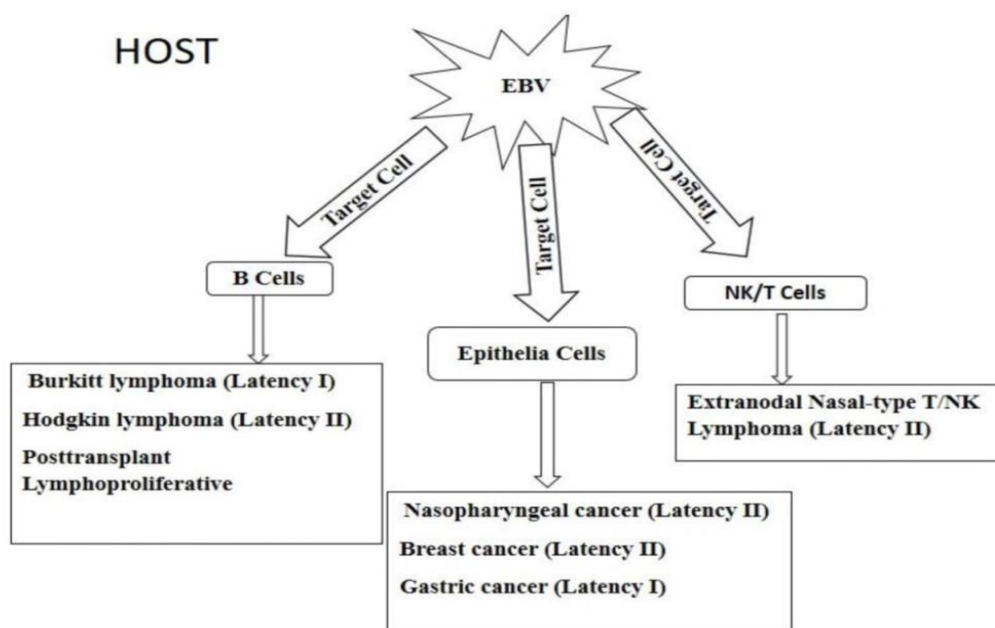


Figure. 7: Vue diagramme des tumeurs malignes causées par une infection à l'EBV (**Ayee et al., 2020**).

ANALYSE D'ARTICLES

1. Méthodologie

1.1. Objectif

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude de synthèse à partir de trois articles sur la coprésence et la coinfection des cancers colorectaux (CCR) par deux virus oncogènes : l'HPV et l'EBV responsables de plusieurs types de cancers chez l'homme, y compris les cancers colorectaux.

1.2. Matériel et méthodes

Pour effectuer cette analyse, un traitement de trois articles a été réalisé :

✓ **Article 1**

High-Risk Human Papillomaviruses and Epstein–Barr Virus in Colorectal Cancer and Their Association with Clinicopathological Status (Les papillomavirus humains à haut risque et le virus d'Epstein-Barr dans le cancer colorectal et leur association avec le statut clinicopathologique), Gupta I., Al Farsi H., Jabeen A., Skenderi F., Al-Thawadi H., AlAhmad YM., Abdelhafez I., Al Moustafa AE et Vranic S. (2020). Pathogens, 9, 452; doi:10.3390/pathogens9060452.

Ce travail réalisé par **Gupta et al. (2020)** afin d'explorer le statut des papillomavirus humains (HPV) à haut risque (HPV-HR) (16, 31, 18, 51, 52 et 45) et du virus d'Epstein-Barr (EBV) dans une cohorte de CCR bien définie provenant de 106 patients bosniaques.

✓ **Article 2**

Co-presence of Epstein–Barr virus and high-risk human papillomaviruses in Syrian colorectal cancer samples (Coprésence du virus d'Epstein-Barr et de papillomavirus humains à haut risque dans des échantillons de cancer colorectal en Syrie), Malki MI., Gupta I., Fernandes Q., Aboukassim T., Yasmeen A., Vranic S., Al Moustafa AE et Al-Thawadi H. (2020). Human Vaccines & Immunotherapeutics, DOI: 10.1080/21645515.2020.1726680.

Une étude effectuée par **Malki et al. (2020)**, pour but d'évaluer la présence des papillomavirus humains (HPV) à haut risque de types 16, 18, 31, 33 et 35 et du virus d'Epstein-Barr (EBV) dans les cancers colorectaux humains provenant de 102 patients syriens.

✓ **Article 3**

Copresence of High-Risk Human Papillomaviruses and Epstein-Barr Virus in Colorectal Cancer: A Tissue Microarray and Molecular Study from Lebanon (Coprésence des papillomavirus humains à haut risque et du virus d'Epstein-Barr dans le cancer colorectal : Une étude moléculaire et de microréseau tissulaire au Liban), Nagi K., Gupta I., Jurdi N., Yasmeen A., Vranic S., Batist G et Al Moustafa AE. (2021). International Journal of Molecular Sciences,doi.org/10.3390/ijms22158118.

Cette recherche menée, par **Nagi et al. (2021)**, pour déterminer la prévalence des HPV à haut risque (16, 18, 35, 58, 51, 45, 52, 31, et 33) et EBV dans une cohorte de 94 échantillons de tissus de CCR et 13 tissus normaux colorectaux provenant de la population libanaise.

1.2.1. Prélèvement des échantillons

D'après les trois articles, tous les échantillons ont été prélevés sur des tissus fixés au formol et incorporés en paraffine (FFPE: formalin-fixed-paraffin-embedded) de carcinomes colorectaux retirés chirurgicalement et confirmés pathologiquement.

Tous les cas ont été réexaminées afin de confirmer le diagnostic et de sélectionner les FFPE appropriés pour la réalisation de puces à ADN tissulaires (TMA), l'immunohistochimie (IHC) et les tests PCR (Article 1 et 2).

1.2.2. Extraction de l'ADN

L'ADN a été extrait des échantillons de tissus FFPE à l'aide du kit de purification d'ADN FFPE GeneJET de Thermo Scientific, conformément aux instructions du fabricant (ThermoFisherScientific, États-Unis). Les coupes FFPE ont été soumises à une digestion enzymatique en utilisant 200µL de tampon de digestion. Après la digestion, 20µL de solution de protéinase K ont été ajoutées pour lyser et libérer l'ADN génomique, qui a été dénaturé par incubation à la chaleur (90°C) pendant 40 minutes. La solution obtenue a ensuite été centrifugée et le surnageant contenant l'ADN a été mélangé avec 200µL de solution de tampon de liaison. Après addition d'éthanol (96 %), le lysat a été chargé sur la colonne de purification et l'ADN adsorbé a été soumis à un lavage (tampon de lavage 1 et 2) pour éliminer les contaminants. L'ADN a été élué avec 60µL de tampon d'éluion (Article 1 et 3).

1.2.3. Détection du HPV et de l'EBV par PCR

Vingt-cinq (25) nanogrammes d'ADN génomique purifié de chaque échantillon ont été utilisés pour la détection de l'HPV et l'EBV par réaction en chaîne par polymérase (PCR) (**Glenn et al., 2012**) en amplifiant les gènes L1 pour l'HPV et les gènes E6/E7 pour HPV-HR

ainsi que pour les gènes LMP1 et/ou EBNA1 pour l'EBV. Le gène GAPDH a été utilisé comme contrôle interne dans les 3 articles.

➤ **Principe de la PCR**

La PCR (Polymerase Chain Reaction ou réaction de polymérase en chaîne) est une technique d'amplification d'ADN *In vitro*. Elle permet d'obtenir un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie. Chaque cycle de PCR est constitué de trois étapes : une dénaturation de l'ADN par chauffage pour séparer les deux brins qui le composent, une hybridation des amorces aux extrémités de la séquence recherchée, puis une élongation grâce à l'action d'une ADN polymérase. Ce cycle est répété un grand nombre de fois pour obtenir une multiplication exponentielle de la séquence d'ADN cible (**Gil, 2007**).

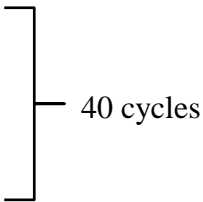
➤ **Technique**

La technique a été utilisée dans les 3 articles. La PCR a été réalisée en utilisant le master mix Invitro gen Platinum II Hot-Start Green PCR (2X) (ThermoFisherScientific, Waltham, MA, États-Unis).

L'amplification d'E6/E7 pour détecter les HPV-HR a été réalisée dans les trois articles. **Malki et al. (2020)** (article 2) ont réalisé aussi l'amplification du gène L1 pour la détection des HPV en utilisant les amorces MY09/MY11 et GP5+/GP6+ (**Tableau 4**).

Concernant l'EBV, l'amplification des gènes LMP1/EBNA1 a été réalisée dans l'article 1 et seulement le gène LMP1 dans l'article 2 et 3 en utilisant les amorces indiquées dans le Tableau 4.

Le programme de PCR suivi était presque le même pour tous les gènes et dans tous les articles traités dans cette étude, avec de petites variations dans la température d'élongation dépendant de la température de fusion de chaque amorce. Il était comme suit:

- Dénaturation initiale : 95 °C pendant 10 min.
 - Dénaturation : 95°C pendant 30s.
 - Hybridation : 50-62°C pendant 1 min.
Selon la température de fusion de chaque amorce.
 - Élongation : 72°C pendant 1min.
 - Élongation finale : 72°C pendant 10 min.
- 

1.2.4. Électrophorèse

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode classique utilisée de façon standard afin de séparer, identifier et purifier des fragments d'ADN ou d'ARN. Elle est

réalisée dans une cuve horizontale. Leur séparation repose sur leurs différences de charge, de taille et de structure, le produit PCR de chaque gène a été résolu par électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5% (Dartois, 2011).

Tableau 4: Les amorces utilisées (Les trois articles).

Virus	Article	Gènes	Amorces sens et inverses
HPV	2	L1	MY09/MY11 et GP5+/GP6+
HPV-HR	1,2 et 3	E6/E7	Non mentionné dans l'article
EBV	1 et 2	LMP1	5'-TTGGAGATTCTCTGGCGACT-3'
			5'-AGTCATCGTGGTGGTGTTC-3'
	3		Non mentionné dans l'article
	1	EBNA1	5'-GAGCGGGGAGATAATGTACA-3'
			5'-TAAAAGATGGCCGACAAGG-3'
Contrôle interne	1 et 2	GAPDH	5'-GAAGGC-CATGCCAGTGAGCT-3'
			5'- CCGGGAAACTGTGGCGTGAT-3'
	3		Non mentionné dans l'article

1.2.5. Puces à ADN tissulaires (TMA : Tissue microarrays)

Cette technique a été utilisée chez les trois populations. Elle permet de définir des plans expérimentaux sur un très grand nombre de tissus, les échantillons de cancers et les contrôles ont été incorporés dans un bloc de paraffine vierge TMA à l'aide d'un tissu manuel non automatisé (Beecher Instruments, Silver Spring, MD, USA). Des cas de contrôle et de cancer ont été implantés dans des boîtes de Pétri.

Après le prélèvement de deux carottes de TMA de 1 mm de diamètre, des sections de 4 µm ont été coupées et colorées à l'hématoxyline et à l'éosine sur les lames initiales afin de confirmer le diagnostic histopathologique. Des tests d'immunohistochimie (IHC) ont été réalisés sur les lames des blocs complétés contre E6 et LMP1 des HPV et EBV à haut risque, respectivement.

1.2.6. Immunohistochimie (IHC)

Cette technique a pour but d'exprimer les antigènes E6 d'HPV et LMP1 d'EBV, la technique a été utilisée dans les 3 articles.

Pour la construction de la TMA, chaque lame a été déparaffinée dans l'alcool gradué, réhydratée et bouillie (micro-ondes) dans une solution de citrate de sodium 10mM (pH 6,0) pendant 10 minutes (Article 1 et 3). L'activité peroxydasique endogène dans le tissu réhydraté a été bloquée avec une solution de peroxyde d'hydrogène à 3% dans du méthanol pendant 10 minutes à température ambiante. Les lames de TMA ont ensuite été incubées pendant 35 min à 37°C avec des anticorps monoclonaux primaires pour E6 (clones 1-4 et C1P5, DakoAgilent, Carpinteria, CA, USA et Calbiochem, Canada) et LMP1 (clone CS1-4, Abcam) en utilisant un immunocollleur entièrement automatisé (VentanaMedical System, Tucson, AZ). Le système VentanaMedical entièrement automatisé utilise un système indirect de biotine-avidine avec un anticorps secondaire universel à base d'immunoglobuline biotinylée. Les lames ont été contre-colorées avec de l'hématoxyline avant le montage. Les procédures de coloration ont été réalisées conformément aux recommandations du fabricant. Des contrôles négatifs ont été obtenus en omettant les anticorps primaires spécifiques pour E6 et LMP1 ainsi que les peptides de blocage spécifiques (Les trois articles).

Les tumeurs ont été considérées comme positives pour E6 et LMP1 si les cellules cancéreuses présentaient une positivité de $\geq 1\%$ des cellules. Dans le cas de l'expression de la protéine LMP1, ils ont également évalué la présence d'une infection virale dans les lymphocytes infiltrant la tumeur et les cellules stromales [(Al-Thawadi et al., 2018) ; (Malki et al., 2020)].

Cependant, Nagi et al. (2021) considèrent que la PCR est plus sensible que l'IHC, les données de la PCR ont été considérées comme fiables et ont été utilisées pour l'analyse de corrélation pour l'article 3.

1.2.7. Analyse statistique

À l'aide de différents tests, la corrélation entre la présence des deux virus HPV et EBV avec le grade de carcinomes et les caractéristiques clinico-pathologiques a été étudiée dans les 3 articles.

Le test de corrélation de Spearman a été utilisé pour évaluer l'importance des associations entre le HPV et l'EBV. Ils ont également effectué le test χ^2 , ainsi que les tests de correction de Yates, pour évaluer la signification de la corrélation entre les HPV et les EBV et les

données clinico-pathologiques (âge du patient, sexe, localisation de la tumeur, grade du cancer et stade de la tumeur). Les résultats ont été considérés comme statistiquement significatifs si les valeurs p étaient de 0,05 dans les tests bilatéraux. Toutes les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel IBM Statistical Package for the Social Sciences (version 25).

2. Résultats

Afin d'étudier la présence des HPV-HR et de l'EBV dans les tissus cancéreux colorectaux humains, trois articles ont été analysés dans ce travail ; l'étude de **Gupta et al. (2020)** (Article 1) avait pour but d'étudier la coprésence de deux virus, qui pourraient conduire à l'apparition et au développement du CCR dans la population bosniaque ; **Malki et al. (2020)** (Article 2), ont examiné la coprésence de l'EBV et des HPV à haut risque dans des échantillons de cancer colorectal provenant de la population syrienne et **Nagi et al. (2021)** (Article 3), ont effectué une étude au Liban sur la coprésence des papillomavirus humains à haut risque et du virus d'Epstein-Barr dans les cas de cancer colorectal. Les données ont été interprétées selon les paramètres suivants :

2.1. Selon l'âge

L'âge moyen des patients de la population bosniaque était de 65 ans avec des extrêmes d'âge allant de 41 à 86 ans. Alors que celui des patients de la population libanaise, il était de 60 ans avec des extrêmes d'âge allant de 3 à 89 ans. L'âge moyen des patients de la population syrienne était de 49 ans.

2.2. Selon le sexe

Dans la population bosniaque, l'étude a porté sur les échantillons de 64 (60%) hommes et 42 (40%) femmes. Tandis que, L'étude de **Nagi et al. (2021)** a inclus 107 échantillons de CCR provenant de 37 (35%) libanais et 70 (65%) libanaises. Et une cohorte de 102 blocs FFPE provenant de patients syriens atteints de cancer colorectal, dont 49 (48.04%) hommes et 53 (51.96%) femmes.

2.3. Selon le type de cancer

Dans la population bosniaque, l'étude a porté sur un total de 106 cas de cancers colorectaux dont la grande majorité des échantillons ont été prélevés dans le rectum (102 cas, 96%), les quatre échantillons restants provenaient du côlon sigmoïde et d'autres parties du gros intestin.

Toutes les tumeurs étaient histologiquement des adénocarcinomes. La majorité des cancers étaient de grade II (modérément différenciés) (65 cas, 62%), tandis que 39 cas (37%) étaient de grade III (peu différenciés) et un seul cas était un adénocarcinome rectal de grade I (bien différencié).

Concernant l'étude réalisée par **Nagi et al. (2021)**, sur 107 échantillons dont la pluralité des spécimens étaient prélevés dans le côlon rectosigmoïde (46 cas, 49 %), tandis que les échantillons restants provenaient d'autres parties anatomiques du côlon (48 cas, 51 %). Toutes les tumeurs de la présente étude ont été confirmées histologiquement comme étant des adénocarcinomes. Parmi les cas étudiés, la majorité des cancers (72 cas, 77%) étaient de grade I (bas grade), tandis que 22 cas (23%) étaient de grade II (haut grade).

2.4. Selon la présence d'HPV et/ou EBV

2.4.1. Chez la population Bosniaque

- **HPV-HR**

Quatre HPV à risque élevé les plus courants (16, 18, 31 et 35) ont été trouvés dans 82 % des cas. Les HPV à haut risque les plus fréquemment retrouvés dans l'ensemble de la cohorte (n=106) étaient le HPV16 (53%), suivi du HPV31 (51%), du HPV18 (50%), du HPV 51 (46%), du HPV 52 (39%), du HPV 45 (39%), du HPV 35 (26%), HPV56 (9%) et HPV39 (0.9%).

Il est signalé que vingt-cinq (25) cas (22,6 %) étaient co-infectés par les HPV16 et 18 et le phénotype HPV16-/HPV18+ était significativement plus élevé (75 %) chez les hommes par rapport au phénotype HPV16+/HPV18- (48 %) ($p = 0,035$).

Parmi les cas de cancers du rectum (n = 102), les quatre HPV à haut risque les plus courants (16, 18, 31 et 35) étaient présents dans 83/102 (81 %) des cas et 23 cas (22,5 %) étaient co-infectés par les HPV16 et 18.

Ces cancers du rectum étaient co-infectés par plus d'un type de HPV dans 74 des 102 échantillons (72,5 %). Trois co-infections ou plus ont été observées dans 58 échantillons de cancer du rectum sur 102 (57 %) dont 14 cas (13,6 %) présentaient trois co-infections HPV, 18 cas (17,5 %) quatre co-infections, 11 cas (10,7 %) cinq co-infections, 12 cas (11,7 %) six co-infections et trois cas (2,9 %) présentaient sept co-infections HPV à haut risque. Les combinaisons les plus fréquemment exprimées étaient les HPV16/18/51 avec 11/102 cas, soit un taux de 10,8 %, suivies des HPV16/18/31 dans 10/102 cas (9,8 %).

Les résultats interprétables par IHC ont été obtenus pour 58 cas d'HPV. 45 cas (77,5 %) étaient positifs pour E6 au-dessus du seuil de 1 % des cellules cancéreuses positives. Les échantillons positifs pour E6 du HPV ont montré une association statistiquement significative avec les cancers d'origine rectale ($p = 0,024$).

- **EBV**

Les résultats ont été obtenus par PCR, parmi les 106 cas validés de cancer colorectal, 15 patients (14,1 %) étaient positifs pour EBNA1 seul et 26 (24,5 %) étaient positifs pour le gène LMP1 d'EBV ; 15 (14,1%) des cas étaient positifs pour les deux gènes (EBNA1 et LMP1). EBNA1 et LMP1 étaient individuellement présents dans 15/102 (14%) et 25/102 (24%) des cas de cancer du rectum, respectivement ; 15/102 (14%) des cas étaient positifs pour les deux séquences (EBNA1 et LMP1).

Pour calculer le nombre de cas d'EBV, les échantillons positifs pour EBNA1 et LMP1 ont été pris ensemble, ce qui a donné un total de 26 cas.

L'expression de LMP1 d'EBV a été trouvée dans 11% des cas. La méthode IHC a été utilisée pour étudier 63 cas d'adénocarcinome du côlon (anticorps anti-LMP1). Une réponse positive n'a été détectée que dans 7/63 cas, ce qui est presque 2 fois moins que la PCR.

Le LMP1 des échantillons positifs pour l'EBV par IHC semblait être associé aux adénocarcinomes de grade 2 ($p = 0,035$).

- **HPV-HR/EBV**

Sur les 106 échantillons, seuls 17 (16 %) des cas colorectaux étaient positifs à la fois pour les HPV à haut risque et pour l'EBV. Sur ces 17 cas de coprésence de l'EBV (EBNA1 et LMP1) et des HPV à haut risque, 16 ont été détectés dans les cancers rectaux (16%) (**Tableau 5**).

En outre, une corrélation significative entre l'EBV et divers types de HPV (HPV16 ($p = 0,02$), HPV18 ($p = 0,03$), HPV35 ($p = 0,03$), HPV52 ($p = 0,03$) et HPV56 ($p = 0,003$)) a été trouvé dans les échantillons de cancer du rectum (test 2 avec correction de Yates) (**Tableau 5**).

Tableau 5 : La prévalence des types de HPV à haut risque et leur relation avec le statut EBV dans cohorte de cancer du rectum (n=102). Les valeurs *p* significatives sont marquées d'un astérisque (Gupta et al., 2020).

Samples	No. of Cases	High-Risk HPV Types										
		16	18	31	33	35	39	45	51	52	56	58
EBV (+)	26	18	17	15	0	11	0	7	16	7	6	0
EBV (-)	76	30	30	37	0	14	0	30	30	6	2	0
Total	102	48	47	52	0	25	0	37	46	13	8	0
<i>p</i> -value		0.02 *	0.03 *	0.57	N/A	0.03 *	N/A	0.36	0.08	0.03 *	0.003 **	N/A

Quatre des sept (4/7) cas LMP1-positifs exprimaient également E6 du HPV. Lorsqu'elle était positive, l'expression de E6 du HPV et de LMP1 de l'EBV était diffusée (>50% des cellules cancéreuses étaient positives) dans la majorité des cas. Il est signalé que la muqueuse normale adjacente était dépourvue d'E6 tandis que l'expression de LMP1 était occasionnellement observée dans les lymphocytes infiltrant la tumeur (TIL) et les agrégats lymphatiques au sein de la tumeur et des structures adjacentes.

Les données de la PCR et de l'IHC étaient en bonne concordance pour l'analyse du HPV, tandis que des données discordantes ont été observées pour l'évaluation de l'EBV ; cependant, l'évaluation de l'inter-fiabilité entre la PCR et l'IHC était passable (Kappa = 0,31 ; *p* = 0,005).

2.4.2. Chez la population syrienne

- **HPV-HR**

Malki et al. (2020), ont signalé que 38 des 102 échantillons de cancer colorectal étaient positifs pour les HPV à haut risque (37%) (Tableau 6).

En ce qui concerne le géotypage des HPV-HR dans ces échantillons, les résultats montrent que les HPV-HR les plus répandus parmi les échantillons positifs sont les types 16 (46%), 18 (38%), 31 (8%), 33(46%) et 35 (19%).

Plus précisément, dans les adénocarcinomes intestinaux modérément différenciés et de haut grade (Grade II et III), l'expression de la protéine E6 par IHC est principalement diffuse (90-100% des cellules cancéreuses positives) et forte (intensité 2-3+ sur l'échelle 0-3+), alors qu'il n'y a pas de positivité de l'E6 dans le stroma cancéreux adjacent.

- **EBV**

Parmi les 102 cas étudiés, 20 (20%) sont positifs pour l'EBV dans les cancers colorectaux (**Tableau 6**).

De même, les carcinomes de haut grade/modérément différenciés surexpriment l'oncoprotéine LMP1 dans un modèle nucléaire principalement diffus (>75% des cellules positives à une intensité de 1-2+ sur l'échelle 0-3+) avec une positivité occasionnelle dans les cellules stromales (lymphocytes infiltrant la tumeur), qui ont servi de contrôle positif.

- **HPV-HR/EBV**

Dans cette étude, ils ont examiné la coprésence de l'EBV et des HPV à haut risque dans les échantillons de cancer colorectal provenant de la Syrie. Ils rapportent que 17 (~17%) des 102 échantillons provenant de cas de cancer colorectal en Syrie sont positifs pour les deux (HPV+/EBV+) (**Tableau 6**) ; la coprésence de l'EBV et des HPV à haut risque a été confirmée pour tous les 17 échantillons par PCR et une analyse IHC utilisant des amorces spécifiques pour LMP1 et E6/E7 ainsi que des anticorps monoclonaux pour LMP1 et E6 de l'EBV et des HPV à haut risque, respectivement.

De manière plus significative, ils ont constaté que la co-expression de LMP1 et des oncoprotéines E6 de l'EBV et des HPV à haut risque dans les 17 cas positifs est associée à des phénotypes de carcinome invasif de degré élevé/intermédiaire par rapport à 60 % des échantillons EBV+/HPV-, 74 % des échantillons EBV-/HPV+ ou 48 % des échantillons EBV-/HPV-, avec des valeurs P de 0,0031, 0,0155 et 0,0002 pour le groupe de 17 échantillons co-exprimés par rapport à chacun des trois derniers groupes, respectivement.

Par conséquent, 85%, 79% et 93% des échantillons EBV+/HPV-, EBV-/HPV+ et EBV-/HPV- se révèlent être de grade faible/intermédiaire avec des valeurs P de 0,0056, 0,0020 et 0,0001 respectivement par rapport au groupe co-exprimé, (**Tableau 6**). En revanche, la muqueuse colorectale normale et les cellules épithéliales, qui ont servi de témoins, étaient négatives pour l'EBV et les HPV à haut risque.

Tableau 6 : Détection de l'EBV et des HPV à haut risque dans les cas de cancer colorectal humain et leur association avec le grade de la tumeur (Malki *et al.*, 2020).

EBV/HPVs Status ^a	EBV ⁺ /HPVs ⁺	EBV ⁺ /HPVs ⁻	EBV ⁻ /HPVs ⁺	EBV ⁻ /HPVs ⁻
Number of Samples ^b	17 (17)	20 (20)	38 (37)	27 (26)
Tumor Grade				
High	10 (59)	3 (15)	8 (21)	2 (7)
Intermediate	7 (41)	9 (45)	20 (53)	11 (41)
Low	0 (0)	8 (40)	10 (26)	14 (52)
High & Intermediate ^c	17 (100)	12 (60)	28 (74)	13 (48)
<i>p-value</i>		.0031**	.0155*	.0002**
Intermediate & Low ^d	7 (41)	17 (85)	30 (79)	25 (93)
<i>p-value</i>		.0056**	.0020**	.0001**

Il est important de souligner que le phénotype de cancer chez les HPV+/EBV+ n'était pas lié à un type de HPV spécifique puisque tous les cas positifs étaient infectés par plus d'un type de HPV-HR.

2.4.3. Chez la population libanaise

- **HPV-HR**

Nagi et ses collaborateurs en 2021, ont constaté que 60 des 94 échantillons de cancer colorectal étaient positifs pour les HPV à haut risque (63,8 %), le HPV à haut risque le plus souvent identifié dans la cohorte (n = 94) était le HPV16 (39 %), suivi du HPV18 (38 %), du HPV35 (29 %), du HPV58 (28 %), du HPV51 (26 %), HPV45 (23%), HPV52 (21%), HPV31 (14%) et HPV33 (4%). Les HPV de types 39, 56, 59, 66, et 68 n'ont pas été détectés dans les échantillons examinés.

D'autre part, 4 des 13 tissus normaux colorectaux (31%) étaient positifs pour le HPV ; cependant, une différence significative a été notée dans l'incidence de l'infection par le HPV entre les cas de CCR et les témoins ($p = 0,03$). Parmi les 4 échantillons normaux du CR, aucun n'exprimait plus d'un type d'HPV.

En outre, les données ont montré que 9 (9,6 %) cas de CCR étaient positifs pour deux sous-types de HPV. Trois coinfections ou plus ont également été détectées dans 40/94 (42,5%) échantillons de CCR dont 8 cas (8,5 %) présentaient 3 coinfections par le HPV, 11 cas (11,7 %) 4 coinfections, 13 cas (13,8 %) 5 coinfections et 8 cas (8,5 %) ont révélé la présence de 6 coinfections HPV à haut risque.

La combinaison la plus fréquemment identifiée était le HPV16/18, où 19 des 94 échantillons de CCR (20.2%) étaient co-infectés par les HPV16 et 18.

• **EBV**

En ce qui concerne la présence de l'EBV, **Nagi et al. (2021)** ont noté que 27/94 (28,7%) des échantillons de CCR étaient positifs pour cet oncovirus, alors que tous les échantillons colorectaux normaux étaient négatifs pour l'EBV ($p = 0,03$).

• **HPV-HR/EBV**

Au total, 107 échantillons colorectaux (13 échantillons normaux et 94 échantillons cancéreux) ont donné des résultats interprétables pour la détection de l'HPV et de l'EBV par PCR.

Il est intéressant de noter que ces données ont révélé que tous les échantillons colorectaux normaux étaient négatifs pour la coprésence du HPV et de l'EBV, 26 (27,6 %) échantillons cancéreux étaient positifs à la fois pour les HPV à haut risque et pour l'EBV ($p = 0,03$). Cependant, ils ont signalé une association significative entre la présence de l'EBV et les HPV de type 18 ($p < 0,0001$), -33 ($p = 0,006$), -35, -52 et -58 ($p < 0,0001$, chacun) dans notre cohorte d'échantillons de CCR (test c2) (**Tableau 7**).

Tableau 7 : Corrélacion entre les sous-types EBV et HPV chez les patients libanais atteints de cancer colorectal (**Nagi et al., 2021**).

Samples	No. of Cases	High-Risk HPV Types								
		16	18	31	33	35	45	51	52	58
EBV (+)	27	15	24	7	4	17	9	11	11	20
EBV (-)	67	22	12	6	0	10	13	14	9	6
Total	94	37	36	13	4	27	22	25	20	26
<i>p</i> -value		0.07	<0.0001 ***	0.07	0.006 **	<0.0001 ***	0.24	0.09	<0.0001 ***	<0.0001 ***

En fonction des régions anatomiques, 33/46 (71,7 %) cas de cancer du côlon rectosigmoïde (71.7%) étaient positifs pour les HPV, tandis que l'EBV était présent dans 12/46 (26,1 %) de ces cas. En outre, 12/46 (26,1 %) cas de cancer du côlon rectosigmoïde étaient positifs à la fois pour les HPV à haut risque et pour l'EBV. D'autre part, 27/48 (56,3%) des autres parties des cas de cancer du côlon étaient positives pour les HPV, et 15/48 (31,3 %) pour l'EBV.

En outre, nous avons constaté que 14/48 (29,2 %) des autres parties des cas de cancer du côlon présentent une coprésence de HPV et d'EBV. Cependant, aucune différence

significative entre la présence d'HPV ou/et d'EBV et les localisations anatomiques n'a été retrouvée.

3. Discussion

Le cancer colorectal est l'un des principaux problèmes de cancer dans le monde en raison de sa prévalence et de son taux de mortalité élevé. Dans la plupart des pays, le CCR représente le troisième cancer le plus fréquent et la troisième cause de décès liés au cancer chez les hommes et les femmes [(Haggart et Boushey, 2009) ; (Marley et Nan, 2016)].

Le cancer colorectal regroupe le cancer du côlon et du rectum. Gupta et al. (2020), ont utilisé dans leur étude réalisée en Bosnie, une proportion de 96% de cancer du rectum et 4% de cancer du côlon. Selon Nagi et al. (2021), la proportion du cancer du côlon rectosigmoïde était 49%, tandis que, la proportion des autres parties anatomiques du côlon était 51%, alors qu'aucun cas de cancer du rectum n'a été utilisé dans cette étude. Selon la littérature, la majorité des cancers colorectaux se localisent dans le côlon et environ un tiers uniquement se localisent dans le rectum (Kinzler et Vogelstein, 2006).

L'âge moyen d'apparition du CCR était de 60 à 65 ans dans la population bosniaque et libanaise, ce qui est en accord avec la littérature (Belhamidi et al., 2018), alors que chez la population syrienne étudiée, ce cancer apparaît à un âge plus précoce (49 ans), ce qui est en accord avec l'étude de Rebecca et al. (2022) où l'incidence du CCR est en hausse chez les patients de moins de 50 ans, Selon Lowery et al. (2016) les personnes ayant un parent au premier degré (FDR) qui a reçu un diagnostic de cancer colorectal courent deux à quatre fois plus de risques que les personnes sans antécédents familiaux, avec un risque plus élevé de diagnostic avant l'âge de 50 ans.

La répartition selon le sexe est différente dans les trois articles. Le cancer colorectal est plus répandu chez le sexe masculin dont 60% étaient des hommes dans la population bosniaque, ce qui est en accord avec la littérature (Kinzler et Vogelstein, 2006). Inversement à la population libanaise, où une prédominance féminine a été observée dont 65% étaient des femmes, alors que pour la population syrienne, il existe une légère prédominance du sexe féminin dont 51,96% étaient des femmes, ce qui n'est pas cohérent avec l'étude de Mccashland et al. (2001) où les femmes développeraient moins fréquemment des cancers.

Le CCR est une maladie complexe et multifactorielle qui est fortement influencée par plusieurs facteurs notamment des facteurs viraux tels les papillomavirus humains et les virus d'Epstein-Barr (Gupta et al., 2020).

La présence des HPV à haut risque dans le cancer colorectal a été prouvée par plusieurs méta-analyses récentes, qui ont montré que l'incidence des HPV varie entre 40 à 50% [(Damin et al., 2013) ; (Ibragimova et al., 2018)]. Malki et al. (2020) ont signalé un taux de 37% des cas positifs pour l'HPV. Dans l'étude de Nagi et al. (2021), 63,8% des cas de cancer colorectal étaient positifs pour l'HPV. Alors que, dans l'étude de Gupta et al. (2020), la présence de l'HPV était beaucoup plus importante, avec un taux de 82%.

L'étude de Gupta et al. (2020) a montré que les types d'HPV-HR les plus fréquents dans la cohorte étaient le 16, 31, 18, 51, 52 et 45, ce qui est en accord avec l'étude de Nagi et al. (2021), et l'étude de Malki et al. (2020). Selon les trois articles, les HPV-HR les plus répandus étaient de types 16 et 18, ce qui est en accord avec l'étude d'Ibragimova et al. (2018). Il est bien admis que les HPV16 et 18 sont les agents les plus fréquents dans les cancers liés aux HPV; ils sont retrouvés dans 50 % des lésions cervicales précancéreuses et de 70 % des cancers du col (Favre et al., 2013).

La coinfection par l'HPV16/18 a été retrouvée dans 22,6 % dans la population bosniaque et 20,2% dans la population libanaise qui était la plus fréquemment identifiée. Alors que l'infection par 3 HPV et plus a été retrouvée dans 72,5% dans l'étude de Gupta et al. (2020) où les combinaisons les plus fréquemment exprimées étaient les HPV16/18/51, soit un taux de 10,8 %, suivies des HPV16/18/31 (9,8 %). Cette infection par 3 HPV et plus était de 42,5% dans l'étude de Nagi et al. (2021). Aucune coinfection n'a été signalée dans l'étude de Malki et al. (2020).

Concernant l'EBV, plusieurs études récentes ont montré clairement que cet oncovirus est présent dans ~20-52% des cancers colorectaux humains [(Song et al., 2006) ; (Karpinski et al., 2011)]. Dans l'étude de Gupta et al. (2020), la présence de l'EBV a été observée dans 38,6% des cas de cancer colorectal qui est proche de l'étude de Malki et al. (2020), 20% des cas positifs pour l'EBV, alors que dans l'étude de Nagi et al. (2021), 28,7% étaient positifs pour l'EBV. Ceci est cohérent avec les études de Bodaghi et al. (2005), de Song et al. (2006) et de Guan et al. (2015).

Chez la population bosniaque, 16% étaient positifs à la fois pour les HPV-HR et pour l'EBV, ce qui est très proche de la population syrienne dont 16.6% étaient positifs à la fois pour les HPV-HR et pour l'EBV, tandis que, chez la population libanaise, la proportion de cas positifs à la fois pour les HPV-HR et pour l'EBV était 27,6%.

L'étude de **Gupta et al. (2020)** a révélé une forte prévalence des HPV à haut risque et une faible positivité de l'EBV dans les échantillons de CCR. La coprésence des deux virus a été observée dans une minorité de cas (~16%) et sans aucune corrélation avec les paramètres étudiés. De même, **Nagi et al. (2021)** ont constaté que les HPV sont dominants dans les échantillons de CCR, tandis que la présence de l'EBV était comparativement faible. En outre, la coprésence des deux virus a été observée dans 28% des cas. Cependant, il n'y a pas eu de corrélation entre la coprésence des HPV et des EBV avec le grade ou le stade de la tumeur dans la population libanaise. Selon ces deux études, l'absence d'association, pourrait être expliquée par la taille relativement petite de l'échantillon ainsi qu'à la faible positivité de l'EBV dans la cohorte. D'autres études utilisant une plus grande cohorte sont nécessaires pour élucider l'éventuelle coopération entre ces oncovirus dans le développement du CCR.

Contrairement à l'étude de **Malki et al. (2020)** qui ont démontré que la coprésence de l'EBV et des HPV à haut risque dans les cancers colorectaux humains était associée aux carcinomes invasifs de grade élevé/intermédiaire dans tous les cas positifs où cette coprésence est en corrélation avec l'agressivité tumorale chez les patients syriens atteints de CCR, ce qui est en accord avec l'étude de **Daling et al. (2004)**, **Johnson et al. (2013)** et **Fernandes et al. (2020)**.

La co-infection par le HPV et l'EBV stimule la persistance de l'EBV, soit par la latence ou par une réplication virale accrue, soit en déclenchant l'expression de l'oncogène HPV (**Guidry et Scott, 2017**). De plus, le HPV et l'EBV peuvent travailler ensemble pour promouvoir la prolifération des cellules épithéliales colorectales (**Gupta et al., 2020**).

CONCLUSION

Les cancers associés à des oncovirus deviennent aujourd'hui une préoccupation mondiale. Il est devenu évident que les HPV et les EBV peuvent être coprésents dans plusieurs types de carcinomes humains, y compris le cancer colorectal. Ainsi, le rôle de la co-infection par les HPV et les EBV dans le développement du cancer doit être étudié plus en détail, ce qui peut aider à comprendre le mécanisme sous-jacent dans l'apparition et le développement de tumeurs malignes et constitue également un nouveau domaine avec des cibles candidates pour le développement de nouvelles thérapies antivirales.

Les rôles fonctionnels des deux virus s'étendent du début de l'oncogenèse ou de la transformation néoplasique à la progression de la tumeur, et enfin, l'obtention de propriétés métastatiques. Les mécanismes complexes par lesquels les virus échappent à la reconnaissance immunitaire sont des processus complexes qui doivent encore être étudiés de manière très approfondie.

Cette étude, nous a permis de constater que chez la population syrienne étudiée, l'EBV et les HPV-HR étaient co-présents dans 16,6% des cancers colorectaux et ils étaient fortement associés à un stade tumoral avancé du CCR, ce qui suggère que ces oncovirus peuvent coopérer dans la progression de ce cancer. Contrairement aux autres études, 16% des échantillons étaient positifs à la fois pour l'HPV et l'EBV dans la population bosniaque et 27,6% pour la population libanaise sans aucune corrélation entre la coprésence des deux oncovirus avec le grade ou le stade de la tumeur.

Des recherches plus poussées utilisant des approches pangénomiques peuvent ouvrir la voie au développement de modèles inclusifs des interactions persistantes entre HPV et EBV et de leurs rôles sous-jacents dans les cellules infectées. La compréhension des mécanismes par lesquels les virus entretiennent et favorisent une virulence commune est une étape majeure vers le développement de stratégies thérapeutiques dans les cancers liés aux oncovirus.

En attendant, les vaccins contre l'EBV et les HPV, respectivement en cours d'élaboration et disponibles, peuvent être utilisés comme stratégie préventive contre les infections par ces oncovirus et les cancers qui leur sont associés (**Fernandes et al., 2020**).

Comme perspective de ce travail, il sera intéressant d'étudier la présence de HPV-HR et l'EBV dans la progression des cancers colorectaux, et d'autres cancers viro-induites dans la population algérienne et notamment dans la région de Tlemcen, pour mieux comprendre le rôle de leur coopération.

Références

Bibliographiques

1. **Abban, C. Meneses, P. (2010).** Usage of heparan sulfate, integrins, and FAK in HPV16 infection. *Virology*, 403, 1-16.
2. **Abramo, C. M., & Archambault, J. (2011).** Small molecule inhibitors of human papillomavirus protein-protein interactions. *The open virology journal*, 5, 80.
3. **Ala-Eddin, A.M.; Noor, A.-A.; Amber, Y. (2016).** High-Risk Human Papillomavirus and Colorectal Carcinogenesis, Human Papillomavirus-Research in a Global Perspective. In *High-Risk Human Papillomavirus and Colorectal Carcinogenesis*; Rajkumar, R., Ed.; Intech Open: London, UK.
4. **Alain, S., Hantz, S., Denis, F. (2010).** Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection. *Médecine Thérapeutique / Pédiatrie*, vol.13, pp.5-19.
5. **Al Mohamad, H. (2016).** Etude de la balance réactivation/apoptose des cellules B infectées par l'EBV suite au traitement par un HDACi, le vorinostat (Doctoral dissertation, Université de Limoges).
6. **Al Tabaa, Y., Tuailon, E., Bollore, K., Foulongne, V., Petitjean, G., Seigneurin, J.M., Duperray, C., Desgranges, C. and Vendrell, J.P. (2009).** Functional Epstein-Barr virus reservoir in plasma cells derived from infected peripheral blood memory B cells. *Blood* 113, 604-11.
7. **Al-Thawadi, H.; Ghabreau, L.; Aboukassim, T.; Yasmeen, A.; Vranic, S.; Batist, G.; Al Moustafa, A.-E.(2018).** Co-Incidence of Epstein-BarrVirus and High-Risk Human Papillomaviruses in Cervical Cancer of SyrianWomen. *Front. Oncol.* 8, 250.
8. **Amiel, C. (2013).** Le virus Epstein-Barr (EBV): physiopathogénèse et diagnostic. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2013(456), 47-55.
9. **Antonic, V.; Stojadinovic, A.; Kester, K.E.; Weina, P.J.; Brücher, B.L.; Protic, M.; Avital, I.; Izadjoo, M. (2013).** Significance of Infectious Agents in Colorectal Cancer Development. *J. Cancer*, 4, 227–240.
10. **Ayee, R., Ofori, Meo., Wright, E., Quaye, O. (2020).** Epstein Barr virus associated lymphomas and epithelia cancers in humans. *Journal of Cancer*, vol. 11(7), pp.1737-1750
11. **Balfour, HH., Odumade, OA., Hogquist, KA.(2011).** Progress and problems in understanding and managing primary Epstein-Barr virus infections. *Clinicalmicrobiology reviews*, Vol. 24(1), pp. 193-209.
12. **Barault, L., N. Veyrie, V. Jooste, D. Lecorre, C. Chapusot, J. M. Ferraz, et al. (2008).** Mutations in the RAS-MAPK, PI (3) K (phosphatidylinositol-3-OH kinase) signaling network correlate with poor survival in a population-based series of colon cancers. *Int. J. Cancer* 122:2255–2259.
13. **Bedri S, Ali A. Sultan, Moussa Alkhalaf, Ala-Eddin Al Moustafa & Semir Vranic . (2018).** Epstein-Barr virus (EBV) status in colorectal cancer: a mini review, *Human Vaccines&Immunotherapeutics*.
14. **Beglin M., Melar-New M., Laimins L. (2009).** Human Papillomaviruses and the Interferon Response. *J Interferon Cytokine Res.* 29 (9): 629-38.
15. **Belhamidi, M. S., Sinaa, M., Kaoukabi, A., Krimou, H., Menfaa, M., Sakit, F., & Choho, A. (2018).** Profil épidémiologique et anatomopathologique du cancer colorectal: à propos de 36 caswe. *The Pan African Medical Journal*, 30.

16. **Benarba B, Meddah B, Hamdani H. (2014).** Registre du cancer de la wilaya de Mascara.
17. **Bernard, H. U. (2002).** Gene expression of genital human papillomaviruses and considerations on potential antiviral approaches. *Antiviral therapy*, 7(4), 219-237.
18. **Bibeau F, Martineau P, Del Rio M. (2016).** Classifications moléculaires du cancer colorectal en 2016.
19. **Bingham SA, Hughes R, Cross AJ. (2002).** Effect of white versus red meat on endogenous N-nitrosation in the human colon and further evidence of a dose response. *J Nutr* **132**: 3522S-3525S.
20. **Biomnis, 2012,** revue Epstein-barr (EBV).
21. **Bodaghi, S.; Wood, L.V.; Roby, G.; Ryder, C.; Steinberg, S.M.; Zheng, Z.-M.(2005).** Could human papillomaviruses be spread through blood? *J. Clin. Microbiol.* 43, 5428–5434.
22. **Bodily, J., Laimins, LA. (2011).** Persistence of human papillomavirus infection: keys to malignant progression. *Trends in microbiology*, Vol. 19(1), pp. 33-39.
23. **Bonnez, W. (2019).** Guide to genital HPV diseases and prevention. CRC Press.
24. **Bostick RM, Potter JD, Kushi LH, Sellers TA, Steinmetz KA, McKenzie DR, Gapstur SM, Folsom AR. (1994).** Sugar, meat, and fat intake, and non-dietary risk factors for colon cancer incidence in Iowa women (United States). *Cancer Causes Control* **5**: 38-52.
25. **Bourgault-Villada, I. (2007)** .Vaccination anti-Papillomavirus Humains: principes et étatd'avancement. *La Revue de médecine interne*, 2007, Vol. 28(1), pp. 22-27.
26. **Bravo, IG et Sanchez, MF. (2015)** .Papillomaviruses: Viral evolution, cancer andevolutionary medicine. *Evol Med Public Health*, 2015, 32-51.
27. **Bray, F., Ferlay, J., Soerjomataram, I., Siegel, R. L., Torre, L. A., & Jemal, A. (2018).** Global cancer statistics 2018: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: a cancer journal for clinicians*, 68(6), 394-424.
28. **Brenner, H., Hoffmeister M., Arndt V., & al., (2010).** Protection from right-and leftsided colorectal neoplasms after colonoscopy: population-based study. *J Natl Cancer Ins.* 102(2) : p. 89-95
29. **Bruchez F. (2010).** Travail de Master-Incidence des cancers et polypes colorectaux dans le canton de Vaud, 1983-2007 : Tendances et déterminants. Université de LAUSANNE.
30. **Castillo JP, Kowalik TF. (2002)** .Human cytomegalovirus immediate early proteinsand cell growth control. *Gene* (2002) 290:19–34.
31. **Chen HP, Jiang JK, Chen CY, Chou TY, Chen YC, Chang YT, et al. (2012)** . Human cytomegalovirus preferentially infects the neoplastic epithelium of colorectal cancer: a quantitative and histological analysis. *J Clin Virol* ,54:240–4.
32. **Chen H-P and Chan Y-J. (2014).** The oncomodulatory role of human cytomegalovirus in colorectal cancer: implications for clinical trials. *Front. Oncol.* 4:314.
33. **Chen HP, Jiang JK, Lai PY, Chen CY, Chou TY, Chen YC, et al. (2014)** .Tumoral pres- ence of human cytomegalovirus is associated with shorter disease-free survival in elderly patients with colorectal cancer and higher levels of intratumoral interleukin-17. *Clin Microbiol*, 20: 664–71.

34. **Chen, X.Z.; Chen, H.; Castro, F.A.; Hu, J.K.; Brenner, H. (2015).** Epstein-Barr virus infection and gastric cancer: A systematic review. *Medicine*. 94, e792.
35. **Cobo, F. (2012).** Human Papillomavirus Infections: From the Laboratory to Clinical Practice. 1ère édition. Elsevier Science, 5p.
36. **Coelho, T. R., Almeida, L., & Lazo, P. A. (2010).** JC virus in the pathogenesis of colorectal cancer, an etiological agent or another component in a multistep process? *Virology journal*, 7(1), 1-8.
37. **Cohen, J., & Enserink, M. (2008).** HIV, HPV researchers honored, but one scientist is left out. *Science*, 322(5899), 174-175.
38. **Coissard, C. J., Besson, G., Polette, M. C., Monteau, M., Birembaut, P. L., & Clavel, C. E. (2005).** Prevalence of human papillomaviruses in lung carcinomas: a study of 218 cases. *Modern pathology*, 18(12), 1606-1609.
39. **Collins D, Hogan AM, Winter DC. (2011).** Microbial and viral pathogens in colorectal cancer. *Lancet Oncol*.12(5):504–512.
40. **Cyprian, F.S.; Al-Farsi, H.F.; Vranic, S.; Akhtar, S.; Al Moustafa, A.-E. (2018).** Epstein-Barr Virus and Human Papillomaviruses Interactions and Their Roles in the Initiation of Epithelial-Mesenchymal Transition and Cancer Progression. *Front. Oncol*. 8, 111.
41. **Daling, J.R.; Madeleine, M.M.; Johnson, L.G.; Schwartz, S.M.; Shera, K.A.; Wurscher, M.A.; Carter, J.J.; Porter, P.L.; Galloway, D.A. (2004).** McDougall, J.K. Human papillomavirus, smoking, and sexual practices in the etiology of anal cancer. 101, 270–280.
42. **Damin, D.C. ; Caetano, M.B. ; Rosito, M.A. ; Schwartzmann, G. ; Damin, A.S. ; Frazzon, A.P. ; Ruppenthal, R.D. ; Alexandre, C.O.P. (2007).** Evidence for an association of human papillomavirus infection and colorectal cancer. *Eur. J. Surg. Oncol*. 2007, 33, 569-574.
43. **Dartois, H. (2011).** Contribution à la mise en oeuvre d'une méthode d'analyse des protéines sériques par électrophorèse en gel d'agarose à l'ENVA (Doctoral dissertation).
44. **Debaque, H. Eide, ML. (2012).** Méthodes de détection des HPVs et techniques de génotypage dans le dépistage du cancer du col utérin. *Annales de pathologie*, 32, 401-409.
45. **De-Martel, C., Ferlay, J., Franceschi, S., Vignat, J., Bray, F., Forman, D., Plummer, M. (2012).** Global burden of cancers attributable to infections in 2008: a review and synthetic analysis. *The Lancet Oncology*, Vol. 13(6), pp. 607–615.
46. **De Rosa, M., Pace, U., Rega, D., Costabile, V., Duraturo, F., Izzo, P., & Delrio, P. (2015).** Genetics, diagnosis and management of colorectal cancer. *Oncology reports*, 34(3), 1087-1096.
47. **Devillier, EM. Fauquet, C. Broker, TR. Bernard, HU. zurHausen, H (2004).** Classification of papillomavirus. *Virology*, 324, 17-27.
48. **Dixon, E. P., Pahel, G. L., Rocque, W. J., Barnes, J. A., Lobe, D. C., Hanlon, M. H., ... & Phelps, W. C. (2000).** The E1 helicase of human papillomavirus type 11 binds to the origin of replication with low sequence specificity. *Virology*, 270(2), 345-357.

49. **Doorbar, J. (2005).** The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology* 32, S7–S15.
50. **Doorbar, J. (2006).** Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clinical science*, Vol. 110(5), pp. 525-541.
51. **Doorbar, J., Jenkins, D., Stoler, MH., Bergeron, C. (2020).** Biology of the Human Papillomavirus Life Cycle: The Basis for Understanding the Pathology of Precancer and Cancer. In *Human Papillomavirus*, Chapter 5. pp. 67-83.
52. **Ducreux M. (2014).** Service d'oncologie digestive à Gustave Roussy. Les facteurs de risque à l'origine du cancer colorectal- Fondation ARC pour la recherche sur le cancer.34 :40- 46.
53. **Egawa, N. Egawa, K. Griffin, H. Doorbar, J. (2015).** Human Papillomaviruses; Epithelial.
54. **Epstein, M. A., Achong, B. G. & Barr, Y.M. (1964).** Virus particles in cultured lymphoblasts from Burkitt's lymphoma. *Lancet*, 1, pp. 702-703.
55. **Erhardt., J. G., Kreichgauer H.P., Meisner C. (2002).** Alcohol, cigarette smoking, dietary factors and the risk of colorectal adenomas and hyperplastic polyps-a case control study. *Eur J Nutr.* 41:35-43.
56. **Farrell, PJ. (2019).** Epstein–Barr Virus and Cancer. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*, Vol. 14, pp. 29-53.
57. **Favre, M., Ramoz, N., & Orth, G. (1997).** Human papillomaviruses: general features. *Clinics in dermatology*, 15(2), 181-198.
58. **Fedirko V, Tramacere I, Bagnardi V, Rota M, Scotti L, Islami F, Negri E, Straif K, Romieu I, La Vecchia C, Boffetta P, Jenab M .(2011) .**Alcohol drinking and colorectal cancer risk: an overall and dose–response meta-analysis of published studies. *Annals of Oncology* 22: 1958-1972.
59. **Ferlay J., Shin H.R, Bray F., Forman D., Mathers C., & Parkin D.M.(2010).**Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008.
60. **Fernandes, Q., Gupta, I., Vranic, S., & Al Moustafa, A. E. (2020).** Human papillomaviruses and epstein–barr virus interactions in colorectal cancer: A brief review. *Pathogens*, 9(4), 300.
61. **Fields BN, Knipe DM, Howley PM, et al. (2002).** *Fields Virology*, 4th edn. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA.
62. **Fixman ED, Hayward GS, Hayward SD. (1995).** Replication of Epstein-Barr virus oriLyt: lack of a dedicated virally encoded origin-binding protein and dependence on Zta in cotransfection assays. *J Virol* .69: 2998–3006.
63. **Freitas, M., Ferreira, F., Carvalho, S., Silva, F., Lopes, P., Antunes, L., Jerónimo, C. (2018).** A novel DNA methylation panel accurately detects colorectal cancer independently of molecular pathway. *Journal of translational medicine*, 16(1), 1-10.
64. **Fung T, Hu FB, Fuchs C, Giovannucci E, Hunter DJ, Stampfer MJ, Colditz GA, Willett WC. (2003).** Major dietary patterns and the risk of colorectal cancer in women. *Arch Intern Med* 163: 309-314.

65. **Garbuglia, AR., Lapa, D., Sias, C., Capobianchi, MR., Del-Porto, P. (2020).**The use of both therapeutic and prophylactic vaccines in the therapy of papillomavirus disease. *Frontiers in immunology*, Vol. 11, 188 p.
66. **Gil, L. A. (2007).** PCR-based methods for fish and fishery products authentication. *Trends in Food Science & Technology*, 18(11), 558-566.
67. **Giovannucci E., Ascherio A. & Rimm E.B. (2005).** Physical activity, obesity, and risk for colon cancer and adenoma in men. *Ann Intern Med*; 122:327-34.
68. **Glenn, W.K.; Heng, B.; Delprado, W.; Iacopetta, B.; Whitaker, N.J.; Lawson, J.S. (2012).** Epstein-Barr virus, human papillomavirus and mouse mammary tumour virus as multiple viruses in breast cancer. *PLoS ONE*, 7, e48788.
69. **Graham, SV. (2017).** The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clinical science*, Vol. 131(17), pp. 2201-2221
70. **Grm, S.H., Bergant, M., Banks, L. (2009).** Human papillomavirus infection, cancer & therapy. *Indian J Med Res*, vol.130, pp.277-284.
71. **Grosjean, J., Clave, D., Archambaud, M., Pasquier, C. (2011).**Bactériologie et virologie pratique. 2ème édition. Bruxelles: De Boeck Supérieur, pp. 227-242-243.
72. **Guan X, Yi Y, Huang Y, Hu Y, Li X, Wang X, Fan H, Wang G, Wang D. 2015.** Revealing potential molecular targets bridging colitis and colorectal cancer based on multidimensional integration strategy. *Oncotarget*. 6(35):37600–37612.
73. **Guidry, T.J., Scott, SR. (2018).**The interaction between human papillomavirus and other viruses. *Virus research*, Vol. 231, pp. 139-147.
74. **Guiu B., Petit J.M., & Bonnetain F. (2010).** Visceral fat area is an Independent Predictive Biomarker of Outcome after First-Line Bevacizumab-Based Therapy in Metastatic Colorectal Cancer". *Gut* 2010; 59:341-7.
75. **Gupta, I., Al Farsi, H., Jabeen, A., Skenderi, F., Al-Thawadi, H., AlAhmad, Y. M., Vranic, S. (2020).** High-risk human papillomaviruses and Epstein–Barr virus in colorectal cancer and their association with clinicopathological status. *Pathogens*, 9(6), 452.
76. **Haggar FA, Boushey RP.(2009).** Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg*. 22(4):191–197.
77. **Hammerschmidt, W. and Sugden, B. (1988).** Identification and characterization of oriLyt, a lytic origin of DNA replication of Epstein-Barr virus. *Cell* 55, 427-33.
78. **Hanto, DW. (1995).** Classification of Epstein-Barr Virus–Associated Post transplant Lymphoproliferative Diseases: Implications for Understanding their Pathogenesis and Developing Rational Treatment Strategies. *Annual Review Medicine*, Vol. 46(1), pp. 381-394.
79. **Hardie, DR. (2010).** Human c-herpesviruses: A review of 2 divergent paths to oncogenesis. *Transfusion and Apheresis Science*, Vol. 42, pp. 177–183.
80. **Hathaway, J. K. (2012).** HPV: diagnosis, prevention, and treatment. *Clinical obstetrics and gynecology*, 55(3), 671-680.
81. **Hitzeroth, I., Chabeda, A., Yanez, R.J., Lamprecht, R., Meyers, A.E., Rybicki, EP.(2018).**Therapeutic vaccines for high-risk HPV-associated diseases. *Papillomavirus Research*, Vol. 5, pp. 46-58.

82. **Iarc. (2008).** Cancer incidence in five continents. Volume IX. IARC Sci Publ. (160) : p. 1-837.
83. **Ibragimova, M. K., Tsyganov, M. M., & Litviakov, N. V. (2018).** Human papillomavirus and colorectal cancer. *Medical Oncology*, 35(11), 1-6.
84. **Imai S, Nishikawa J, Takada K. (1998).** Cell-to-cell contact as an efficient mode of Epstein-Barr virus infection of diverse human epithelial cells. *J Virol.* 72: 4371-8.
85. **Johnson, K. M., Kines, R. C., Roberts, J. N., Lowy, D. R., Schiller, J. T., & Day, P. M. (2009).** Role of heparan sulfate in attachment to and infection of the murine female genital tract by human papillomavirus. *Journal of virology*, 83(5), 2067-2074.
86. **Johnson, C.M.; Wei, C.; Ensor, J.E.; Smolenski, D.J.; Amos, C.I.; Levin, B.; Berry, D.A. (2013).** Meta-analyses of colorectal cancer risk factors. *Cancer Causes Control*, 24, 1207–1222.
87. **Kara-Mostefa, A., Zatla, F., Schneider, V., Nicolas, J.C., Pendeven, C.L. (2003).** Comparaison de trois trousse de tests rapides d'agglutination sur lame pour le diagnostic de la mononucléose infectieuse. *Revue Française des Laboratoires*, Vol. 357, pp. 61-64.
88. **Karoui, M., Tresallet, C., Brouquet, A., Radvanyi, H., & Penna, C. (2007).** Carcinogénèse colorectale: 1. Prédispositions héréditaires et cancer colorectal. *Journal de Chirurgie*, 144(1), 13-18.
89. **Karpinski, P.; Myszka, A.; Ramsey, D.; Kielan, W.; Sasiadek, M.M. (2011).** Detection of viral DNA sequences in sporadic colorectal cancers in relation to CpG island methylation and methylator phenotype. *Tumor Biol.* 32, 653–659.
90. **Karray-Hakim, H., Ayadi, W., Feki-Berrajah, L. (2009).** Mise au point sur les marqueurs du virus D'Epstein-Barr utilisés pour le diagnostic primaire du cancer du cavum et la détection de rechute ou métastases après traitement. *Revue Tunisienne d'Infectiologie*, Vol. 3(1), pp. 1-5.
91. **Kerr, J. R. (2019).** Epstein-Barr virus (EBV) reactivation and therapeutic inhibitors. *Journal of Clinical Pathology*, 72(10), 651-658.
92. **Kinzler K.W., & Vogelstein B. (2006).** Lessons from hereditary colorectal cancer. *Cel* 127:159-70. Doi: 10.1016/S0092-8674(00)81333-1.
93. **Krueger, H., Stuart, G., Gallagher, R., Williams, D., Kerner, J.F. (2010).** HPV and Other Infectious Agents in Cancer. 1st edition. *Opportunities for Prevention and Public Health*. New York, pp. 9-385.
94. **Labri .S. (2011).** 4 000 Algériens atteints annuellement Cancer colorectal. *Info Soir*.
95. **Laimins, L.A., Hebner, C.M. (2006).** Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. *Reviews in medical virology*. Vol. 16(2), pp. 83-97.
96. **Laurent-Puig, P., J. Agostini, et al. (2010).** "[Colorectal oncogenesis]." *Bull Cancer* 97(11):1311-21.
97. **Lazarczyk, N. Cassonnet, P. Pons, C. Jacob, Y. Favre, M. (2009).** The EVER proteins as a natural barrier against papillomaviruses: a new insight into the pathogenesis of human papillomavirus infections. *Microbiol mol biol*, 73, 348-370.
98. **Lepiller, Q., Puget, L., Debernardi, A., Prétet, J.L. (2021).** Infections à papillomavirus humains et lésions associées. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, Vol. 34(3), pp. 122-129.

99. **Lescaille, G., Descroix, V., Azérad, J. (2011).** Papillomavirus et cancers des VADS. *Revue de Stomatologie et de Chirurgie Maxillo-faciale*, vol. 112(3), pp. 160-163.
100. **Leto, MdGP .Junior, GFdS .Porro, AM .Tomimori, J (2011).** Human papillomavirus infection: etiopathogenesis, molecular biology and clinical manifestations. *Anais Brasileiros de dermatologia*, 86.
101. **Lieberman PM, Hardwick JM, Sample J, Hayward GS, Hayward SD. (1990).** The zta transactivator involved in induction of lytic cycle gene expression in Epstein Barr virus-infected lymphocytes binds to both AP-1 and ZRE sites in target promoter and enhancer regions. *J Virol.* 64:1143-55.
102. **Lowery JT, Ahnen DJ, Schroy PC III, et al.(2016).** Understanding the contribution of family history to colorectal cancer risk and its clinical implications: a state-of-the-science review. *Cancer.* 122:2 633-2645.
103. **Malki, M. I., Gupta, I., Fernandes, Q., Aboukassim, T., Yasmeen, A., Vranic, S., Al-Thawadi, H. A. (2020).** Co-presence of Epstein–Barr virus and high-risk human papillomaviruses in Syrian colorectal cancer samples. *Human Vaccines & Immunotherapeutics*, 16(10), 2403-2407.
104. **Mantovani, F., Banks, L. (2001).** The Human Papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene*, 2001, Vol. 20, pp. 7874-7887.
105. **Maréchal, V., Piolot, T. (2001).** Le Virus Epstein-Barr : Structure et Cycle Biologique. *Revue Française des Laboratoires, Dossier Scientifique: virus Epstein-Barr et pathologies associées*, Vol. 337, pp. 25-31.
106. **Marelle, L., Rea, D., Raphaël, M. (1993).** Le virus d'Epstein-Barr et les proliférations lymphoïdes. *SYNTHÈSE médecine/sciences*, 1993, Vol. 9, pp. 693-700.
107. **Markowitz, S. D. and M. M. Bertagnolli (2009).** "Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer." *N Engl J Med* 361(25): 2449-60.
108. **Marley AR, Nan H. (2016).** Epidemiology of colorectal cancer. *Int J Mol Epidemiol Genet.* 7(3):105–114.
109. **McBride AA. (2008).** Replication and Partitioning of Papillomavirus Genomes. *Adv Virus Res.* 72: 155-205.
110. **Mccashland T.M., Brand R., Lyden E. et al., (2001).** Gender differences in colorectal polyps and tumors. *Am J Gastroenterol.* 96(3) : p. 882-6.
111. **McLaughlin-Drubin, ME., Münger, K. (2009).** The human papillomavirus E7 oncoprotein. *Virology*, Vol. 384, pp. 335-344.
112. **Moghtit F. (2014).** Étude de l'implication des polymorphismes des gènes de réparation de l'ADN dans la survenue du cancer colorectal dans la population de l'Ouest Algérien. *Spécialité : Génétique moléculaire et cellulaire Option: Biologie moléculaire.*
113. **Mokhtari. L. (2010).** Registre du cancer de l'Ouest algérien.
114. **Mougin, CH. Bernard, B. Lab, M. (1997).** Biologie des infections à papillomavirus I. Caractéristique générale. *John Libbey*, 55. *Epidemiologic Classification of Human Papillomavirus Types Associated with Cervical Cancer.*
115. **Mougin, C., Dalstein, V. (2004).** Epidémiologie, histoire naturelle et détection des infections à HPV. *Bio Tribune Magazine*, vol.9, pp.16-18.
116. **Mougin, C. Nicoliera, M. Decrion-Barthoda, A. (2008).** HPV et cancers: mécanismes de l'oncogène. *Revue Francophone des Laboratoires.* 405, 23.

117. **Munger, K. Howley, PM. (2002).** Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *virus Res*, 89(2), 213-28.
118. **Münz, C. (2019).** Latency and Lytic replication in Epstein-Barr virus associated oncogenesis. *Nature Reviews Microbiology*, Vol. 17, pp. 691-700.
119. **Nagi, K., Gupta, I., Jurdi, N., Yasmineen, A., Vranic, S., Batist, G., & Moustafa, A. E. A. (2021).** Copresence of High-Risk Human Papillomaviruses and Epstein–Barr Virus in Colorectal Cancer: A Tissue Microarray and Molecular Study from Lebanon. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(15), 8118.
120. **Nelson, L.M., Rose, R.C., Moroianu, J. (2002).** Nuclear import strategies of high risk HPV16 L1 major capsid protein. *J. Biol. Chem.* 277, 23958–23964.
121. **Nicolas P., Kim K., Shibata D., & Tavar'e.S. (2007).** The stem cell population of the human colon crypt: analysis via methylation patterns. *PLoS computational biology*;3(3):e28.
122. **Niedobitek, G., Agathangelou, A., Herbst, H., Whitehead, L., H-Wright, D., S-Young, L. (1997).** Epstein Barr virus (EBV) infection in infectious mononucleosis: Virus latency, replication and phenotype of EBV-infected cells. *J Pathology*, Vol. 182, pp. 151-159.
123. **Ogino, S., & Goel, A. (2008).** Molecular classification and correlates in colorectal cancer. *The Journal of Molecular Diagnostics*, 10(1), 13-27.
124. **Olivier, S., Mir, A. M., Michalski, J. C., & Lefebvre, T. (2011).** Signalisation et prédispositions métaboliques liées au cancer colorectal. *médecine/sciences*, 27(5), 514-520.
125. **Parks, PJ. (2014).** Human papillomavirus Diseases and Disorders. Compact research series, Vol. 168, pp .15-367.
126. **Peitsaro, P. Johansson, B. Syrjanen, S. (2002).** Integrated Human Papillomavirus Type 16 Is Frequently Found in Cervical Cancer Precursors as Demonstrated by a Novel Quantitative Real-Time PCR Technique. *J Clin Microbiol*, 40 (3),886-891.
127. **Penn E., Garrow D. & Romagnuolo J. (2010).** Influence of race and sex on prevalence and recurrence of colon polyps. *Arch Intern Med.* 170(13) : p. 1127-32.
128. **Plummer M, de Martel C, Vignat J, Ferlay J, Bray F. (2016).** Franceschi S. Global burden of cancers attributable to infections in a synthetic analysis. *Lancet Glob Health* 2016; 4:e609–16.
129. **Powers C, DeFilippis V, Malouli D, Früh K. (2008).** Cytomegalovirus immune evasion. *Curr Top Microbiol Immunol* 325:333–59.
130. **Prétet, JL. Charlot, JF. Mougín, C. (2007).** Virologiques et cancérogènes aspects de HPV. *Bull Acad Natl Med*, 191(3), 611-23.
131. **Ribic CM, Sargent DJ, Moore MJ, et al. (2003).** Tumor microsatellite-instability status as a predictor of benefit from fluorouracil-based adjuvant chemotherapy for colon cancer. *N Engl J Med* 349:247-57.
132. **Riethmuller, D., Schaal, J.P., Mougín, C. (2002).** Epidémiologie et histoire naturelle de l'infection génitale à papillomavirus humains. *Gynécol Obstét Fertil*, vol. 30, pp.139-146.

133. **Riethmuller, D., Ramanah, R., Prétet, J. L., & Mougin, C. (2008).** Intégration du test HPV dans le dépistage primaire? Integrating HPV testing for primary screening ? *Journal de Gynécologie Obstétrique et Biologie de la Reproduction*, 37, S139-S151.
134. **Roy H.K. & Bianchi L.K. (2009).** Differences in colon adenomas and carcinomas among women and men: potential clinical implications. *JAMA*. 302(15) : p. 1696-7.
135. **Rühl, J., Leung, C. S., & Münz, C. (2020).** Vaccination against the Epstein–Barr virus. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 77(21), 4315-4324.
136. **Schiller, J. Day, PM. Kines, RC. (2010).** Current understanding of the mechanism of HPV infection. *Gynecol Oncol*, 118, S12-S17.
137. **Schoenfeld P., CASH B., Flood A., & al., (2005).** Colonoscopic screening of average-risk women for colorectal neoplasia. *N Engl J Med*. 352(20): p. 2061-8.
138. **Segondy, M. (2008).** Classification des papillomavirus (HPV). *Revue francophone des laboratoires*, 2008(405), 23-25.
139. **Seigneurin, J. M., & Buisson, M. (1995).** Quels marqueurs rechercher en 1995 pour le diagnostic des infections à virus epstein-barr? *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 10(2), 91-96.
140. **Seitz H.K. & Becker P. (2007).** Alcohol metabolism and cancer risk. *Alcohol Res Health*. 30:38-41, 44-7.
141. **Shannon-Lowe, C., Adland, E., Bell, A.I., Delecluse, H.J., Rickinson, A.B. and Rowe, M. (2009).** Features distinguishing Epstein-Barr virus infections of epithelial cells and B cells: viral genome expression, genome maintenance, and genome amplification. *J Virol* 83, 7749-60.
142. **Song, L.-B.; Zhang, X.; Zhang, C.-Q.; Zhang, Y.; Pan, Z.-Z.; Liao, W.-T.; Li, M.-Z.; Zeng, M.-S. (2006).** Infection of Epstein-Barr virus in colorectal cancer in Chinese. *Chin. J. Cancer*, 25, 1356–1360.
143. **Stubenrauch F. et Laimins LA. (1999).** Human papillomavirus life cycle: active and latent phases. *Semin Cancer Biol*. 9 (6): 379-86.
144. **Szydłowski, J., Jonczyk-Potoczna, K., Pucher, B., Buraczynska-Andrzejewska, B., Prauzinska, M., Kolasinska-Lipinska, J., Krauss, H., Piatek, J., Zukiewicz-Sobczak, W. (2014).** Prevalence of Human Papillomavirus (HPV) in upper respiratory tract mucosa in a group of pre-school children. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, vol.21, pp.822-824.
145. **Thrift, A. P., Gong, J., Peters, U., Chang-Claude, J., Rudolph, A., Slattery, M. L., & Campbell, P. T. (2015).** Mendelian randomization study of body mass index and colorectal cancer risk. *Cancer Epidemiology and Prevention Biomarkers*, 24(7), 1024-1031.
146. **Touati, A. (2011).** Le cancer colorectal, 2e cancer en Algérie. *Le Financier*.
147. **Tsurumi, T., Fujita, M., Kudoh, A. (2004).** Latent and Lytic Epstein-Barr virus replication strategies. *Reviews in medical virology*, Vol. 15, pp. 3-15.
148. **Useros M.J. & Foncillas G.J. (2016).** Obesity and colorectal cancer: molecular features of adipose tissue. *J Transl Med*. 14(1):21.
149. **Ustav M, Ustav E, Szymanski P, Stenlund A. (1991).** Identification of the origin of replication of bovine papillomavirus and characterization of the viral origin recognition factor E1. *EMBO J* ; 10: 4321.

150. **Van Doorslaer, K. (2013).** Evolution of the papillomaviridae. *Virology*, 445(1-2), 11-20.
151. **Von Roon A.C. (2007).** The risk of cancer in patients with Crohn's disease. *Diseases of the Colon and Rectum*. Baltimore: Lippincott William & Wilkins. 50(6): pp. 839-855.
152. **Yin, Q., Jupiter, K., & Flemington, E. K. (2004).** The Epstein–Barr virus transactivator Zta binds to its own promoter and is required for full promoter activity during anti-Ig- and TGF-beta1-mediated reactivation. *Virology*, 327(1), 134-143.
153. **You J., Croyle JI., Nishimura A., Ozato K., Howley Pm. (2004).** Interaction of the bovine papillomavirus E2 protein with Brd4 tethers the viral DNA to host mitotic chromosomes. *Cell*; 117(3):349-60.
154. **Zheng, ZM et Baker, CC. (2006).** Papillomavirus genome structure, expression, and post transcriptional regulation. *Front Biosci*, 11, 2286-22302.

سرطان القولون والمستقيم (CCR) يعد ثالث أكثر أنواع السرطان شيوعاً في معظم البلدان. إنه كذلك ذات الصلة بعدة عوامل خطر، بما في ذلك العدوى الفيروسية، لا سيما عن طريق فيروس الورم الحليمي البشري عالي الخطورة (HPV-HR) وفيروس إبشتاين بار (EBV). الهدف من هذا العمل هو إجراء دراسة تحليلية من ثلاث مقالات حول الإصابة المشتركة بفيروس الورم الحليمي البشري (HPV) وفيروس إبشتاين بار (EBV) في سرطانات القولون والمستقيم لدى المجتمع البوسني والسوري واللبناني. تم الكشف عن الفيروس بواسطة تقنية (PCR) ومصفوفة الأنسجة الدقيقة والكيمياء المناعية. في هذه الدراسة، يختلف متوسط العمر من مجموعة سكانية إلى أخرى. كان 60 و 65 سنة في السكان اللبنانيين والسوريين على التوالي، بينما كانت 49 سنة في السكان السوريين. وبالمثل، كان التوزيع بين الجنسين مختلفاً، وغالبية كان المرضى من الإناث في السكان اللبنانيين والسوريين، في حين، وكان معظم المرضى من سكان البوسنة من الذكور. التواجد المشترك لـ EBV و HPV في سرطانات القولون والمستقيم كان 16 في المائة، 16.6 في المائة، 27.6 في المائة في سكان البوسنة، السوريين واللبنانيين على التوالي. لا يوجد ارتباط كبير بين فيروس الورم الحليمي البشري و EBV الحضور المشترك مع مرحلة الورم المتقدمة لدى السكان البوسنيين واللبنانيين على عكس السكان السوريين. هناك حاجة إلى مزيد من الدراسات لتوضيح الآليات الفرعية تكمن وراء الدور التعاوني لمركبات EBV و HPV عالية الخطورة في البدء و/أو التقدم لسرطان القولون والمستقيم..

الكلمات الرئيسية: فيروس الورم الحليمي البشري، فيروس إبشتاين بار، سرطان القولون والمستقيم، عدوى.

RÉSUMÉ

Le cancer colorectal (CCR) représente le troisième cancer le plus fréquent dans la plupart des pays. Il est lié à plusieurs facteurs de risque dont les infections virales, principalement par les papillomavirus humains à haut risque (HPV-HR) et l'Epstein Barr virus (EBV).

L'objectif de ce travail est de réaliser une étude de synthèse à partir de trois articles sur la coinfection par l'HPV et l'EBV dans les CCR dans une population bosniaque, syrienne et libanaise. La détection des virus a été réalisée par des analyses moléculaires par PCR, puce à ADN tissulaires ainsi que par l'immunohistochimie.

Dans cette étude, l'âge moyen diffère d'une population à une autre. Il était de 60 et 65 ans dans la population libanaise et bosniaque respectivement, alors qu'il était de 49 ans dans la population syrienne. De même, la répartition selon le sexe était différente dont la majorité des patients était de sexe féminin dans la population libanaise et syrienne, tandis que, la plupart des patients de la population bosniaque était de sexe masculin. La coprésence de l'EBV et l'HPV dans les CCR était de 16%, 16,6% et 27,6% dans la population bosniaque, syrienne et libanaise respectivement. Aucune association significative entre la coprésence des HPV et des EBV avec le stade avancé de la tumeur n'a été observée dans la population bosniaque et libanaise, contrairement à la population syrienne.

Des études supplémentaires sont indispensables pour élucider les mécanismes sous-jacents du rôle coopératif des HPV à haut risque et de l'EBV dans l'initiation et/ou la progression du CCR humain.

Mots clés: HPV, EBV, Cancer colorectal, Coinfection.

ABSTRACT

Colorectal cancer (CRC) is the third most common cancer in most countries. It is linked to several risk factors including viral infections, mainly by high-grade human papillomavirus human papillomavirus (HPV-HR) and Epstein Barr virus (EBV).

The objective of this work is to carry out a review based on three articles on co-infection with HPV and EBV in CRC in a Bosnian, Syrian and Lebanese population. The detection of the viruses was performed by molecular analysis by PCR, tissue microarray and immunohistochemistry.

In this study, the mean age differed from one population to another. It was 60 and 65 years in the Lebanese and Bosnian population respectively, while it was 49 years in the Syrian population. Similarly, the gender distribution was different with the majority of patients being female in the Lebanese and Syrian population, whereas, most of the patients in the Bosnian population were male. The co-presence of EBV and HPV in CRC was 16%, 16.6% and 27.6% in the Bosnian population, Syrian and Lebanese respectively. No significant association between HPV and EBV co-presence with advanced stage of the tumor was observed in the Bosnian and Lebanese populations, unlike the Syrian population.

Further studies are needed to elucidate the underlying mechanisms of the cooperative role of high-risk HPV and EBV in the initiation and/or progression of human CRC.

Key words: HPV, EBV, Colorectal cancer, Coinfection.