



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
**Université ABOUBEKR BELKAID de TLEMCEEN**



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers

## **Département de Biologie**

*Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical  
et à l'environnement (LAMAABE)*

# **MEMOIRE**

Présenté par

**ZAOUI Asmae & BENDJEBBOUR Aida**

*En vue de l'obtention du*

**Diplôme de MASTER**

En Biologie

Option : Microbiologie et Contrôle de Qualité

## **Thème**

**Détection de l'ADN du *Papillomavirus Humain* et *Epstein-Barr virus* à partir de tissus tumoraux colorectaux d'une population de l'ouest Algérien**

Soutenu le 20 juin 2023, devant le jury composé de :

Présidente	Mme Bellifa S.	Maitre de conférences A	Université de Tlemcen
Encadrante	Mme Boublenza L.	Maitre de conférences A	Université de Tlemcen
Examinatrice	Mme Ayad A.	Maitre de conférences B	Université de Tlemcen

**Année universitaire : 2022 - 2023**

## Remerciements

*Ce travail n'aurait pas pu obtenir à des résultats satisfaisants sans l'aide et les encouragements de plusieurs personnes que nous remercions.*

*Au début, nous remercions tous d'abord **Dieu** le tout puissant de nous avoir donné la santé, la volonté et le courage d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*On tient tout particulièrement à exprimer notre sincère reconnaissance à notre encadrante **Mme BOUBLENZIA Lamia maitre de conférences classe A à l'université de Tlemcen**, qui n'a pas ménagé le moindre effort pour nous assister dans le choix du thème et la réalisation du présent mémoire, l'expression de notre profonde gratitude quant à sa patience, sa disponibilité, le temps et l'attention qu'elle nous a consacré et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter notre réflexion et enrichir ce travail. Que votre compétence, votre sérieux, votre rigueur au travail, vos nobles qualités humaines et scientifiques soient pour nous le meilleur exemple à suivre. Veuillez trouver, chère maitre, dans ce travail l'expression de nos vifs remerciements et notre estime.*

*On tient aussi à exprimer nos vif remerciements pour les doctorantes **BEHAR Delale** et **DEHMANI Bouchra**, pour leur aide ainsi que leur conseils. On leur souhaite bonne chance et de la réussite dans leurs prochains parcours.*

*Nous voulons également remercier les membres de jury **Mme BELLIFA Samia** et **Mme AYAD Amel** d'avoir accepté d'évaluer notre travail, et qui ont bien voulu nous honorer par leur présence et de faire partie de ce jury de soutenance. Veuillez accepter tout notre respect et gratitude.*

*Toutes nos considérations à nos dignes et responsables enseignants du département de biologie qui méritent autant d'égard et de reconnaissance pour notre formation durant ces cinq ans.*

# Dédicace I

***A Mes piliers de force, Mes parents « MOHAMED et SALIMA »***

*Pour leur amour inconditionnel, leur soutien constant et leurs sacrifices sans mesure. Votre encouragement et vos prières ont été mes sources de force tout au long de ce parcours. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours pour vous. Rien au monde ne peut égaler tous les efforts que vous avez fournis pour mon éducation et mon bien-être.*

*Que Dieu le tout puissant vous préserve, vous combler de santé et longue vie remplie de bonheur et de prospérité*

***A ma très chère sœur HAFSA, son mari YOUCEF pour***  *votre support moral et vos conseils et encouragement je vous dédie ce travail, malgré la distance vous êtes toujours dans mon cœur.*

***A mes adorables nièces ARIAM et ARWA***  *vous avez apporté beaucoup de bonheur à notre famille, je vous aime fort mes princesses.*

***A ma chère sœur ROFAIDA***  *tu as été ma source infinie de bonheur tout au long de cette aventure, tu es les rayons de soleil dans ma vie.*

***A mes chers frères BILAL et YASSER***  *Chacun de vous a apporté une lumière unique à ma vie, Je suis reconnaissante pour les liens indéfectibles qui nous unissent, pour les souvenirs que nous avons créés ensemble et pour la façon dont vous avez toujours été là pour moi.*

***A mes chers grands parents HOCINE et KHADIDJA***

***A mes chers oncles, tantes, DRIS SIDI MOHAMED NESREDDINE NADIRE ET LATIFA***  *ainsi leurs épouses, époux et enfants Avec une reconnaissance infinie,*

***A ma chère binôme AIDA***  *ton encouragement et ton soutien, ont illuminé les moments de fatigue et de solitude. En souvenir tous les détails de cette aventure passée ensemble.*

***A moi-même,***  *je m'adresse cette dédicace en signe de fierté et de reconnaissance envers mon engagement et ma détermination. Ma persévérance, ma volonté de repousser mes limites ont été les moteurs de ce mémoire. Ce mémoire est le fruit de mes efforts, de mes apprentissages et de ma passion pour la recherche scientifique.*

***A la famille ZAOUI et FERDI***

***A mes enseignants***

***A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer***

 SMAE

## Dédicace II

*C'est grâce à dieu tout puissant, puis au soutien et au dévouement de ma famille que j'ai pu mener à terme ce travail, en particulier :*

***A mes chers parents Karima et Nassreddine**, à qui je dois cette réussite, pour votre amour, la confiance que vous avez placé en moi, votre patience surtout votre sacrifice, soutien et encouragements dans les moments les plus difficiles et de trouver toujours les mots pour bien remonter mon moral et me redonner le sourire. Toute l'encre du monde ne pourrait suffire pour exprimer mes sentiments envers vous.*

*Que Dieu le tout puissant vous comble de santé, de bonheur et vous procurer une longue vie.*

***A mon seul et unique grand frère Charif**, tu n'es pas seulement mon frère mais au même temps mon ami, merci pour ton soutien et encouragement, tu es pour moi l'exemple à suivre dans ma vie pour ta patience, persévérance, réussite et courage je vous aime infiniment.*

***A mes grands-parents**, que dieu vous comble de santé et vous laisse à nos côtés pour parcourir une longue vie.*

***A mon oncle Ali ainsi que toutes sa famille, sa femme Cherifa, son fils Ammar, et ces deux filles Khadîdja et Naziha**, Je le considère comme un 2<sup>ème</sup> papa pour moi, je vous remercie pour votre amour, votre aide, vos encouragements, pour les souvenirs que nous avons créés ensemble et pour la façon dont vous avez toujours été là pour moi, ma complicité avec vous est spéciale, vous êtes ma 2<sup>ème</sup> famille.*

***Mes spéciales dédicaces seront pour toi ma cousine Khadîdja**, vous avez été toujours à mes côtés, à m'épauler, vous êtes ma sœur que je n'ai pas je t'aime à l'infini et je vous souhaite tout le bonheur du monde car vous le méritez toi ainsi que ton petit fils **Karam**.*

***A ma chère binôme Asmae**, sans elle ce travail n'aurait pas eu le même gout, je la remercie pour son soutien et son sérieux et son encouragement aux moments de faiblesse, je vous souhaite une vie pleine de succès et de bonheur.*

***A la famille Yousfi et Bendjebbour***

***A mes copines Hassiba et Wissem**, vous êtes mes sœurs et nos souvenirs ensemble resteront gravé a toujours, que dieu nous aide dans nos prochains parcours.*

*A tous ceux qui vont lire ce mémoire.*

***AIDA***

## ملخص

يعد سرطان القولون والمستقيم ثالث أكثر أسباب الوفيات المرتبطة بالسرطان شيوعاً في جميع أنحاء العالم. في الجزائر، يحتل مكانة بارزة من حيث الانتشار والاعتلال، وقد شهد عدد الحالات زيادة تدريجية في السنوات الأخيرة، مما يشكل مشكلة صحية كبيرة. يمكن ربطه بعدة عوامل بما في ذلك العوامل المعدية مثل فيروس الورم الحليمي البشري (HPV) وفيروس إبشتاين بار (EBV). الهدف الأساسي من هذه الدراسة هو تقييم الانتشار والدور المحتمل لفيروس الورم الحليمي وفيروس إبشتاين بار في تطور سرطان القولون والمستقيم.

في إطار هذه الدراسة، تم الكشف عن احتمالية وجود الحمض النووي (ADN) لفيروس الورم الحليمي البشري (HPV) وفيروس إبشتاين بار (EBV) في عشر عينات من الأنسجة السرطانية للقولون و المستقيم المثبتة بمادة الفورمالين والبارافين ، باستخدام طريقة PCR القياسية.

في العينات التي تم فحصها لم يتم الكشف عن وجود أي من فيروس الورم الحليمي البشري وفيروس إبشتاين بار. يمكن أن يرجع عدم الكشف عن وجود الحمض النووي لهته الفيروسات لعدة عوامل، بما في ذلك: حجم العينة، جودة الحمض النووي، اختيار الجينات المكبرة ، خصائص العينات ، طرق الكشف المستخدمة و الجودة المدروسة..

ومع ذلك فإن هذه النتائج تمهد الطريق لآفاق مستقبلية واعدة في البحث عن العلاقة الموجودة بين سرطان القولون والمستقيم وهته الفيروسات. سيكون المثير من الاهتمام توسيع حجم العينة، مراجعة اختيار البادئات المستخدمة، استكشاف المزيد من تقنيات الكشف المستخدمة. يمكن أن تسمح لنا هذه التطورات بفهم دور هذه الفيروسات بشكل أفضل في تطوير سرطان القولون واستكشاف أساليب جديدة للوقاية والعلاج.

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

## **Résumé**

Le cancer colorectal (CCR) est la troisième cause la plus fréquente de décès liés au cancer dans le monde. En Algérie, il occupe une place significative en termes de prévalence et de morbidité, le nombre de cas a connu une augmentation progressive ces dernières années, ce qui constitue un problème de santé majeur. Il peut être lié à plusieurs facteurs notamment les facteurs infectieux tels que le papillomavirus humain (HPV) et le virus d'Epstein-Barr (EBV). L'objectif principal de cette étude consiste à évaluer la prévalence et le rôle potentiel d'HPV et d'EBV dans le développement du cancer colorectal.

Dans le cadre de cette étude, la détection de la présence d'ADN de l'HPV et de l'EBV a été réalisée sur dix échantillons de tissus colorectaux tumoraux fixés au formol et inclus en paraffine, en utilisant la méthode de PCR classique.

Aucune détection de l'ADN d'HPV ou d'EBV n'a été révélée dans les échantillons examinés. Cette absence de détection peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment la taille de l'échantillonnage, qualité de l'ADN, le choix des gènes amplifiés, les caractéristiques des prélèvements, les méthodes de détection utilisées et la population étudiée.

Cependant, ces résultats ouvrent la voie à de futures perspectives prometteuses dans la recherche sur le cancer colorectal et l'implication des virus HPV et EBV. Il serait intéressant d'élargir la taille d'échantillonnage, de revoir le choix des amorces utilisées et d'explorer d'autres techniques de détection utilisées. Ces avancées pourraient nous permettre de mieux comprendre le rôle de ces virus dans le développement du CCR et d'explorer de nouvelles approches de prévention et de traitement.

**Mots clés :** Cancer colorectal, HPV, EBV, Virus.

## **Abstract**

Colorectal cancer (CRC) is the third most common cause of cancer-related death worldwide. In Algeria, it occupies a significant place in terms of prevalence and morbidity, and the number of cases has risen steadily in recent years, constituting a major health problem. It can be linked to several factors, notably infectious factors such as human papillomavirus (HPV) and Epstein-Barr virus (EBV). The main objective of this study is to assess the prevalence and potential role of HPV and EBV in the development of colorectal cancer.

In this study, detection of HPV and EBV DNA was performed on ten formalin-fixed, paraffin-embedded colorectal tumor tissue samples, using the conventional PCR method.

No HPV or EBV DNA was detected in any of the samples examined. This lack of detection can be attributed to several factors, including sample size, DNA quality, choice of amplified genes, sample characteristics, detection methods used and study population.

However, these results open up promising future prospects in colorectal cancer research and the involvement of HPV and EBV viruses. It would be interesting to broaden the sample size, review the choice of primers used and explore other detection techniques. These advances could enable us to better understand the role of these viruses in the development of CRC, and to explore new approaches to prevention and treatment.

**Keywords:** Colorectal Cancer, HPV, EBV, Virus.

## TABLE DES MATIÈRES

### LISTE DES ABREVIATIONS

### LISTE DES FIGURES

### LISTE DES TABLEAUX

<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>01</b>
<b>REVUE BIBLIOGRAPHIQUE .....</b>	<b>03</b>
<b>Chapitre 1 : Le cancer colorectal .....</b>	<b>04</b>
1. Epidémiologie.....	04
2. Généralités sur le cancer colorectal .....	04
3. Classification .....	05
3.1 Cancers colorectaux sporadique .....	05
3.2. Cancers colorectaux héréditaires .....	05
3.2.1 La polypose adénomateuse familiale.....	05
3.2.2 Le syndrome de lynch .....	06
4. Les facteurs de risque du cancer colorectal .....	06
4.1 L'âge et le sexe .....	06
4.2 L'alcool.....	06
4.3 Le tabac .....	06
4.4 L'obésité .....	07
4.5 Les facteurs alimentaires.....	07
4.6 Les facteurs héréditaires et génétiques .....	08
5. Les facteurs de risque infectieux .....	08
5.1 Helicobater pylori.....	08
5.2 Papillomavirus humains.....	08
5.3 Epstein-Bar Virus .....	08
5.4 Cytomégalovirus humain.....	09
5.5 John Cunningham Virus .....	09
<b>Chapitre 2: Les principaux facteurs viraux du cancer colorectal.....</b>	<b>10</b>
1. Papillomavirus humain .....	10
1.1 Historique .....	10
1.2 Phylogénie .....	10
1.3Définition.....	11
1.4 Structure .....	11



1.5 Classification des Papillomavirus humains .....	12
1.5.1 Classification basée sur la séquence génomique .....	12
1.5.2 Classification basée sur le tropisme.....	12
1.5.3 Classification basée sur le potentiel oncogène .....	13
1.6 Cycle viral.....	13
1.6.1 Attachement, internalisation et décapsidation.....	14
1.6.2 Maintenance de génome viral.....	14
1.6.3 Prolifération cellulaire.....	14
1.6.4 Amplification du génome viral.....	14
1.6.5 Encapsidation et libération des virions.....	15
1.7 Rôle de HPV dans le processus de cancérisation .....	15
1.8 Prévention.....	16
1.8.1 Vaccination.....	16
1.8.2 Dépistage .....	16
1.9 Traitement .....	17
1.10 Cancers associés aux HPV .....	17
2. Epstein-Barr Virus.....	18
2.1 Historique .....	18
2.2 Définition.....	18
2.3 Structure .....	18
2.4 Tropisme et transmission .....	20
2.5 Cycle viral.....	20
2.5.1 Adsorption et interaction.....	21
2.5.2 Multiplication.....	21
2.7 Propriétés oncogéniques de virus EBV .....	24
2.6 Epidémiologie et maladies.....	25
2.8 Diagnostic.....	25
2.8.1 Tests sérologiques (détection des anticorps .....	25
2.8.2 Immunohistochimie .....	25
2.8.3 Diagnostic moléculaire .....	26
2.9 Traitement.....	26
2.10 EBV et le cancer colorectal .....	26

<b>PARTIE EXPERIMENTALE .....</b>	<b>27</b>
I. Méthodologie .....	28
1. Recherche d'HPV et EBV à partir des tissus paraffinés.....	28
1.1 Objectif.....	28
1.2 Lieu d'étude .....	28
1.3 Echantillonnage .....	28
1.4 Matériel et méthodes .....	28
1.4.1 Préparation des tissus .....	28
1.4.2 Extraction d'ADN par la méthode « GenElute FFPE DNA Purification kit ».....	29
1.4.3 Contrôle de qualité de l'ADN par spectrométrie.....	32
1.4.4 Amplification de l'ADN cible par PCR .....	32
1.4.5 Analyse par électrophorèse sur gel d'agarose 1,5%.....	35
II. Résultats .....	37
1. Résultat d'extraction d'ADN par la méthode GenElute.....	37
2. Résultat de contrôle de qualité de l'ADN par spectrométrie .....	37
3. Résultat de l'analyse par électrophorèse sur gel d'agarose .....	37
III. Discussion .....	39
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>42</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>43</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS

<b>ADN</b> : Acide Désoxyribonucléique.	<b>HPV</b> : Papillomavirus Humains.
<b>ARN</b> : Acide Ribonucléique.	<b>HPV-HR</b> : Papillomavirus Humains à Haut Risque.
<b>BET</b> : Bromure d'éthidium.	<b>HSPG</b> : Protéoglycane à Sulfate d'héparine.
<b>BPV</b> : Bovine Papillomavirus.	<b>INSP</b> : Institut National de Santé Publique.
<b>C-</b> : Contrôle négative.	<b>InVS</b> : Institut de Veille Sanitaire.
<b>C+</b> : Contrôle positive.	<b>IR</b> : Internal Repeat.
<b>CCR</b> : Cancer colorectal.	<b>JCV</b> : John Cunningham Virus.
<b>CIRC</b> : Centre International de Recherche sur le Cancer.	<b>L</b> : Late region.
<b>CMH</b> : Complexe Majeure d'Histocompatibilité.	<b>LCR</b> : Long Control Region.
<b>CRPV</b> : Cottontail Rabbit Papillomavirus.	<b>LM</b> : Lymphome.
<b>dNTP</b> : Désoxynucléotid- Tris-Phosphate.	<b>LMP</b> : Latent Membran protein.
<b>E</b> : Early region.	<b>M</b> : Marqueur de poids moléculaire.
<b>E</b> : Echantillon.	<b>MI</b> : Mononucléose Infectieuse.
<b>EBER</b> : Epstein-Barr Virus-Encoded small RNAs.	<b>NK</b> : Natural Killer.
<b>EBNA</b> : Epstein-Barr Nuclear Antigen.	<b>OMS</b> : Organisation Mondiale de Santé.
<b>EBV</b> : Epstein-Barr Virus.	<b>ORL</b> : Othorinolyringologie.
<b>EDTA</b> : Acide Ethylène Diamine Tétracétique.	<b>PAF</b> : Polypose Adénomateuse Familiale.
<b>FFPE</b> : Formalin-Fixed-Paraffin-Embedded.	<b>PCR</b> : Polymerase Chain Reaction.
<b>HBV</b> : Hepatitis B Virus.	<b>PRB</b> : Protéine de Rétinoblastome.
<b>HCMV</b> : Cytomégalovirus Humain.	<b>TAE</b> : Tris-Acétate-EDTA.
<b>HCV</b> : Hepatitis C Virus.	<b>UL</b> : Long Unique region.
<b>HIV</b> : Virus de l'Immunodéficience Humain.	<b>URR</b> : Upstream Regulatory Region.
<b>HNPCC</b> : Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer.	<b>US</b> : Short Unique region.
	<b>UV</b> : Ultra-violet.
	<b>VCA</b> : Viral Capsid Antigen.

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1 :</b> Arbre phylogénétique des HPV .....	12
<b>Figure 2 :</b> Organisation génétique de l'HPV16 .....	13
<b>Figure 3 :</b> Déroulement du cycle viral des HPV après infection d'un épithélium malpighien .. .....	16
<b>Figure 4 :</b> Schémas représentatif de la structure de virus EBV .....	20
<b>Figure 5 :</b> Organisation du génome de l'EBV sous forme linéaire et épisomique .....	21
<b>Figure 6 :</b> Cycle biologique d'Epstein-Barr (EBV).....	25
<b>Figure 7 :</b> lame contenant le tissu inclus en paraffine .....	29
<b>Figure 8 :</b> Procédure de purification d'ADN en utilisant le kit commercialisé « GenElute FFPE DNA purification kit .....	32
<b>Figure 9 :</b> le programme de thermocycleur pour le test (HPV).....	35
<b>Figure 10 :</b> La préparation de gel d'agarose.....	37
<b>Figure 11 :</b> L'observation des bandes d'ADN sous-UV des amorces de (MY11/09) d'HPV.. .....	38
<b>Figure 12 :</b> L'observation des bandes d'ADN sous-UV des amorces (LMP1 F / R) de l'EBV .....	38

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau. 1 :</b> Classification des HPV selon leur tropisme .....	14
<b>Tableau. 2 :</b> Classification des HPV selon le potentiel oncogène .....	14
<b>Tableau. 3 :</b> Programmes de latence de l'EBV.....	23
<b>Tableau. 4 :</b> Composition de mélange réactionnel .....	34
<b>Tableau. 5 :</b> les amorces utilisées en PCR des deux virus d'HPV et d'EBV.....	35



# **Introduction**

Chaque année 2,2 millions de nouveaux cas de cancers découleraient d'une infection par un agent pathogène. Huit virus, une bactérie et trois parasites ont été répertoriés comme cancérogènes de classe I par le Centre international de recherche sur le cancer (CIRC) de l'Organisation mondiale de la santé (CIRC, 2017).

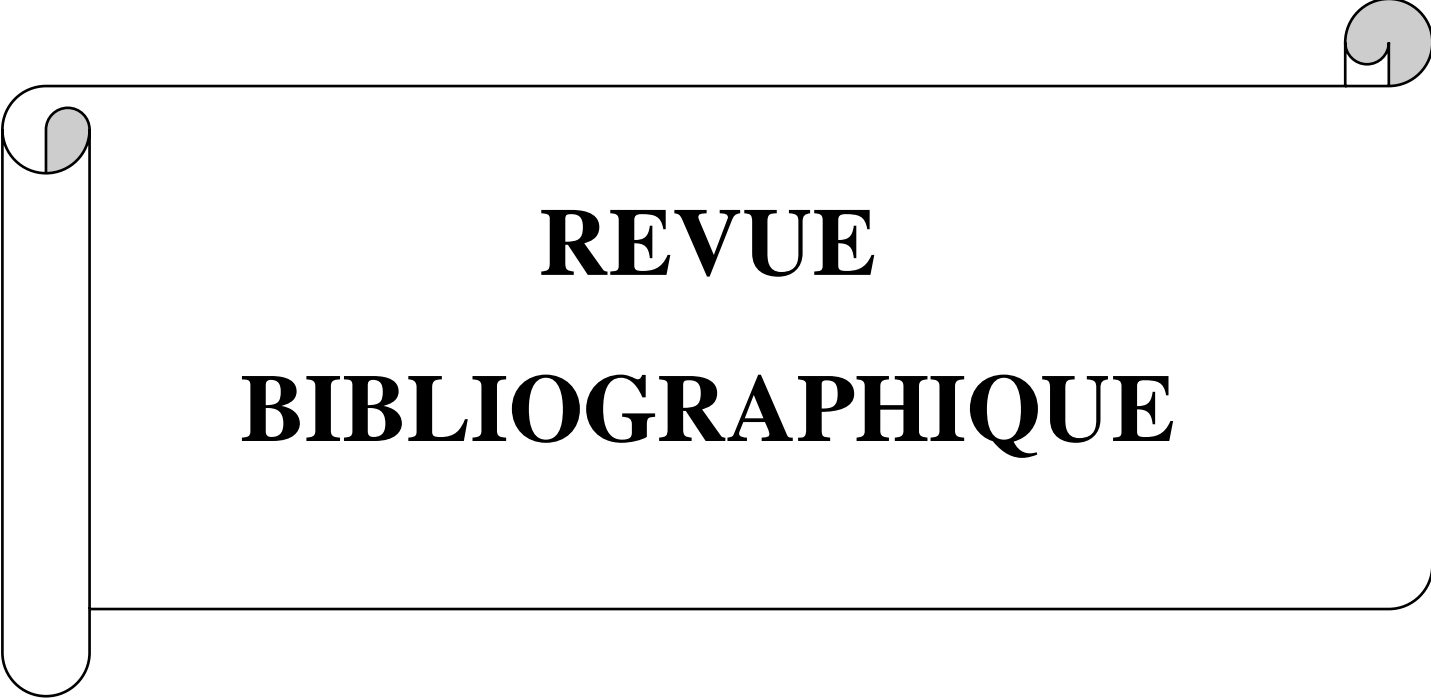
Parmi les virus, les papillomavirus humains à haut risque (HPV-HR), les polyomavirus, le virus de l'hépatite B (HBV), le virus de l'hépatite C (HCV), et le virus Epstein-Barr (EBV) peuvent contribuer au développement de plusieurs cancers tels que le cancer de col de l'utérus, le cancer du nasopharynx, le cancer primitif du foie, les cancers ORL, le cancer gastrique, le cancer colorectal, etc. (Sabouret *et al.*, 2020).

L'incidence du cancer colorectal (CCR) dans le monde est de plus en plus préoccupante. En Algérie, il est considéré comme le troisième cancer le plus fréquent chez l'homme, après les cancers du poumon et de la prostate. Chez les femmes, il occupe le deuxième rang après le cancer du sein (Globocan, 2020).

Le CCR est une maladie complexe et multifactorielles (Gupta *et al.*, 2020), comprenant le cancer du côlon et du rectum qui font partie du gros intestin (Diant *et al.*, 2018). L'augmentation de l'incidence du CCR est principalement attribuée à une forte exposition aux facteurs de risque environnementaux résultant d'une consommation excessive d'alcool, du tabagisme, du surpoids et d'un régime alimentaire riche en graisses et pauvre en fibres (Aleksandrova *et al.*, 2014), ainsi que des facteurs héréditaires (antécédents familiaux et maladies génétiques) mais aussi des facteurs viraux dont les papillomavirus humains, le virus d'Epstein-Barr et le cytomégalovirus humain (HCMV) etc. (Mahmoudvand *et al.*, 2015).

Les HPV HR, plus particulièrement le HPV 16, 18 et 33 [(Afshar *et al.*, 2018) ; (Ibragimova *et al.*, 2018)] et EBV sont les oncovirus les plus courants (Ayee *et al.*, 2020), contribuant à environ 10 % à 15 % de toutes les tumeurs malignes. Ces virus peuvent déclencher une activité oncogénique par l'expression de leurs onco-protéines virales], ce qui peut conduire à l'initiation et à la progression de cancer colorectal, en présence de cofacteurs (environnementaux, alimentaires ou encore génétiques) essentiels pour que l'infection des cellules par l'un de ces virus oncogènes déclenche leur transformation en cellules cancéreuses [(Prétet *et al.*, 2007) ; (Badoual *et al.*, 2013).

L'objectif de cette étude est de chercher la présence d'HPV et d'EBV par la détection de l'ADN de ces deux virus à partir des prélèvements des tissus colorectaux tumoraux inclus en paraffine d'une collection de LAMAABE par PCR classique.



**REVUE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE**

## 1. Épidémiologie

Le cancer colorectal par sa fréquence et sa gravité (**Belhamidi et al., 2018**) est le troisième cancer le plus fréquent chez les hommes après le cancer de prostate et le cancer de poumon et le deuxième chez les femmes après le cancer de sein, en termes d'incidence et de mortalité à l'échelle mondiale (**ferlay et al., 2019**). Selon les estimations de l'Organisation mondiale de la santé (OMS), il y a eu environ 1,9 million de nouveaux cas de cancer colorectal et près de 935 000 décès en 2020 (**OMS, 2020**). Ce qui représente un problème de santé majeur.

L'épidémiologie du CCR varie considérablement entre les différentes régions du monde avec des taux plus élevés dans les pays développés, ainsi qu'entre les différents groupes d'âge, de sexe et de race (**Baidoun et al., 2021**). Environ les deux tiers des cas incidents surviennent dans les pays développés (**Martin et al., 2020**), où il est le 3<sup>ème</sup> cancer le plus répandu dans l'hémisphère occidentale et son incidence augmente brusquement avec l'âge (vers 40 à 50 ans) (**GLOBACAN, 2020**). Selon la fédération francophone de cancérologie digestive, les taux les plus élevés sont enregistrés dans les pays d'Europe, d'Amérique de nord, en Australie et new-Zélande (**Abid, 2016**).

Dans les pays en développement, le CCR est le cinquième cancer le plus fréquent chez les hommes et les femmes (**Sung et al., 2021**). L'incidence de CCR est plus rare en Afrique noire par rapport au pays de monde (**Belhamidi et al., 2018**), néanmoins ; au cours des dernières décennies, une tendance à la hausse de l'incidence du cancer colorectal a été observée dans certains pays africains, attribuée à des changements de mode de vie, à l'urbanisation et à l'adoption de régimes occidentaux (**Akinyemiju et al., 2017**).

En Algérie l'incidence du cancer colorectal a quadruplé en deux décennies et continue d'augmenter selon les registres du cancer de l'Institut National de Santé Publique (INSP), chaque année le pays enregistre près de 6.500 nouveaux cas du CCR, dont 3.500 chez les hommes et 3.000 cas chez les femmes (**INSP, 2021**). Selon le Journal Algérien des sciences de la santé, cette affection est classée la première parmi tous les types de cancers prévalents en Algérie, en général, la première chez les hommes, suivi du cancer du poumon, et deuxième chez les femmes, après le cancer du sein en 2020 (**AJHS, 2020**).

## 2. Généralités sur le cancer colorectal

Les cancers colorectaux regroupent les cancers du côlon et les cancers du rectum (**Elodie, 2013**). Le côlon est responsable de l'absorption d'eau et de nutriments, ainsi que de la formation des matières fécales avant leur passage dans le rectum pour l'élimination. Ces



derniers font partie du gros intestin qui est la partie terminale du tractus gastro-intestinal **(Habak et Kole, 2022)**.

Les CCRs surviennent dans l'extrême majorité des cas (96%) au niveau des glandes de la muqueuse intestinale, ce sont des cancers glandulaires ou dits « adénocarcinomes ». Ils se développent le plus souvent sur des adénomes préexistants, après une période de latence de plusieurs années, ce qui les rend accessibles au dépistage et la prévention secondaire **(Belhamidi et al., 2018)**.

Un adénome est considéré comme malin lorsque les cellules épithéliales néoplasiques franchissent la lame basale de la muqueuse et infiltrent la sous-muqueuse. Bien que les CCRs surviennent fréquemment à partir de polypes, tous ne vont pas se transformer en tumeur maligne. On ne peut également pas exclure l'apparition de cancer de novo sur une muqueuse intestinale saine **(Ponz de Leon et Di Gregorio, 2001)**.

### **3. Classification des cancers colorectaux**

Les cancers colorectaux se divisent en deux grandes catégories : sporadiques et héréditaires, qui représentent respectivement 70 à 80% et 5 à 10% de l'ensemble de ces cancers **[(Karoui et al., 2007) ; (Moghtit, 2014)]**.

#### **3.1 Cancers colorectaux sporadiques**

Les formes sporadiques représentent la majorité des CCR. Ce type de cancer est représenté par tous les CCR isolés pour lesquels il n'existe pas d'histoire familiale. Ils sont caractérisés par une apparition tardive, peu fréquentes avant 50 ans avec une augmentation sensible après 60 ans **(Moghtit, 2014)**.

#### **3.2 Cancers colorectaux héréditaires**

Bien que les formes sporadiques soient majoritaires, les cancers colorectaux peuvent survenir dans le cadre de syndromes héréditaires bien définis. Selon l'institut de veille sanitaire (InVS), les CCR héréditaires surviennent principalement avant 40 ans, plus particulièrement au niveau du côlon droit **(Ducieux, 2014)**. Les principaux syndromes de prédisposition au CCR sont :

##### **3.2.1 La polypose adénomateuse familiale (PAF)**

C'est le syndrome le plus connu de prédisposition héréditaire au cancer colorectal, il se transmet à la descendance sur un mode autosomal dominant. Elle représente ~ 0,5% de l'ensemble des CCRs **(Fearon, 2011)**. Il se caractérise par l'apparition de multiples polypes

adénomateux, survenant le plus souvent dans la partie distale du côlon, surtout après la puberté. Chez les patients non traités, ces polypes peuvent se transformer en CCR vers l'âge de 40 ans (**Moghtit, 2014**). Ce syndrome est dû à une mutation germinale sur le gène suppresseur de tumeur *apc* (**Jasperson et al., 2010**).

### 3.2.2 Le syndrome de lynch

Le cancer colorectal héréditaire non polyposique (ou Hereditary Non Polyposis Colorectal Cancer, HNPCC), encore appelé syndrome de Lynch, est la forme la plus fréquente de prédisposition héréditaire au cancer colorectal avec une incidence estimée à 1/5000 naissances [(**Hampel et al., 2008**) ; (**Jasperson et al., 2010**)]. C'est une maladie génétique à transmission autosomique dominante qui est causée par une mutation dans l'un des quatre gènes du système de réparation des mésappariements de l'ADN et confère un risque nettement accru de divers types de cancer, en particulier du côlon et de l'endomètre (**Verena et al., 2013**).

## 4. Les facteurs de risque du cancer colorectal

Le cancer colorectal n'est pas forcément lié à une cause unique, mais plusieurs facteurs connus qui entrent en jeu pourraient augmenter la survenue de ce cancer (**Moghtit, 2014**).

### 4.1 L'âge et le sexe

Le risque de développer un CCR concerne essentiellement les personnes âgées (**Marina et Jean, 2006**). Il augmente progressivement à partir de l'âge de 50 ans. Les taux d'incidence sont faibles et proches entre les deux sexes puis augmentent avec l'âge, plus rapidement chez l'homme que chez la femme (**Manceau, 2014**).

### 4.2 L'alcool

Multiplés études ont montré un lien entre la consommation d'alcool et le cancer colorectal, et qu'un alcoolisme chronique présente le risque d'un adénome avancé et joue un rôle dans la carcinogenèse colorectale d'une manière identique chez les hommes et les femmes (**Lee et al., 2016**). Ainsi d'autres études ont mis en évidence une liaison spécifique l'alcool et le risque d'adénome de taille supérieur à 1cm ; ce qui justifie que l'alcool intervient dans les premiers stades de la progression du cancer (**Boutron et al., 1995**).

### 4.3 Le tabac

Le tabac est un important facteur de risque. Des agents cancérigènes de la fumée de cigarette peuvent favoriser le développement de tumeurs au colon et au rectum. Des études ont montré que le risque est proportionnel aux nombres de cigarettes fumées et aux nombres

d'années passées du tabagisme ; les gros fumeurs (20 cigarettes ou plus par jour) sont trois fois plus susceptibles de développer un cancer du côlon et cinq fois plus susceptibles de développer un cancer du rectum avec l'apparition de gros adénomes que les non-fumeurs (**David, 2018**).

La période de latence avant l'apparition du cancer colorectal est d'au moins 35 ans ; ceci explique que le lien entre le tabagisme et le cancer colorectal n'ait parfois pas été établi en raison de très long délais entre l'exposition au tabac et le développement de tumeurs cancéreuses du colon (**Marina et Jean, 2006**).

#### **4.4 L'obésité**

L'obésité et le surpoids sont associés à une augmentation du risque relatifs de plusieurs types de cancer notamment le cancer colorectal de la même façon chez les hommes que chez les femmes, mais le lien semble être plus fort chez les personnes malades obèses sans activité physique (**Schlienger et al., 2009**). Cette dernière a montré un effet protecteur dans la survenue du CCR, ce qui explique qu'on peut réduire ce risque en perdant du poids (**Moghtit, 2014**).

#### **4.5 Les facteurs alimentaires**

L'alimentation occupe une place primordiale dans la survenue du CCR. D'après une étude, ils estiment que 70% des cancers colorectaux pourraient être prévenue par une intervention nutritionnelle. Un régime alimentaire très calorique et riche en graisses animales, contenant peu de légumes et de fibres associé à la sédentarité et une désorganisation au rythme des repas pourrait agir comme facteur promoteur de la cancérogénèse (**Park et al., 2005**). Ainsi la consommation importante de la viande rouge et les charcuteries augmentent fortement le risque du CCR, l'effet nocif de l'association de ces 2 aliments est dû à la forte teneur en graisses saturées et en fer qui oxyde les lipides de notre régime alimentaire, formant des composés toxiques qui attaquent les cellules épithéliales du côlon et provoquent la carcinogénèse [(**Marina et Jean, 2006**) ; (**Clinton et al., 2020**) ; (**Imad et al., 2020**)].

En revanche, la consommation du foie joue un effet protecteur en raison de leur richesse en minéraux essentiels et il est assez pauvre en lipides et contient moins de 10% de matières graminées ; donc il peut être consommé en remplacement de la viande rouge. Les fruits et les légumes constituent aussi l'une des principales sources en vitamines, fibres, minéraux et autres composants biologiquement actifs, ce qui assure un effet protecteur qui pourrait expliquer une diminution de la concentration des substances cancérogènes (**Imad et al., 2020**).

#### 4.6 Les facteurs héréditaires et génétiques

En plus des facteurs environnementaux qui influencent le risque de développer un cancer colorectal, des facteurs génétiques peuvent également jouer un rôle dans le développement de ce type de cancer (Moghtit, 2014). Le risque d'avoir un cancer colorectal est plus élevé lorsqu'un ou plusieurs parents du premier degré ont déjà été atteints par la maladie, notamment avant l'âge de 50 ans (Jaspersen *et al.*, 2010).

#### 5. Les facteurs de risque infectieux

Parmi les agents exogènes associés à l'initiation et à la progression du cancer colorectal, on trouve les agents infectieux qui peuvent être d'origine bactérienne telle que *Escherichia coli* mais principalement *Helicobacter pylori* [(Zumkeller *et al.*, 2006) ; (Butt et Epplein, 2019)], ou d'origine virale comprenant les Papillomavirus humains (HPV), Virus d'Epstein-Bar (EBV), John Cunningham Virus (JCV), Cytomégalovirus humain (HCMV), etc. (Coelho *et al.*, 2010).

##### 5.1 *Helicobacter pylori*

L'infection à *Helicobacter pylori* est l'une des infections bactériennes chroniques les plus courantes dans le monde, en particulier dans les pays en développement. Cette bactérie est à l'origine de nombreuses maladies telles que le lymphome, la gastrite, les ulcères peptiques et le cancer de l'estomac. L'infection à *H. pylori* peut être considérée comme un facteur de risque du cancer du côlon et des polypes adénomateux. Cette bactérie pourrait être impliquée dans la carcinogenèse colorectale en augmentant la libération de gastrine qui peut agir comme mitogène. Il a été montré que *H. pylori* induit une hypergastrinémie (Butt et Epplein, 2019).

##### 5.2 Papillomavirus humains (HPV)

Des études ont démontré que le HPV est présent dans le colon et le rectum de certains patients atteints d'adénocarcinome colorectal, ce qui suggère que ce virus pourrait être impliqué dans l'étiologie ou la pathogénèse du cancer colorectal. Des enquêtes ont mis en évidence que les HPV à haut risque sont présents dans environ 40 à 84% des cas de CCR chez l'homme [(Damin *et al.*, 2007) ; (Ala-Eddin *et al.*, 2016)].

##### 5.3 Epstein-Bar Virus (EBV)

Des études ont mis en évidence que la structure similaire et l'histogenèse et l'embryogenèse communes de l'estomac et d'autres organes du tube digestif suggèrent un rôle possible de l'EBV dans le développement de tumeurs épithéliales, y compris le cancer

colorectal. L'EBV peut être incriminé dans la carcinogénèse des tumeurs colorectales avec une prévalence de 20 à 52% [(Liu *et al.*, 2003) ; (Oleynicova *et al.*, 2021)].

#### **5.4 Cytomégalovirus humain (CMVH)**

Le CMVH est un virus qui a été impliqué dans la promotion de la croissance tumorale et présent dans les tumeurs du cancer colorectal (Chen *et al.*, 2014). Certaines preuves et découvertes suggèrent que les acides nucléiques de ce virus se localisaient spécifiquement dans l'épithélium muqueux néoplasique du CCR (Chen et Chan, 2014).

#### **5.5 John Cunningham Virus (JCV)**

Le JCV a été associé au cancer colorectal et pourrait contribuer au phénotype du cancer d'une manière directe ou indirecte par plusieurs mécanismes. Parmi les protéines, deux en particulier, le grand antigène T et l'agnoprotéine peuvent interférer avec les mécanismes de contrôle du cycle cellulaire et d'instabilité génomique, bien que d'autres protéines virales puissent également contribuer au processus. Ce virus n'est peut-être pas la cause du CCR, mais il peut être un facteur de risque pertinent et capable de favoriser le développement à un ou plusieurs stades de la progression tumorale [(Maginnis et Atwood, 2009) ; (Coelho *et al.*, 2010)].

## 1. Papillomavirus humains

### 1.1 Historique

Les papillomavirus sont des virus très anciens et extrêmement stables. Leur étude a commencé très tôt dans l'histoire grâce à la découverte des virus du papillome du lapin (CRPV) et du papillome bovin (BPV) (**Fradet-Turcotte, 2011**) mais leurs caractérisations fut relativement longue, car il n'existe pas de système cellulaire leur permettant de se reproduire *In vitro* (**Lopes, 2005**). Leur 1<sup>ère</sup> découverte a été en 1907 par *Giuseppe Ciuffo*, ces virus sont restés largement non étudié jusqu'à l'avènement de la virologie moléculaire (**Boulet et al., 2007**).

Les papillomavirus sont responsables de tumeurs bénignes et malignes chez l'homme et chez l'animal, et ont été à l'origine du premier modèle de tumeur liée à un virus à ADN, découvert en 1920 par Richard SHOPE chez le lapin [(**Alain, 2010**) ; (**Sagna, 2012**) ; (**Bruyere, 2019**)].

Dans les années 1970, le professeur allemand *Harald Zur Hausen* a mis en évidence les papillomavirus humains par des méthodes moléculaires. Les HPV oncogènes qui sont exprimés dans les cellules néoplasiques sont impliqués dans leur transformation et leur immortalisation, et peuvent accélérer la progression vers la malignité (**Zur Hausen, 2002**). Son travail et tous ses recherches ultérieures sur les cancers associés au HPV lui ont valu le prix Nobel 2008 de physiologie et médecine (**Cohen et Enserink, 2008**).

### 1.2 Phylogénie

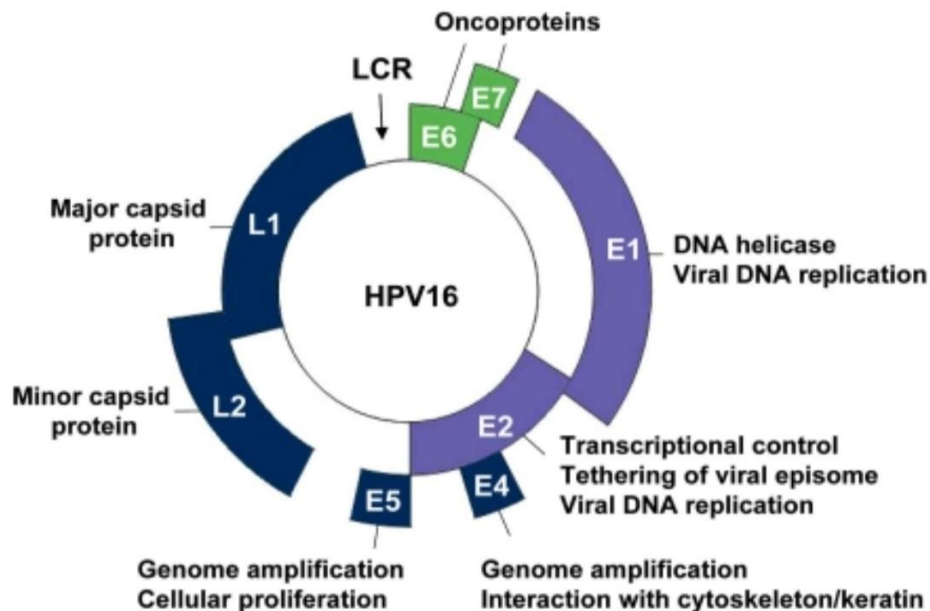
Les papillomavirus représentent un grand groupe de virus de la famille des *PAPILLOMAVIRIDAE* (**Doorbar et al., 2015**). Ce sont des virus qui ont évolué parallèlement avec l'hôte qu'ils infectent, d'où l'ajout de l'abréviation désignant l'hôte infecté dérivée du terme anglais au suffixe PV. Ces virus sont classés en 16 genres en fonction de leurs caractéristiques génétiques communes, dont les plus connus chez les humains sont les Alpha, Beta, Gamma, Mu et Nu papillomavirus (**Figure. 1**) [(**Van Doorslaer, 2013**) ; (**Lepiller et al., 2021**)].



La première région E contient les gènes précoces E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7 et E8 qui codent pour des protéines non structurales impliquées dans les premières étapes du cycle viral. Les gènes E5 et E8 ne sont pas présents dans le génome de tous les types de HPV [(Tommasino, 2014) ; (Burley *et al.*, 2020)].

La deuxième région L contient les gènes tardifs L1 et L2 qui codent respectivement les protéines structurales majeures et mineures qui forment la capside virale (Tommasino, 2014)

Enfin la troisième région non codante de contrôle appelée LCR (Long Control Region) ou URR (Up stream Regulatory Region) située entre les gènes L1 et E6 et contient l'origine de réplication, ainsi que l'élément de régulation de réplication et de transcription virale (Tommasino, 2014).



**Figure. 2 :** Organisation génétique de l'HPV16 (Abramo et Archambault, 2011).

## 1.5 Classification des papillomavirus humains

### 1.5.1 Classification basée sur la séquence génomique

Il s'agit de la séquence nucléotidique du gène L1, qui constitue la base de la classification des papillomavirus. Pour identifier un nouveau HPV, le génome entier du virus doit être séquencé et sa séquence L1 doit montrer plus de 10 % de différence par rapport à la séquence L1 du type connu le plus proche génétiquement [(Segondy, 2008) ; (Leto *et al.*, 2011)].

### 1.5.2 Classification basée sur le tropisme

Typiquement, on distingue les HPV à tropisme cutané et muqueux (Hantz, 2021). Ceux qui infectent les muqueuses appartiennent au genre alpha, tandis que ceux qui infectent la peau



appartiennent principalement aux genres bêta et gamma mais aussi aux genres mu et nu Papillomavirus (**Segondy, 2008**). Cette distinction n'est pas toujours absolue, et certains types d'HPV n'ont pas un tropisme strict pour la peau ou les muqueuses (**Kloul et Oussadou, 2022**) (**Tableau 1**).

**Tableau 1** : Classification des HPV selon leur tropisme (**De Villiers et al., 2004**)

Tropisme	Type
<b>Cutané</b>	HPV 1, 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
<b>Muqueux</b>	HPV 6, 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
<b>Mixte</b>	HPV 3, 7, 10, 28, 29, 40, 43, 78, 91, 94

### 1.5.3 Classification basée sur le potentiel oncogène

Cette classification concerne les alpha papillomavirus qui ont été le centre d'intérêt d'un grand nombre de recherches en raison de leur pouvoir oncogène, ils peuvent à la fois provoquer des pathologies cutanées et muqueuses, et peuvent être divisés en HPV à haut risque, HPV à faible risque et probablement à haut risque selon la pathogénicité (**Burd et Dean, 2016**) (**Tableau 2**).

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

Classification	Type
<b>Haut risque</b>	16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59
<b>Haut risque probable</b>	26, 53, 66, 68, 73, 82
<b>Bas risque</b>	6, 11, 13, 40, 42, 43, 44, 54, 61, 70, 72, 81, 89
<b>Risque indéterminé</b>	30,32,34,62,67,69,71,74,83,84,85,86,87,90

### 1.6 Cycle viral

Les papillomavirus présentent une forte spécificité tissulaire. Ils sont strictement épithéliotropes (**Beaudin et al., 2015**). Leur cycle viral est parfaitement lié et adapté au programme de différenciation des cellules infectées (**McBride, 2008**). Les étapes de cycle viral sont expliquées ci-dessous :

### 1.6.1 Attachement, internalisation et décapsidation

La première étape de l'infection est lorsque le virus rencontre la cellule cible. Après reconnaissance entre le motif antigénique présent à la surface du virus et les récepteurs spécifiques présents à la surface des cellules cibles, le virus s'attache (**Beaudin *et al.*, 2015**). Les interactions initiales de liaisons à la surface cellulaire dépendent de la protéine de la capsid L1 et les récepteurs de la membrane basale qui semble être des protéoglycanes à sulfate d'héparine (HSPG). Lors de la liaison HSPG, la capsid virale passe par des changements conformationnels [(**Graham, 2017**) ; (**Kombe *et al.*, 2021**)].

Ensuite le virus sera internalisé lentement par un mécanisme d'endocytose par la voie des clathrines ou cavéoline (**Abban et Meneses, 2010**), après il se décapside en quittant la vésicule d'endocytose et la protéine L1 est dégradée. Le transfert de l'ADN viral au noyau est alors facilité par la protéine mineure de la capsid L2 (**Doorbar, 2006**).

### 1.6.2 Maintenance du génome viral

Comme de nombreux autres virus à ADN, la réplication de l'ADN viral des papillomavirus à lieu dans le noyau (**Reinson *et al.*, 2015**). Le virus maintient son génome dans les cellules basales (**Guillet, 2010**). Il est considéré que dans ces cellules le nombre de copies virales s'établit entre 10 et 200 copies (**Doorbar, 2005**). Les génomes d'HPV nouvellement synthétisés se répartissent, comme l'ADN cellulaire, dans chaque cellule fille, la protéine E2 joue un rôle essentiel dans la ségrégation des génomes viraux au cours de la division cellulaire (**Lehman et Botchan, 1998**).

### 1.6.3 Prolifération cellulaire

L'entrée de ce virus dans la cellule hôte est suivie d'une période d'hyperprolifération des cellules de l'épithélium supra-basal. Cette prolifération et croissance est sous l'effet des oncogènes E6 et E7. Ainsi, au cours de l'infection, l'activité de ces gènes permet à certaines cellules de la couche basale de se diviser afin de former une couche de cellules entretenant le virus sous forme épisomique (**Doorbar, 2005**).

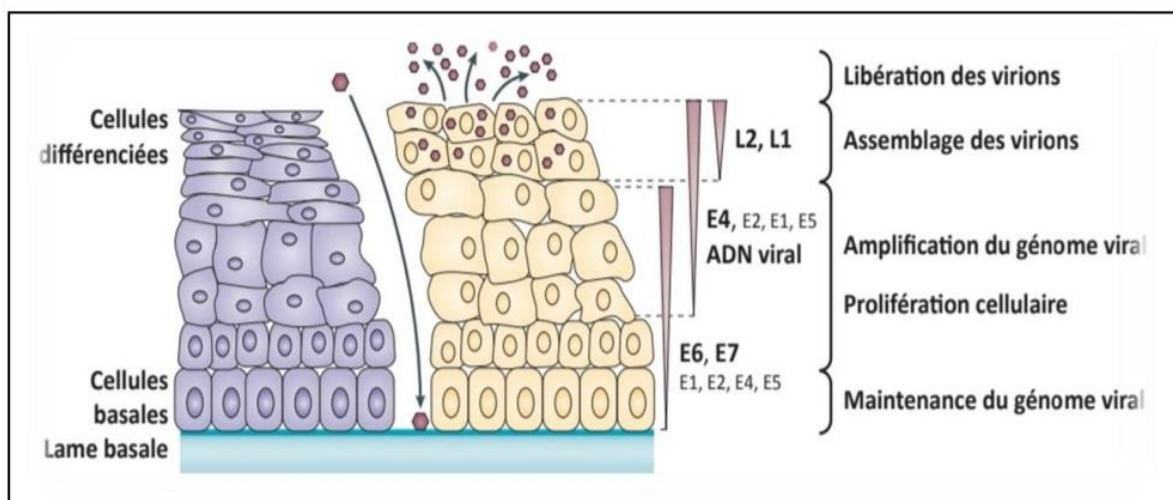
### 1.6.4 Amplification du génome viral

La phase d'amplification ou réplication végétative de l'ADN viral se traduit par une amplification élevée du nombre de copies du génome viral. Elle se fait par une réplication en cercle roulant qui permet de générer de grandes quantités d'ADN viral (**McBride, 2008**). Cette

phase, étroitement dépendante du processus de différenciation des cellules épithéliales, ne se déroule que dans les couches les plus superficielles de l'épithélium (**Monsonogo, 2006**).

### 1.6.5 Encapsidation et libération des virions

Dans la dernière phase du cycle viral, les virions s'auto-assemblent, ainsi L1 et L2 s'expriment pour permettre l'encapsidation du génome de l'ADN du HPV (**Modis *et al.*, 2002**). Les HPV n'étant pas des virus lytiques, ils profitent de la desquamation naturelle des cellules épithéliales pour être libérés dans le milieu extérieur. A ce moment, le cycle est qualifié de cycle productif et la transmission serait donc importante [(**Doorbar, 2005**) ; (**Monsonogo, 2006**) ; (**Mougin *et al.*, 2008**)] (**Figure 3**).



**Figure. 3 :** Déroulement du cycle viral des HPV après infection d'un épithélium malpighien (**Moody et Lamnis, 2010**).

### 1.7 Rôle de HPV dans le processus de cancérisation

Selon l'Organisation mondiale de la santé, on n'estime qu'environ 1 personne sur 3 est infectée par le HPV, près de 80% à un moment donné de sa vie (**OMS, 2022**). Certains de ces virus à haut risque oncogène sont responsables d'environ 5% des cancers (**Badoual *et al.*, 2015**). Les protéines E6 et E7 sont les principales protéines possédant des propriétés oncogéniques (**Prétet *et al.*, 2007**). Le pouvoir oncogène va dépendre de l'intégration du génome de HPV HR dans le génome de l'hôte (**Oyouni, 2023**).

L'oncoprotéine virale E6 se lie à la protéine p53 qui est pro-apoptotique. Une fois dégradée, la protéine p53 ne peut plus exercer son rôle de « gardien du génome », pouvant conduire à l'immortalisation de la cellule. Alors que l'oncoprotéine virale E7 se lie à la protéine du rétinoblastome pRb et conduit à sa dégradation par le protéasome. Ceci peut aboutir à la

dérégulation du cycle cellulaire et à la transformation cancéreuse de la cellule [(Munger et Howley, 2002) ; (Yim et Park, 2005)].

## 1.8 Prévention

La prévention de l'infection liée à ce virus doit se faire par vaccination qui est une prévention primaire et/ou par dépistage qui est une prévention secondaire (Szymonowicz et Chen, 2020).

### 1.8.1. Vaccination

La méthode la plus prometteuse et passionnante pour la prophylaxie de l'infection par le HPV et de ses complications est la vaccination, étant donné que les vaccins peuvent prévenir mais aussi traiter ces infections liées aux HPV [(Akhtar, 2004) ; (Gilla, 2022)]. Deux types de vaccins HPV ont été développés ; les vaccins prophylactiques et thérapeutiques. Les premiers induisent des taux élevés d'anticorps neutralisants spécifiques qui se lient aux particules virales et empêchent leur entrée dans les cellules hôtes (avant l'infection). Trois types de ces vaccins sont disponibles : Bivalent (HPV16, 18), Tétravalent (HPV6, 11, 16, 18), non avalent (vs. HPV6, 11, 16, 16, 18, 31, 33, 45, 52, 58) [(Monsonégo, 2006) ; (Garbuglia *et al.*, 2020)]. Alors que les vaccins thérapeutiques stimulent les réponses immunitaires cellulaires T spécifiques des protéines E6 et E7 d'HPV16 (lymphocytes T CD4+ et CD8+) pour détruire les cellules tumorales associés aux HPV (après l'infection) (Villada, 2013).

### 1.8.2. Dépistage

L'HPV est principalement associé aux cancers du col de l'utérus dont le dépistage se fait généralement par des frottis (examen cytologique), colposcopie ou biopsie cervicale (examens histologiques) (OMS, 2013), mais il peut également être présent dans d'autres types de cancers, y compris les tissus tumoraux de cancer colorectal (Tran *et al.*, 2007). Pour détecter la présence de HPV dans les tissus tumoraux du cancer colorectal, différentes méthodes moléculaires peuvent être utilisées :

- **Détection de l'ADN viral par PCR**

Cette méthode consiste à extraire l'ADN des échantillons de tissus tumoraux et à réaliser une réaction de polymérase en chaîne (PCR) spécifique au HPV. Cela permet d'amplifier et de détecter l'ADN viral, s'il est présent dans l'échantillon.

- **Hybridation in situ**

Cette technique, permet de visualiser la présence du HPV directement dans les tissus. Elle utilise des sondes spécifiques qui se lient à l'ARN viral ou à l'ADN viral dans les cellules tumorales, ce qui permet de les détecter au microscope.

- **Immunohistochimie**

Cette technique peut être utilisée pour détecter les protéines virales spécifiques du HPV dans les tissus tumoraux. Des anticorps spécifiques dirigés contre ces protéines virales sont utilisés pour marquer et détecter leur présence.

D'autres techniques sont utilisées telle que Southern Bloth, Dot Blot, Western Blot.... Ces méthodes de dépistage d'HPV dans les tissus tumoraux du cancer colorectal sont utilisées dans le cadre de la recherche et des études scientifiques [(Monsonogo, 2007) ; (Yang *et al.*, 2019) ; (Zito Marino *et al.*, 2021)].

## 1.9 Traitement

Il n'y a pas de remède contre l'infection au HPV. Dans environ 90% des cas, notre système immunitaire l'élimine spontanément. La plupart des personnes infectées par le HPV ne présentent aucun symptôme et ne sauront jamais qu'elles sont ou ont été infectées, pour cela le dépistage est primordial afin d'informer et de prévenir une infection à HPV [(Rebibo, 2019) ; (Delpero et Selk, 2022)].

## 1.10 Cancers associés aux HPV

Les principaux cancers associés au HPV sont le cancer du col de l'utérus (100 %), le cancer anal (90 % à 93 %), le cancer de l'oropharynx (12 % à 63 %), le cancer du pénis (36 % à 40 %), le cancer du vagin (40 à 93 %) et le cancer de la vulve (40 à 51 %) (Chaturvedi, 2010). Il est aussi associé à d'autres cancers, notamment ceux de la prostate, de la vessie, de la gorge (cavité oropharyngée) , du poumon, le cancer du sein et du colon (Ouhoumane *et al.*, 2013).

Les HPV16 et 18 sont les principaux types de risque oncogène détectés dans le CCR, où l'infection colorectale au HPV16 semble être courante dans les tissus cancéreux colorectaux et les tissus adjacents non tumoraux, ce qui suggère que le HPV pourrait jouer un rôle dans la pathogénèse du cancer colorectal (Bodaghi *et al.*, 2005).

## 2. Epstein-Barr Virus

### 2.1 Historique

En 1964, Michael Anthony Epstein et son élève Yvonne Barr découvrirent le premier gamma-Herpès-virus humain, par l'analyse d'une biopsie d'un spécimen de tumeur un virus dans des cultures de cellules de lymphome de Burkitt africain (L.M) grâce à la microscopie électronique. Cette découverte a constitué une avancée majeure en accréditant pour la première fois l'idée qu'un cancer humain pouvait être d'origine virale et ce n'est qu'en 1978 que l'association entre EBV et lymphome de Burkitt a pu être démontrée grâce à une étude épidémiologique de grande ampleur (**Manet et Gruffat, 2022**). Il fut appelé le «Virus d'Epstein-Barr (E.B.V)» ou «Virus du type IV» (**Pujals et al., 2013**). Ce virus, morphologiquement similaires aux Herpes virus connus à cette époque, étaient complètement différents du point de vue biologique et antigénique (**Manet et Gruffat, 2022**).

Par ailleurs, Sa relation avec la mononucléose infectieuse (M.I) a été établie en 1968 par le Dr. Henle et son équipe de recherche qui ont observé qu'une laborantine présentait cette maladie ainsi qu'une séroconversion vis-à-vis du virus. La même année, Niederman et ses collègues ont démontré la présence d'anticorps anti-EBV dans le sang périphérique des patients ayant une M.I. (**Amiel, 2013**). Dès 1987, la responsabilité du virus dans l'apparition de la M.I. fut établie (**Sotisse, 1994**).

En 1990, des recherches approfondies sont menées sur le cycle de vie de l'EBV, sa capacité à infecter les cellules du système immunitaire, ainsi que ses mécanismes de latence et de réactivation. Depuis les années 2000, les études sur l'EBV se poursuivent, mettant en évidence son rôle potentiel dans d'autres maladies, telles que la sclérose en plaques, certaines maladies auto-immunes et certains cancers (**Harley et al., 2018**).

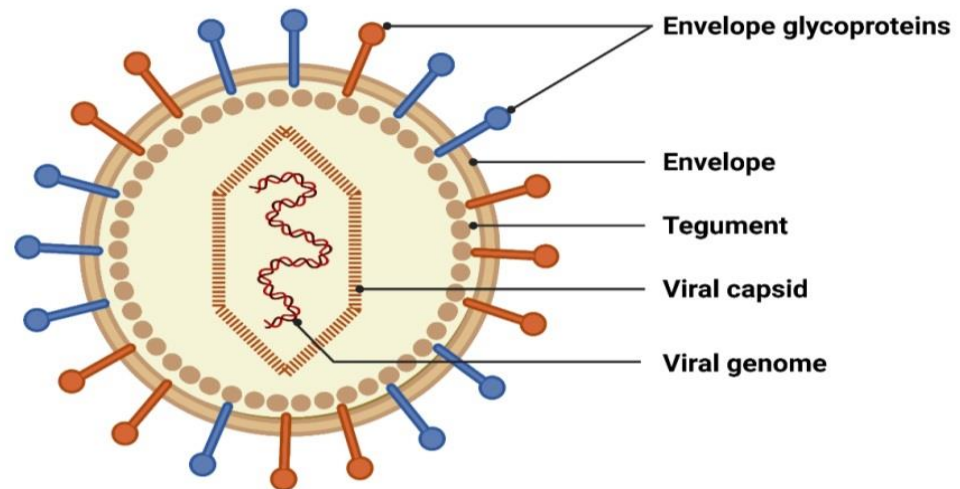
### 2.2 Définition

L'EBV est le premier virus oncogène découvert chez l'homme, il est très répandu et ubiquitaire, retrouvé chez 90 à 95 % de la population mondiale (**Maréchal et Quignon, 2013**) appartenant à la famille des *HERPESVIRIDAE*, dans la sous-famille des *GAMMAHERBESVIRINAE* et au genre des lymphocryptovirus. Les plus connus d'entre eux étant le HSV-1 et le HSV-2 (**Maréchal et Pilot, 2001**).

### 2.3 Structure

Comme les autres virus de l'herpès, l'EBV est un virus enveloppé et présente une forme sphérique (**Figure. 4**) d'un diamètre de 120 à 180 nm [(**Carbone et al., 2008**) ; (**Olivieri,**

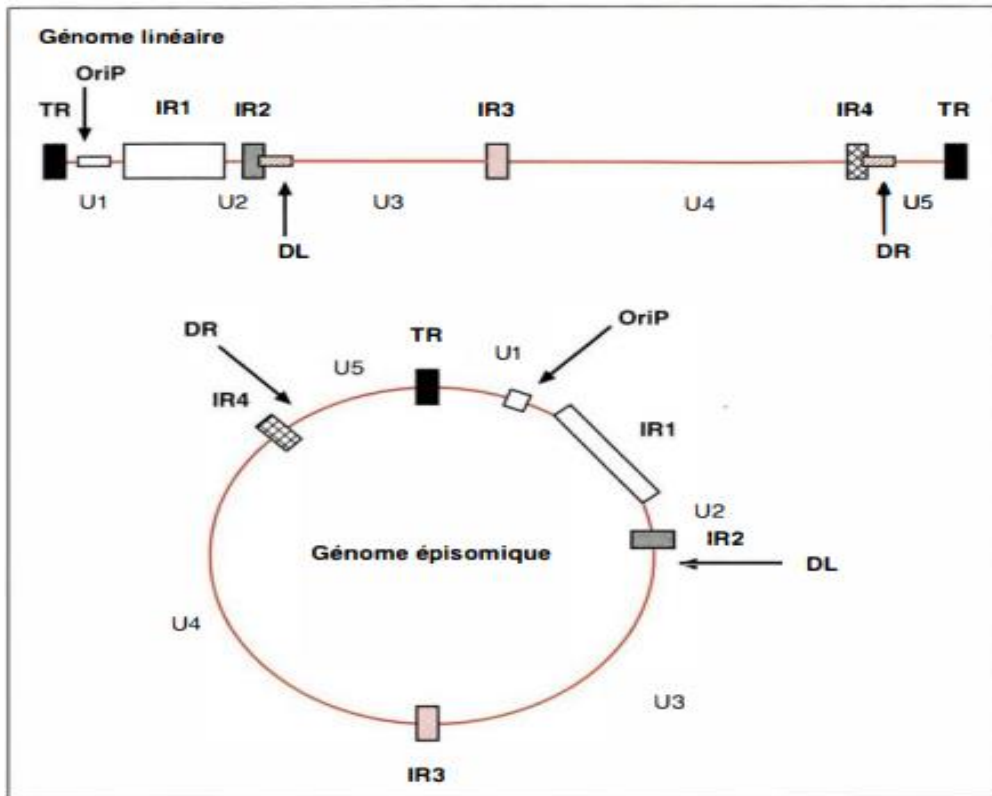
2019) ; (Voisin, 2021)]. Le génome est intégré dans une capsid de forme icosaédrique. L'ensemble capsid-génome est quant à lui entouré par une structure fibrillaire asymétrique appelée le tégment. Cette dernière est à son tour recouverte d'une enveloppe, constituée d'une bicouche lipidique parsemée de diverses glycoprotéines qui sont essentielles pour la liaison du virion aux différents récepteurs situés sur la membrane plasmique de la cellule hôte (Lupo *et al.*, 2019).



**Figure .4 :** Schémas représentatif de la structure de virus EBV (Sall, 2021).

Son génome se présente sous la forme d'un ADN double brin d'environ 172kb et code pour plus de 85 gènes, dont des oncogènes viraux d'Epstein-Bar Nuclear Antigen (EBNA1, EBNA2, EBNA3A, EBNA3B, EBNA3C et EBNA5) et deux protéines membranaires latentes LMP1 et LMP2, ainsi que divers ARN non codants EBER (Epstein-Barr Virus-Encoded RNA) : ARN encodé par le virus d'Epstein-Barr et miARN (microARN) (Gupta *et al.*, 2020).

Il est composé de 2 domaines uniques : un domaine court (US, Short Unique region), et un domaine long (UL, Long Unique region). Ces deux domaines sont séparés par des séquences répétées en tandem qui constituent la région répétée interne 1 (IR1, internalrepeat 1) (Voinin, 2018).



**Figure. 05 :** Organisation du génome de l'EBV sous forme linéaire et épisomique (Young et Rickinson, 2004).

TR : séquences uniques ; IR ; séquence internes répétées ; OriP : origine de réplication latente ; DL et DR : séquence homologues contenant les origines de réplication lytique Orilyt

## 2.4 Tropisme et transmission

L'hôte du virus EBV est entièrement humain où il se transmet par voie orale par la salive et présente un double tropisme en infectant deux cibles physiologiques principales qui sont les lymphocytes B et les cellules épithéliales tels que les oropharyngées (Denesvre, 2003). Le virus ne survit pas longtemps dans le milieu extérieur et nécessite un contact direct (Kaye, 2021). La voie sexuelle est aussi incriminée dans la propagation du virus. Il se transmet également par voie sanguine (transfusion, blessure) [(Aslane, 2018) ; (Aye et al., 2020)].

## 2.5 Cycle viral

Il est important de noter que le cycle viral d'EBV peut varier légèrement en fonction des types de cellules cibles et des conditions environnementales (Larrat, 2010). De plus, EBV est souvent associé à des infections persistantes et peut causer diverses maladies y compris les cancers (Cressot et al., 2023).



### 2.5.1 Adsorption et internalisation

Les lymphocytes B peuvent être facilement infectés. En revanche, dans certaines cellules épithéliales, la pénétration du virus serait facilitée par la fixation préalable d'immunoglobulines A sur les antigènes de capsid virale VCA (viral capsid antigens) [(Zong *et al.*, 1992) ; (Marelle *et al.*, 1993)].

L'entrée virale dans les lymphocytes B se fait par l'interaction entre la glycoprotéine gp 350/220 du virus et la protéine de surface (la molécule CD21) [(Nemerow *et al.*, 1985) ; (Denesvre, 2003)]. La fixation à la surface des lymphocytes est suivie par endocytose du virus (Ballout, 2005). Une seconde glycoprotéine gp85, assure la fusion du virus à la membrane cellulaire, entraînant la libération de la nucléocapside dans le cytoplasme des lymphocytes B. Une troisième glycoprotéine gp42, est essentielle à la pénétration par des interactions avec les molécules du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) à la surface des cellules de classe II [(Molesworth *et al.*, 2000) ; (Hutt-Fletcher, 2007) ; (Sueur, 2011)].

Dans les cellules épithéliales, l'attachement du virion nécessiterait les protéines cellulaires CD21 et la gp350/220 virale. La pénétration, quant à elle, requerrait l'interaction des glycoprotéines gp85/gp25 avec une protéine de surface suivi par une transportation de génome virale dans le noyau de la cellule épithéliale (Imai *et al.*, 1998). Il existe cependant des voies d'infections alternatives pour les cellules épithéliales qui n'expriment pas la molécules CD21 ou qu'ils font intervenir soit la fixation et l'internalisation de complexes formé entre des IgA anti-EBV et des virions, soit une pénétration du virus par contact direct entre des lymphocytes B infecté et des cellules épithéliales [(Pegtel *et al.*, 2004) ; (Hadinoto *et al.*, 2009)].

### 2.5.2 Multiplication

L'EBV peut se répliquer de deux manières soit par la prolifération des cellules B infectées ou par la production de virions lytiques (Münz, 2019). Deux phases peuvent donc être établies : lytique productrice et latente non productrice (Bahri, 2017).

- **La latence**

Après l'entrée, le génome viral de l'EBV s'associe au noyau de la cellule B et n'entraîne pas la production de virions, mais permet la persistance virale dans les cellules hôtes (Salem, 2010), tout en réduisant l'expression d'antigènes viraux, ce qui constitue un mécanisme clé permettant à l'EBV d'échapper au système immunitaire et de persister dans l'organisme.

Contrairement à la phase lytique de l'EBV, qui exprime plus de 80 antigènes, la phase de latence n'exprime que quelques protéines qui sont EBNA, LMP et EBER (Ratouit, 2022).

L'EBV a quatre programmes de latents connus, décrivant des profils d'expression génique distincts de l'infection latente *In vivo et In vitro* ou les type de latence varient selon les différentes tumeurs malignes associées au virus (Aranda et Epstein, 2015) (Tableau 3).

**Tableau 3:** Programmes de latence de l'EBV (Münz, 2019)

Programme de latence	Les gènes exprimés	Stade de différenciation de LB	Cancers associés
<b>Latence III</b>	EBNA1, 2, 3, LMP1, 2, EBERs	Blastocyste	Lymphome de Hodgkin
<b>Latence II</b>	EBNA1, LMP1, EBERs	Cellule B du centre germinatif	Carcinome nasopharyngé
<b>Latence I</b>	EBNA1, EBERs	Cellule B mémoire	Lymphome de Burkitt
<b>Latence 0</b>	EBERs	Cellule B mémoire	

- **Latence 0** : est un stade précoce de l'infection par EBV « pré-latence » se caractérise par une expression très limitée des protéines virales dans les cellules nouvellement infectées, avant que le virus ne passe à l'un des trois types de latence.
- **Latence I** : l'EBV exprime un nombre limité de gènes viraux, tels qu'EBNA-1 et les miARN. EBNA-1 joue un rôle essentiel dans le maintien du génome viral dans les cellules hôtes et dans la réplication du virus lors des divisions cellulaires.
- **Latence II** : l'EBV exprime des gènes viraux supplémentaires, tels que les protéines virales impliquées dans la prolifération des cellules B, comme les protéines LMP1 et LMP2A. LMP1 joue un rôle dans la survie et la prolifération des cellules B infectées par l'EBV, tandis que LMP2A est impliqué dans la signalisation cellulaire.
- **Latence III** : l'EBV exprime la majorité de ses gènes viraux, y compris les protéines nécessaires à la production de nouvelles particules virales. Pendant cette phase, les cellules infectées peuvent produire des particules virales, mais elles sont généralement en nombre limité et ne sont pas totalement infectieuses. Cette phase permet au virus de maintenir une infection chronique et se réactiver périodiquement pour propager l'infection à de nouvelles cellules hôtes ou causer des complications cliniques chez les individus immunodéprimés [(Faulkner *et al.*, 1999) ; (Larrat, 2010) ; (Ratouit, 2022)].

- **Réactivation**

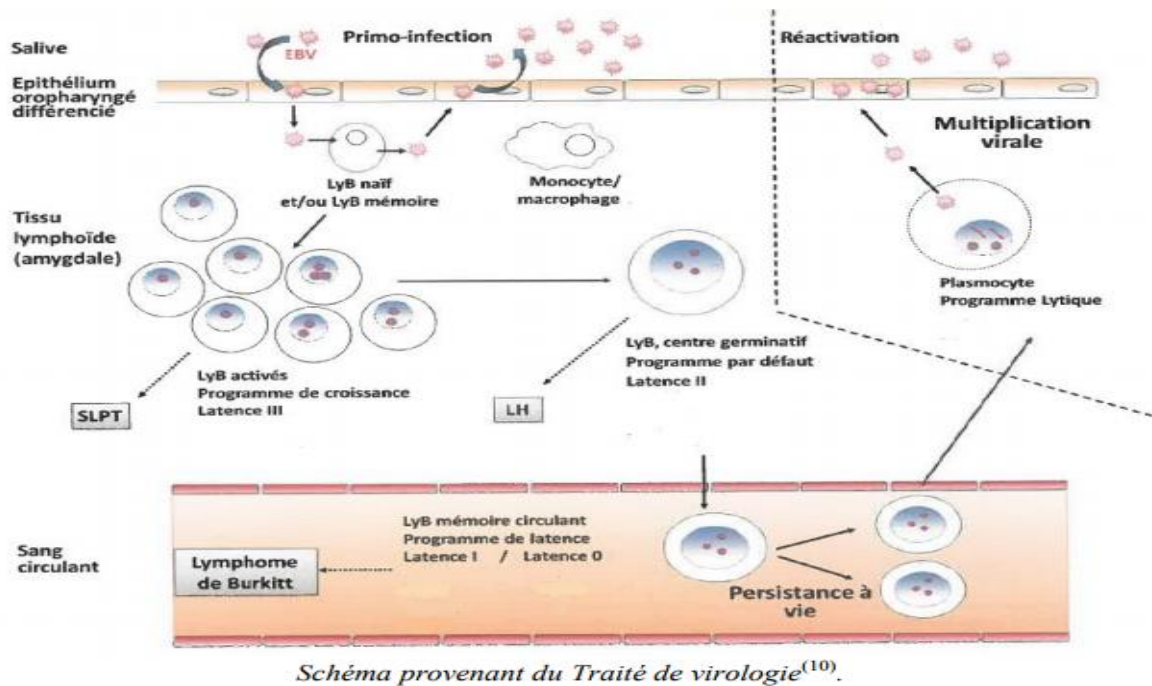
C'est le passage spontané de la latence au cycle lytique. Elle est caractéristique des lymphocytes B. Les protéines virales EBNA initient l'activation du génome viral. *In vitro*, on peut provoquer la réactivation avec des substances chimiques comme les phospho-esters des euphorbiacées, le butyrate de sodium, et des analogues des nucléosides (**Maréchal et Piolot, 2001**).

- **Réplication virale**

Le cycle lytique correspond à l'expression des différentes protéines virales permettant la fabrication de nouveaux virions. En effet, une fois l'ADN viral entré dans le noyau de la cellule hôte. On distingue 3 périodes (**Marelle et al., 1993**)

- ✓ **Une période précoce immédiate** où seules les protéines précoces immédiates sont produites ; Ce sont les protéines de latence composées en grande partie d'enzymes (transcriptases, répliques, etc.) et les ARNs.
- ✓ **Une période précoce** caractérisée par l'expression des protéines précoces et des éléments constitutifs de la nucléocapside.
- ✓ **Une période tardive** marquée par l'assemblage des protéines constitutives de la capsidie et du génome. Les protéines sont synthétisées dans le cytoplasme mais l'assemblage se passe dans le noyau. L'acquisition de l'enveloppe se fait par bourgeonnement à partir des membranes nucléaires, golgiques, endoplasmiques et plasmiques de la cellule. Les glycoprotéines s'insèrent par la même occasion dans l'enveloppe. Les virions sont libérés après lyse de la cellule infectée (**Münz, 2019**).

La phase lytique est caractéristique des cellules épithéliales de l'oropharynx mais dans de rares cas, elle se passe dans les lymphocytes (**Shannon-Lowe et al., 2009**).



**Figure. 6:** Cycle biologique d'Epstein-Barr (EBV) (Ratouit, 2022).

## 2.6 Propriétés Oncogéniques de virus EBV

La présence de l'EBV à l'état latent dans les cellules peut altérer certaines fonctions cellulaires et conduire à la transformation tumorale et ce sont principalement les protéines de latence EBNA-1, EBNA-2, EBNA-3 ainsi que les LMP qui sont impliquées dans l'oncogénèse associée à ce virus (Pujals *et al.*, 2013)

- **EBNA-1** est retrouvée dans tous les types de latence et de ce fait, dans toutes les pathologies associées à l'EBV. C'est un transactivateur transcriptionnel qui contribue à l'oncogénèse par différents mécanismes tels que la régulation du cycle cellulaire, la migration cellulaire et l'apoptose (Marongiu et Allgayer, 2021).
- **EBNA-2** est un puissant activateur transcriptionnel qui recrute, par son domaine de transactivation, des protéines de la machinerie transcriptionnelle, comme elle est aussi responsable de la surexpression de certains gènes cellulaires comme l'oncogène c-myc, C-FGR ou le gène codant la protéine membranaire CD21 (récepteur d'EBV) (Pujals *et al.*, 2013).
- **EBNA-3** joue un rôle essentiel dans la tumorigénèse associée à l'EBV en régulant la prolifération et le cycle cellulaire des cellules infectées (Olivieri, 2019).

- **LMP1** est exprimée dans toutes les pathologies malignes, et constitue l'oncogène majeur du virus. Ces propriétés oncogènes sont liées à sa capacité d'activer de façon chronique des voies de signalisation cellulaire impliquée dans des processus prolifératifs ou de résistance à l'apoptose (**Tan-Sothéa, 2008**).

## 2.7 Epidémiologie et maladies associées à l'EBV

L'EBV est un virus présent dans toutes les régions géographiques infectant plus de 90% de la population adulte (**Sall, 2021**). La primo-infection par l'EBV est le plus souvent pendant la petite enfance de manière asymptomatique, mais lorsqu'elle survient plus tardivement (chez l'adolescent ou chez l'adulte), elle peut provoquer une maladie lymphoproliférative bénigne : la mononucléose infectieuse [(**Young et Rickinson, 2004**) ; (**Manet et Gruffat, 2022**)].

L'infection à EBV est couramment associée à des lymphomes à cellules B (lymphomes de Burkitt et de Hodgkin) ainsi qu'à des tumeurs malignes épithéliales (carcinomes nasopharyngés, gastriques et probablement colorectaux) (**Tsang et Tsao, 2015**). De plus, il est aussi associé à la maladie lymphoproliférative des lymphocytes T et/ou des cellules tueuses naturelles (NK) ainsi qu'à celles trouvées chez les personnes immunodéprimées (infectées par le VIH ou les patients ayant subi des chirurgies de transplantation) [(**Fernandes et al., 2020**) ; (**Gupta et al., 2020**) ; (**Manet et Gruffat, 2022**)].

## 2.8 Diagnostic

Le diagnostic d'EBV se fait par les méthodes suivantes :

### 2.8.1 Tests sérologiques (détection des anticorps)

La recherche d'anticorps spécifiques par des techniques sérologiques reste la méthode recommandée pour le diagnostic des infections primaires à EBV. Les antigènes les plus fréquemment utilisés pour la détection des anticorps sont VCA et EBNA (**Dumoulin et Eyer, 2018**).

### 2.8.2 L'immunohistochimie

Elle 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**).

### 2.8.3 Diagnostic moléculaire

La PCR est la méthode actuellement de choix qui permet de mettre en évidence le génome d'EBV ainsi que la quantification de la charge virale par la PCR en temps réel

[(Dumoulin et Eyer, 2018) ; (Abusalah *et al.*, 2020)]. La détection du génome EBV peut également être effectuée par hybridation *in situ* qui offre l'avantage de pouvoir identifier le type et le pourcentage de cellules infectées (Hess, 2004).

## 2.9 Traitement

La primo-infection survenant chez le sujet immunocompétent ne requiert qu'un traitement symptomatique. Un traitement par corticoïde, court est possible en cas de symptomatologie bruyante. En revanche, au cours des infections graves à EBV chez un patient immunodéprimé, des antiviraux tels que l'aciclovir, le ganciclovir, le foscarnet et le cidofovir ont été essayés avec des résultats inconstants. Dans le cas des lymphoproliférations, outre la radio et la chimiothérapie, des essais de stimulations ou de restauration de la réponse cytotoxique sont en cours (Biomnis, 2012).

## 2.10 EBV et le cancer colorectal

Le virus Epstein-Barr est l'un des oncovirus les plus courants qui représente environ 10 à 15% de tous les néoplasmes malins (Oleynikova *et al.*, 2021). L'EBV est associé à une variété de cancers, dont la plupart apparaissent des années après l'infection initiale. Ainsi, les tumeurs malignes épithéliales associées à la présence d'EBV dans les cellules épithéliales comprennent les cancers du nasopharynx, de l'estomac, du sein y compris le cancer colorectal où le virus influence le développement de ce cancer, en outre, il existe une corrélation statistiquement significative entre la persistance virale et le stade de la maladie (Marogiu et Allgayer, 2021). La plupart des études manquent d'informations sur la localisation du virus détecté (cellules épithéliales ou cellules du tissu lymphoïde), ce qui est fondamental pour apprécier le stade de développement de l'EBV, d'une part, et établir son rôle pronostique d'autre part (Oleynikova *et al.*, 2021).

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and rounded corners on the right, framing the text.

**PARTIE**  
**EXPÉRIMENTALE**

## I. Méthodologie

### 1. Recherche d'HPV et EBV à partir des tissus paraffinés

#### 1.1 Objectif

Cette étude vise à détecter la présence d'ADN des virus HPV et EBV en utilisant la méthode de PCR classique sur les échantillons de tissus provenant de patients atteints de CCR.

#### 1.2 Lieu d'étude

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement (LAMAABE).

#### 1.3 Echantillonnage

Ce travail porte sur une collection de LAMAABE, comprenant un total de 10 lames provenant de blocs FFPE (formalin-fixed-paraffin-embedded) découpés à partir de biopsies de patients atteints de CCR (issus d'une population de la région de l'ouest d'Algérie).

#### 1.4 Matériel et méthodes

Cette étude qui consiste en la détection de l'ADN des virus HPV/EBV dans le cancer colorectal est basée sur trois grandes étapes principales qui sont : l'extraction d'ADN, amplification par la PCR et une électrophorèse sur gel d'agarose.

##### 1.4.1 Préparation des tissus

En utilisant les 10 lames contenant des tissus tumoraux inclus en paraffine, avec une épaisseur comprise entre 10  $\mu\text{m}$  et 15  $\mu\text{m}$ , seules les parties contenant du tissu ont été grattées, puis les coupes tissulaires obtenues ont été placées dans des tubes Eppendorf.



**Figure. 7 :** lame contenant le tissu inclus en paraffine.



### **1.4.2 Extraction d'ADN par la méthode « GenElute FFPE DNA Purification kit »**

#### **❖ Objectif**

L'objectif est d'isoler la molécule d'ADN de toute autre molécule organique, et d'en obtenir une quantité suffisante et de pureté satisfaisante pour permettre toutes les manipulations ultérieures de biologie moléculaire (**Sigma-Aldrich, 2015**).

#### **❖ Principe**

Les kits de purification d'ADN servent à extraire et à isoler des échantillons d'ADN contenu dans les échantillons en éliminant les impuretés chimiques et biologiques. Cette purification permet de préparer l'ADN et de le rendre prêt à être utilisé pour diverses applications en aval, telles que le clonage, l'édition génomique, l'hybridation in situ, l'amplification par PCR, etc. (**Benayed et Rebai, 2022**).

#### **❖ Protocole**

##### **➤ Déparaffinage des tissus inclus en paraffine**

Dans chaque tube eppendorf contenant les coupes tissulaires, 300 $\mu$ L de Xylène a été ajouté à l'aide d'une micropipette tout en évitant de toucher l'échantillon, suivi d'une agitation manuelle pendant quelques secondes, puis les laisser incuber pendant 3 à 5 min à température ambiante. Suivi d'une centrifugation pendant 2 min à vitesse maximale (12000 tours/min). Après centrifugation, le surnageant est jeté et cette étape est répétée au culot encore 2 fois pour assurer l'élimination de la paraffine.

Ensuite, 300 $\mu$ L d'éthanol est rajoutée au culot pour la réhydratation des tissus (échantillon), suivi d'une agitation manuelle pendant quelques secondes et une centrifugation pendant 2min à vitesse maximale (12000 tours/min). Après centrifugation le surnageant est jeté et cette étape est répétée au culot encore 2 fois afin d'obtenir un meilleur déparaffinage.

##### **➤ Purification d'ADN**

Dans chaque tube eppendorf, contenant les coupes tissulaires, 300 $\mu$ L de la solution de lyse (Digestion Buffer A) et 10 $\mu$ L de protéinase K et 1 $\mu$ L d'ARNase ont été ajoutés au culot. Les tubes sont vortexés et mis dans une étuve à 55°C pendant une nuit.

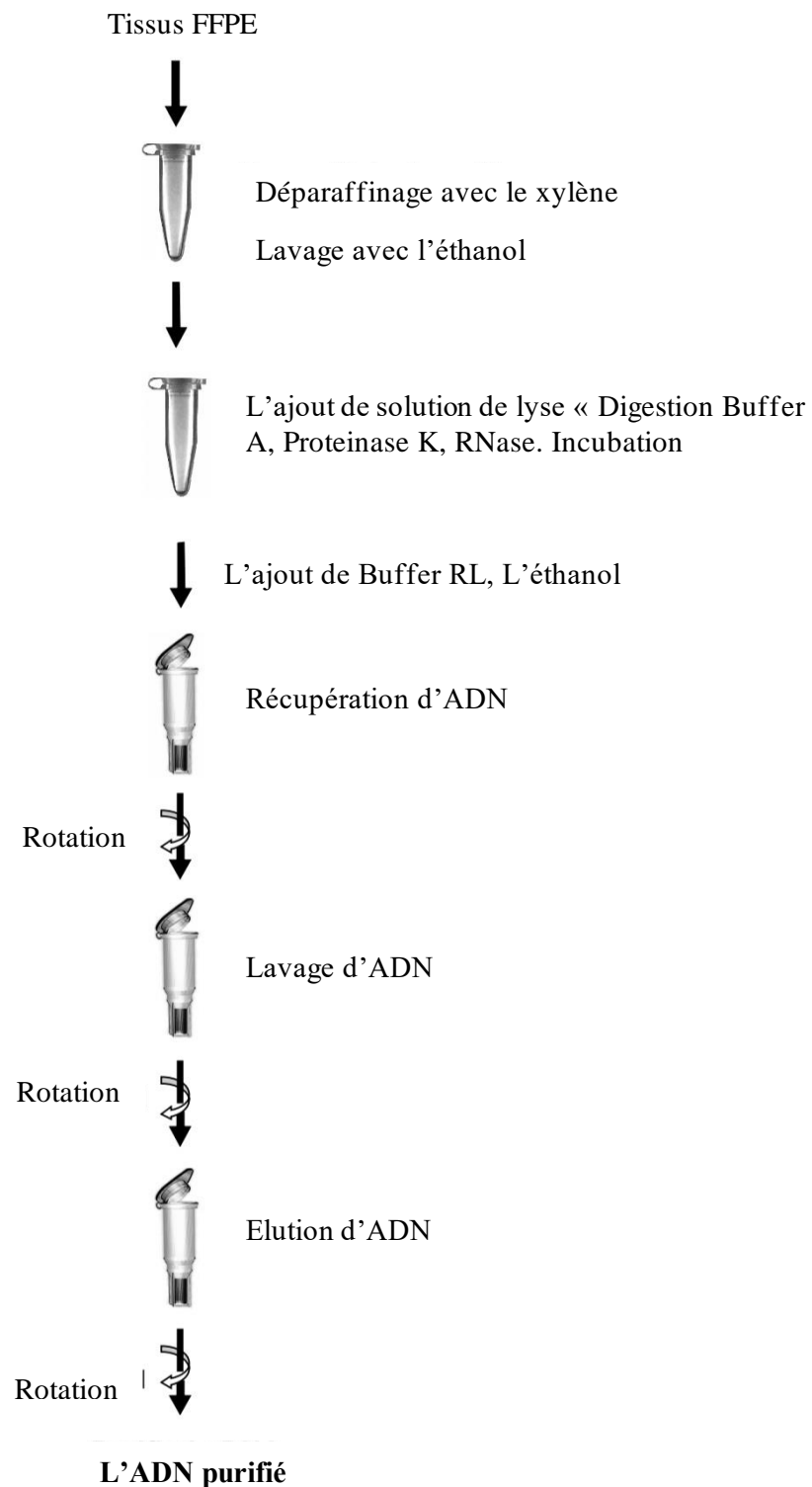
Après une nuit, 300 $\mu$ L de tampon RL est ajoutée, puis le mélange est agité à l'aide d'un vortex pour assurer une bonne homogénéisation. Ensuite 250 $\mu$ L d'éthanol est rajoutée suivi aussi d'une agitation au vortex pour bien mixer. Une micro-colonne de purification d'ADN est

assemblée avec chacun des tubes collecteurs fournis, et on ajoute jusqu'à 600µL du lysat clarifié avec de l'éthanol sur la colonne puis, une centrifugation pendant 1min à vitesse maximale (12000 tours/min) est effectuée. Après, le précipitant est jeté et cette étape est répétée jusqu'à 3 fois pour récupérer le maximum de quantité d'ADN. Ensuite 400µL de la solution de lavage (Wash Buffer) est ajoutée sur la colonne, et centrifugée pendant 1min à vitesse maximale. Après cela, le précipitant est jeté. Cette étape est répétée aussi 3 fois pour assurer un meilleur lavage de la molécule d'ADN et de la solubilisation de toutes les impuretés indésirables.

La colonne (qui contient le surnageant) est placée dans un nouveau tube eppendorf, et 20 µL de la solution d'élution (Elution Buffer B) est ajoutée. Une centrifugation pendant 1min à vitesse maximale est réalisée. Puis, 20µL de la solution d'élution est encore ajoutée suivi d'une 2<sup>ème</sup> centrifugation pendant 1 min à vitesse maximale et la 3<sup>ème</sup> centrifugation est lancée directement sans rien ajouter juste pour récupérer une maximum quantité d'ADN. A la fin, le culot est récupéré dans le tube et les colonnes sont jetées. Les tubes qui contiennent de l'ADN pur seront bien fermés prêt au stockage à -20° après avoir ajouté 20µL de TE (Tris-EDTA).

**La figure. 8** une illustration qui résumé toutes les étapes d'extraction et purification d'ADN par la méthode « **GenElute FFPE DNA Purification kit** » .

### Procédure de purification d'ADN par par la méthode « GenElute FFPE DNA Purification kit »



**Figure. 8 :** Procédure de purification d'ADN en utilisant le kit commercialisé « GenElute FFPE DNA purification kit » (Sigma-Aldrich, 2015).

### 1.4.3 Contrôle de qualité de l'ADN par spectrométrie

#### ❖ Objectif

Le dosage d'ADN par la spectrométrie a pour but de mesurer l'absorbance (ou densité optique) à une longueur d'onde 260nm pour l'ADN et 280nm pour les protéines. Cette méthode permet d'analyser et quantifier la pureté de l'ADN après sa purification fournissant ainsi une analyse quantitative (**Denis *et al.*, 2018**).

#### ❖ Principe

Etablir le rapport de la mesure de l'absorbance d'ADN aux longueurs d'ondes de 260 et 280nm, comme indicateur de pureté (**Ben Larbi *et al.*, 2014**).

#### ❖ Mode opératoire

Les tubes contenant l'ADN ont été dilués au 1/100 pour permettre une bonne lecture. Ensuite le spectromètre a été calibré en utilisant un blanc (cuve d'eau ultra pure). Enfin, les échantillons ont été transférés dans la cuve en quartz pour la mesure. Les lectures étaient effectuées simultanément à 260 et 280nm pour évaluer la pureté de l'ADN.

### 1.4.4 Amplification de l'ADN cible par PCR

#### ❖ Objectif

L'amplification par PCR permet d'obtenir d'importantes quantités d'un fragment ou un très grand nombre de copies d'une séquence d'ADN choisie et de longueur définie pour l'analyse (**Jaton et Greub, 2007**).

#### ❖ Principe

La PCR est une technique d'amplification d'ADN *In vitro*. Cette technique comporte de nombreux cycles dont 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**).

#### ❖ Mode opératoire

L'amplification par PCR a été réalisée dans un volume réactionnel de 25  $\mu$ L détaillé dans le tableau ci-dessous (**Tableau. 4**) :

**Tableau. 4 :** Composition de mélange réactionnel

Composant	Concentration	Volume ( $\mu$ l)
10X Taq buffer	1X	2,5
2,5 Mm dNTPs	200 $\mu$ M	2
Amorce F	0,25 $\mu$ M	0,625
Amorce R	0,25 $\mu$ M	0,625
Taq polymerase	2,5 U	0,5
H <sub>2</sub> O Ultra pure	-	17,75
ADN	-	1

Un témoin positif ainsi qu'un témoin négatif dépourvu d'ADN (contenant de l'H<sub>2</sub>O ultra pure) sont nécessaires à chaque amplification, afin d'éliminer la possibilité des faux négatifs et des faux positifs dû à une contamination lors de la préparation du mélange réactionnel.

La technique PCR se réalise par le biais d'un appareil programmable appelé un « thermocycleur » dans lequel sont placés les microtubes contenant le mélange réactionnel. Cet appareil permet le contrôle du changement de températures à différentes étapes de la réaction.

Le programme d'amplification de PCR pour la détection d'HPV en utilisant les amorces (MY09/11) (**Tableau. 5**) a été réalisé comme suite :

➤ **PCR MY09/11**

- Pré-dénaturation à 95°C pendant 15 min
- 40 cycles de :
  - Dénaturation à 95°C pendant 30 s,
  - Hybridation à 53°C pendant 45 s,
  - Extension à 72°C pendant 1 min,
- Post-extension à 72°C pendant 5 min.



**Figure. 9 :** le programme de thermocycleur pour le test (HPV).

La deuxième PCR pour la détection d'EBV en utilisant l'amorce LMP1 (**Tableau. 5**) a été réalisée comme suite :

➤ **PCR LMP1 D'EBV**

- Pré-dénaturation à 94°C pendant 5 min.
- Post-extension à 72°C pendant 10 min.
- 35 cycles :
  - Dénaturation à 94°C pendant 30 s.
  - Hybridation à 55°C pendant 1 min.
  - Extension à 72°C pendant 3 min.
  - Post-extension à 72°C pendant 5 min.

**Tableau. 5:** les amorces utilisées en PCR des deux virus d'HPV et d'EBV.

Virus	Amorces utilisées	Taille des amplicons	Gène ciblé
<b>Papillomavirus</b>	MY09: 5'-CGTCCMARRGGAWACTGATC-3' MY11: 5'-GCMCAGGGWCATAAYAATGG 3'.	450 pdb	L1
<b>Epstein-Bar</b>	LMP1 F: 5' AATAGACAGCCCAGTTGAAA 3' LMP1 R: 5' GCAGTGCCATATCTGACGTG 3'	509 pdb	LMP1

### 1.4.1 Analyse par électrophorèse sur gel d'agarose 1,5%

#### ❖ Objectif

L'objectif principal de cette technique est de séparer, identifier et isoler les molécules d'ADN en fonction de leur taille (analyse qualitative) (Senicourt, 2016).

#### ❖ Principe

L'électrophorèse (EP) est une méthode d'analyse qui repose sur le fait que des particules chargées électriquement se déplacent lorsqu'elles sont soumises à l'action d'un champ électrique. Elle permet donc de séparer les molécules chargées telles que (l'ADN, l'ARN et les protéines contenues dans un mélange en fonction de leurs caractéristiques physico-chimiques propres (point isoélectrique, mobilité électrophorétique, taille, masse) et des caractéristiques du milieu dans lequel se déroule la séparation (solide ou liquide, pH, force ionique, électroendosmose) (Cellier, 2018).

#### ❖ Mode opératoire

Le TAE (qui est un tampon de migration utilisé en électrophorèse, composé de Tris, acide acétique et EDTA) est préparé à 1X à partir de la solution mère TAE 5X concentré. L'agarose utilisé est à 1,5%, pour le préparer ; 1,5 g d'agarose est pesé et dissoute dans 100ml de tampon TAE (1X). Puis, la solution est mise au four à micro-ondes pour dissoudre l'agarose en surveillant afin d'éviter les projections, avec une agitation de temps à autre pour homogénéiser le mélange. Ensuite le BET (Bromure d'éthidium) qui est utilisé comme marqueur non radioactif pour identifier et visualiser les bandes d'acides nucléiques sous UV est ajouté le gel d'agarose. Le peigne est positionné à 1 mm du fond et à environ 1 cm de l'extrémité du support, ensuite le gel est coulé lentement à 5mm d'épaisseur en veillant à ce qu'il entoure bien les dents du peigne et en évitant toute formation de bulles d'air. Après cela, le gel est laissé refroidir pour se solidifier, le peigne est enlevé délicatement. Le gel est prêt pour le dépôt des échantillons.



**Figure. 10 :** La préparation de gel d'agarose.

Le plateau de moulage est positionné au niveau de la cuve à électrophorèse et les puits du côté de la cathode. Ensuite, remplir la cuve de tampon TAE 1X pour qu'il couvre complètement le gel. 5 $\mu$ L de l'échantillon est mélangé avec 5 $\mu$ L de tampon de charge coloré « Loading Buffer » qui va permettre d'alourdir et de suivre visuellement la migration. Un marqueur de taille (100pb) est aussi déposé dans le puits afin d'estimer la taille des bandes d'ADN. Enfin, fermer la cuve et brancher les électrodes. Choisir le voltage à 90 et laisser migrer pendant 30 min.



## II. Résultats

### 1. Résultat d'extraction d'ADN par la méthode GenElute

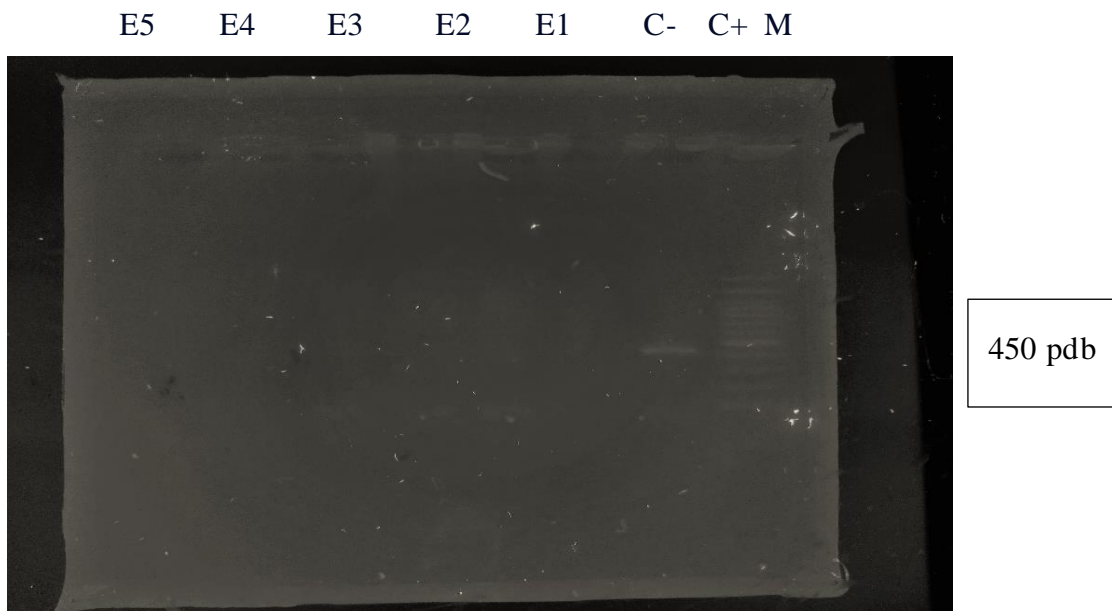
L'extraction d'ADN par la méthode de kit GenElute nous a permis de bien purifier notre molécule de toute autre impureté et d'avoir une petite méduse d'ADN.

### 2. Résultat de contrôle de qualité de l'ADN par spectrométrie

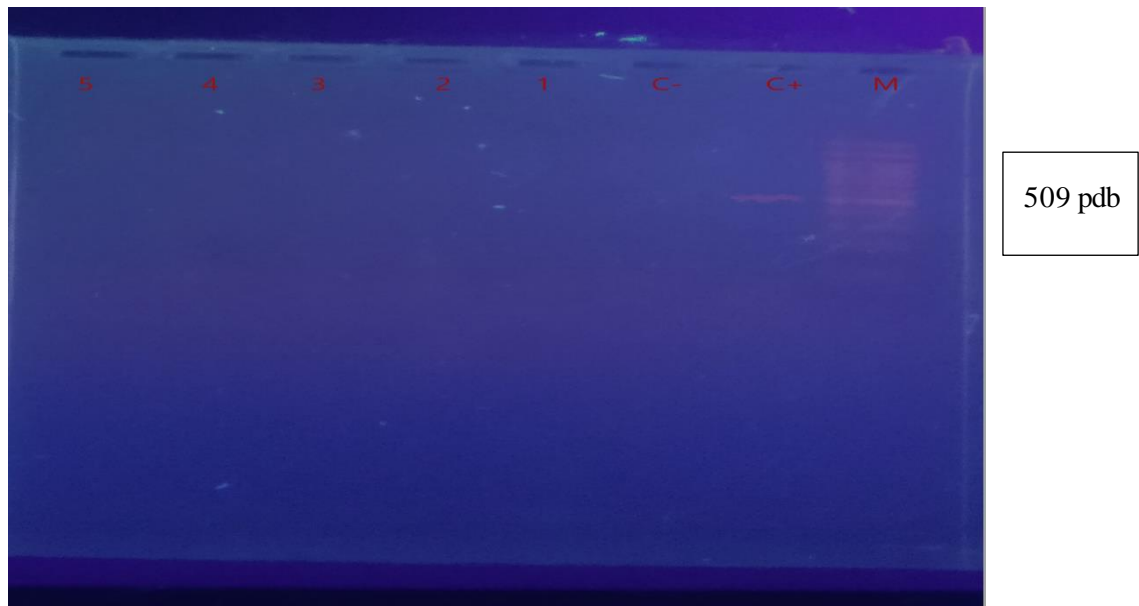
La révélation d'une bonne qualité d'ADN prouve que la molécule est pure et qu'elle a été efficacement extraite dans tous les échantillons, car le ratio 260nm/280nm était compris entre 1,8 et 2 pour tous les prélèvements.

### 3. Résultat de l'analyse par électrophorèse sur gel d'agarose

L'analyse des bandes d'ADN des deux virus par électrophorèse sur gel d'agarose indique que tous les échantillons (10 adénocarcinomes colorectaux) étaient négatifs aussi bien pour l'ADN d'HPV (**Figure. 11**) que l'ADN d'EBV (**Figure. 12**)



**Figure. 11** : L'observation des bandes d'ADN sous-UV des amorces de (MY11/09) d'HPV



**Figure. 12 :** L'observation des bandes d'ADN sous-UV des amorces (LMP1 F / R) de l'EBV

**M :** Marqueur de poids moléculaire      **C- :** Contrôle négative      **C+ :** Contrôle positive  
**E :** Echantillon

### III. Discussion

Le cancer colorectal est l'une des tumeurs malignes les plus courantes au monde et provoque environ 1 000 000 de décès par an (**Rawla et al., 2019**). L'incidence de ce cancer augmente chaque année en Algérie, L'analyse du profil épidémiologique a révélé que le CCR est le troisième cancer le plus fréquent dans notre région (Tlemcen), après le cancer du sein et de la thyroïde chez les femmes (taux d'incidence de 10,7 pour 100 000 habitants) et après le cancer de la vessie et de la prostate chez les hommes (taux d'incidence de 14,3 pour 100 000 habitants) (**Behar et al., 2020**).

Le CCR est une maladie complexe et multifactorielle qui est fortement influencée par plusieurs facteurs notamment des facteurs viraux tels que les papillomavirus humains et les virus d'Epstein-Barr (**Gupta et al., 2020**). Les infections virales par ces deux virus déclenchent une activité oncogénique ce qui peut conduire à l'initiation et à la progression de cancer colorectal (**Fernandes et al., 2020**).

Plusieurs études récentes ont mis en évidence la présence des HPV-HR dans les cancers colorectaux, elle est d'environ 40-84% (**Lorenzon et al., 2011**) ; (**Damin et al., 2013**). Dans notre étude aucune positivité de l'ADN d'HPV n'a été trouvée dans les tissus colorectaux tumoraux, ce qui est en accord avec l'étude de **Taherian et al. (2014)** ou l'ADN d'HPV n'a été identifié dans aucun des échantillons. De même avec d'autres études réalisées en Espagne et en USA (**Gornick et al., 2010**), en Turquie (**Yavuzer et al., 2011**), en Iran (**Fernandes et al., 2020**) et au Portugal (**Martins et al., 2020**), qui ont rapporté l'absence d'identification de l'ADN du HPV dans tous les échantillons examinés.

En revanche, y'a plusieurs études qui ont été faite avec une détection d'HPV positive. La plus faible fréquence de prévalence du HPV (~1 %) dans les échantillons de CCR a été signalée en Arabie Saoudite (**Salepci et al., 2009**). Dans la région du Moyen-Orient (ME) tels que la Syrie, l'Iran et Liban, une prévalence de 37 % (**Malki et al., 2020**), 38 % (**Al-Antary et al., 2017**) et 64 % (**Nagi et al., 2021**) a été rapportée respectivement.

Selon une étude menée aux États-Unis, la fréquence était de 51% (**Jarzyński et al., 2017**) , en Argentine (74 %) (**Pérez et al., 2005**). La positivité HPV la plus élevée rapportée dans le CCR a été détectée en Turquie (81,2 %) (**Buyru et al., 2006**) et en Brésil (83 %) (**Damin et al., 2007**).

Selon **Bucchi et al., (2016)**, la prévalence globale du HPV varie selon les continents du monde. En Amérique du Sud et en Asie, elle se situe entre 32 % et 45 %. En revanche, en Amérique du Nord, en Europe, en Australie et en Afrique, elle est de 3 % ou moins.

Concernant l'EBV, plusieurs recherches ont montré clairement que cet oncovirus est présent dans environ 20-52% des cancers colorectaux (**Bedri et al., 2019**). Notre étude a révélé une absence totale de l'EBV. Des constatations similaires ont été faites au Soudan (**Buyru et al., 2006**), en Iran (**Mehrabani et al., 2016**), en Italie (**Fiorina et al., 2014**) ainsi qu'en Tchécoslovaquie (**Boguszaková et al., 1988**) où des rapports ont rapporté l'absence de corrélation significative entre le développement d'EBV et le CCR.

Par ailleurs, d'autres études ont trouvé une corrélation entre l'EBV et le CCR. D'après l'étude de **Sarvari et al. (2018)** l'ADN de l'EBV a été détecté dans 19% des cas testés en Pologne. 20% en Irak (**Karpinski et al., 2011**), des fréquences de 21% et 25% ont été trouvés en Amérique du Nord (**Salyakina et Tsinoremas, 2013**) et en Bosnie (**Oleynikova et al., 2021**) respectivement. La prévalence d'EBV chez la population chinoise a été de 32,2% (**Habib, 2010**). **Tafvizi et al. (2015)** ont signalé un taux de 38% des cas positifs chez la population Iranienne. Un taux de 46% a été rapporté en Chili (**Sole et al., 2015**).

Il est à noter que beaucoup de travaux scientifiques ont cherché la coprésence de ces deux virus dans les tissus tumoraux. Selon l'étude de **Gupta et al. (2020)** menée au Qatar dans des populations de diverses nationalités résidant au Qatar ; principalement du Qatar, d'Égypte, de Syrie, de Jordanie, du Pakistan et d'Inde ; a révélé la coprésence des HPV-HR et de l'EBV de 40,4 %. Et celle de **Nagi et al. (2021)** qui ont signalé la coprésence d'HPV et d'EBV dans 28 % des cas au Liban. Contrairement, à l'étude réalisée par **Malki et al. (2020)** où les cancers colorectaux n'étaient associés à aucun de ces facteurs viraux en Syrie, ce qui est en accord avec notre étude.

Il convient de noter que plusieurs facteurs peuvent influencer les résultats de notre étude. L'une de ces considérations concerne éventuellement la taille de l'échantillonnage étudié. Dans notre cas, le fait d'avoir testé seulement dix échantillons n'est peut-être pas suffisant pour prendre en compte toute la variabilité potentielle de la présence d'ADN viral dans l'ensemble de la population étudiée.

Par ailleurs, la méthode d'échantillonnage et de conservation utilisée peut également avoir un impact sur les résultats où les tissus frais ou congelés sont généralement mieux préservés, ce qui facilite la détection de l'ADN viral. En revanche, les tissus fixés au formol

peuvent entraîner une dégradation de l'ADN viral, ce qui peut affecter les résultats de détection (**Mendy et al., 2013**).

En outre, il est important de souligner que la méthode de détection utilisée peut jouer un rôle important. Des techniques telles que la PCR, l'IHC, Southern blot ou l'hybridation moléculaire peuvent présenter des sensibilités variables et peuvent conduire à des résultats divergents [(**Chan et al., 2001**) ; (**Qi et al., 2013**) ; (**Awan et al., 2017**)]. Par conséquent, l'utilisation de multiples méthodes de détection et la confirmation des résultats par des approches complémentaires peuvent renforcer la fiabilité des résultats (**Nagi et al., 2021**).

D'autres part, le choix des amorces peut jouer un rôle crucial dans la détection d'ADN viral (**Douvier et Salac, 2004**). Étant donné que les échantillons utilisés dans cette étude étaient inclus en paraffine, entraîner une dégradation de notre ADN, d'où l'importance de choisir des amorces amplifiant des régions plus petites. Ce qui a été constaté par les doctorants de la même équipe qui ont pu obtenir des résultats positifs en changeant les amorces. Les amorces alternatives ont probablement été mieux adaptées pour cibler spécifiquement la région d'intérêt, ce qui a conduit à des résultats positifs.

### Conclusion et perspectives

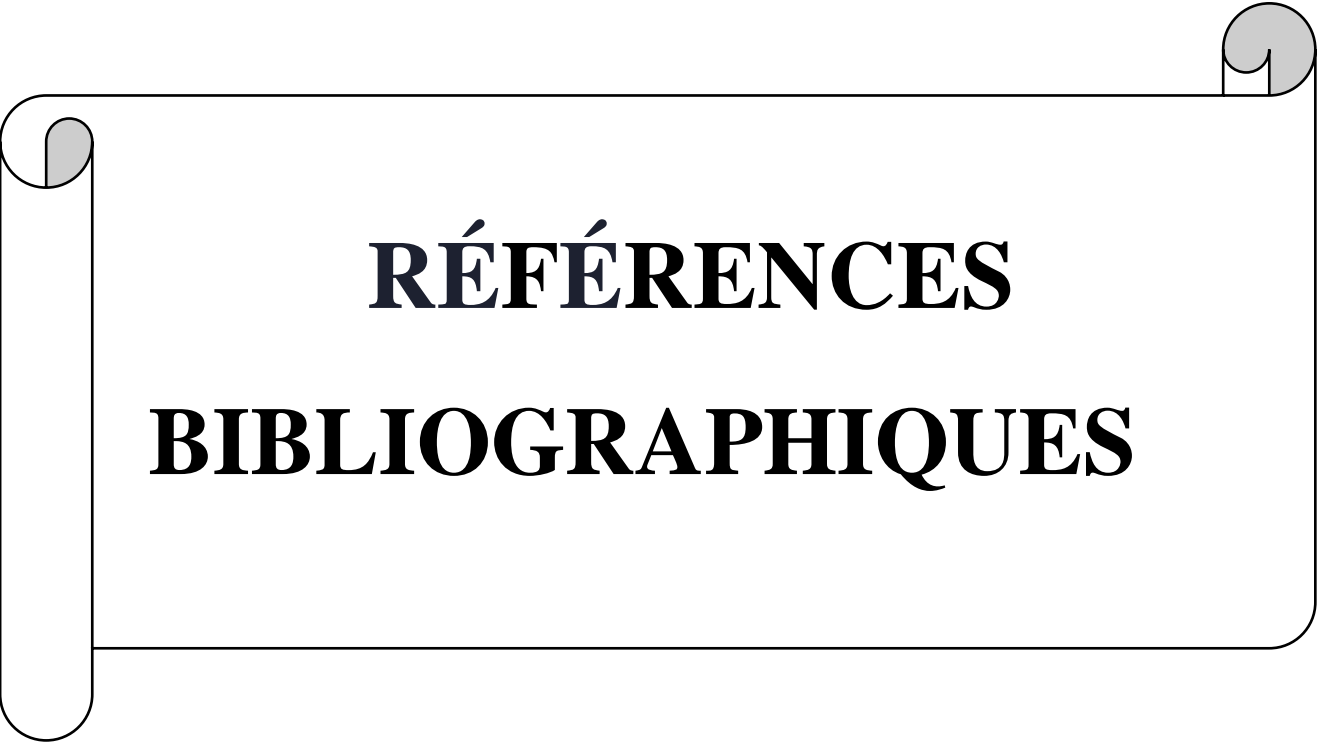
La préoccupation mondiale s'accroît face aux cancers qui sont associés à des virus oncogènes. Ces types de cancers posent un défi majeur pour la santé publique à l'échelle mondiale notamment le cancer colorectal qui est l'une des formes les plus répandues, nécessitant des mesures décisives pour sa prévention, son diagnostic et son traitement. Parmi les virus oncogènes les plus fréquemment associés aux cancers, les virus HPV et EBV jouent un rôle important. Ils ont la capacité de perturber le fonctionnement normal de la cellule, ce qui peut entraîner leur transformation néoplasique, à la prolifération cellulaire et à la progression tumorale. Ces oncovirus contribuent à environ 10 à 15 % de toutes les tumeurs malignes.

A l'issue de cette étude, aucune présence d'ADN du virus HPV et EBV n'a été détectée dans les 10 échantillons testés par PCR. Cependant, les résultats obtenus ne permettent pas de suggérer que l'HPV et l'EBV ne jouent pas un rôle dans le cancer colorectal, car ces résultats peuvent être influencés par divers facteurs, notamment la taille de l'échantillonnage, les caractéristiques des tissus (frais ou paraffinés), les techniques de détection utilisées et la population étudiée.

Une approche rigoureuse et une considération attentive de ces facteurs contribueront à une meilleure compréhension des résultats de l'étude et à des conclusions plus solides. Il est donc important de poursuivre les recherches dans ce domaine pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents et l'implication éventuelle de ces agents viraux dans le cancer colorectal. Il serait intéressant :

- D'augmenter le nombre d'échantillonnage dans les futures recherches afin d'obtenir des résultats interprétables.
- D'utiliser les tissus frais ou congelés, sont les plus propices à la préservation de l'ADN viral, ce qui facilite sa détection.
- D'utiliser d'autres techniques moléculaires de détections d'ADN.
- De sélectionner soigneusement les amorces utilisées en choisissant les plus adaptées afin de pouvoir cibler spécifiquement les séquences d'ADN.

En attendant, l'utilisation de vaccins disponibles et en développement contre l'EBV et les HPV peuvent être une stratégie préventive efficace contre les infections virales, ce qui va offrir une opportunité de réduire et de prévenir les cancers qui y sont associés.

A decorative border resembling a scroll, with a vertical strip on the left and a horizontal strip at the bottom, both with rounded ends. The top corners are also rounded, with a small grey circle at the top right corner.

**RÉFÉRENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

- ✓ **Abban, C. Meneses, P. (2010).** Usage of heparan sulfate, integrins, and FAK in HPV16 infection. *Virology*, 403, 1-6.
- ✓ **Abid, L. (2016).** Epidémiologie des cancers digestives en Algérie.
- ✓ **Abramo, C. M., & Archambault, J. (2011).** Small molecule inhibitors of human papillomavirus protein-protein interactions. *The open virology journal*, 5, 80.
- ✓ **Abusaleh, M.A.H. Gan, S.H. Al-Hatamaleh, M.A. Irekeola, A.A. Shueb, R.H. Chan, Y.Y. (2020).** Recent Advances in Diagnostic Approaches for Epstein-Barr Virus. 9(3):226.
- ✓ **Afshar, MR. Deldar, Z. Mollaei, HR. Arabzadeh, SA. Iranpour, M. (2018).** Evaluation of HPV DNA positivity in colorectal cancer patients in Kerman, Southeast Iran. *Asian Pac J Cancer Prev*, 19(1): 193–198.
- ✓ **Akhtar, M. (2004).** Human papillomavirus: The disease and prevention strategies. *Ann Saudi Med*. 24(1), 1-5.
- ✓ **Akinyemiju, T. Abera, S. Ahmed, M. Alam, N. Alemayohu, M. A. Allen, C., ... & Amini. (2017).** The burden of primary liver cancer and underlying etiologies from 1990 to 2015 at the global, regional, and national level: results from the Global Burden of Disease Study 2015. *JAMA Oncology*, 3(12), 1683-1691.
- ✓ **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.
- ✓ **Alain, S. Hantz, S. Denis, F. (2010).** Papillomavirus : les virus et la physiopathologie de l'infection. *Médecine thérapeutique /pédiatre*, 13(1), 5-19.
- ✓ **Al-Antary, N. Farghaly, H. Aboukassim, T. Yasmeen, A. Akil, N. & Al Moustafa, A. E. (2017).** Epstein–Barr virus and its association with Fascin expression in colorectal cancers in the Syrian population: A tissue microarray study. *Human vaccines & immunotherapeutics*, 13(7), 1573-1578.
- ✓ **Aleksandrova, K., Pischon, T., Jenab, M. et al. (2014).** Combined impact of healthy lifestyle factors on colorectal cancer: a large European cohort study. *BMC Med*, 12, 168.
- ✓ **Amiel, C. (2013).** Le virus Epstein-Barr (EBV) : physiopathogénèse et diagnostic Epstein-Barr virus (EBV): pathogenesis and diagnosis. *Revue francophone des laboratoires*, 2013(456): 47-55.
- ✓ **Aranda, AM. Epstein, AL. (2015).** Latence et réactivation du virus de l'herpès simplex de type 1 (HSV-1). *Med Sci (Paris)*, 31(5): 506-514.



- ✓ **Aslane, M. (2018).** Etude de l'infection du virus d'epstein-barr dans le cancer gastrique en Algérie. Biologie Moléculaire et Cellulaire. Thèse de doctorat publié, Université MOULOUD Mammeri de TIZI-OUZOU.
- ✓ **Awan MS, Irfan B, Zahid I, Mirza Y, Ali SA. (2017).** Comparison of Polymerase Chain Reaction and Immunohistochemistry Assays for Analysing Human Papillomavirus Infection in Oral Squamous Cell Carcinoma. *J Clin Diagn Res*, 11(6):10-13.
- ✓ **Ayee, R. Ofori, Meo. Wright, E. Quaye, O. (2020).** Epstein Barr virus associated lymphomas and epithelia cancers in humans. *Journal of Cancer*, 11(7), 1737-1750.
- ✓ **Badoual C, Tartour E, Roussel H, Bats AS, Pavie J, Pernet S. et al. (2015).** Impact de l'HPV (Human Papilloma Virus) dans les carcinomes autres que gynécologiques. *Rev Med Interne*, 36(8):540-7.
- ✓ **Badoual, C. Hans, S. Merillon, N. Ryswik, CV. Benhammouda, N. Levionnois, E. et al. (2013).** PD-1–Expressing Tumor-Infiltrating T Cells Are a Favorable Prognostic TBiomarker in HPV-Associated Head and Neck Cancer. *Cancer Res*, 73 (1): 128–138.
- ✓ **Bahri, R. (2017).** Séquençage du génome complet du virus d'Epstein-Barr dans des prélèvements issus de lymphomes T angio-immunoblastiques. Immunologie, Oncologie et infectiologie. Thèse de doctorat publié, Université de Limoges et de l'Université Libanaise.
- ✓ **Baidoun, F. Elshiw, K. Elkerai, Y. Merjaneh, Z. Khoudari, G. Sarmini, M. et al. (2021).** Colorectal Cancer Epidemiology: Recent Trends and Impact on Outcomes. *Current Drug Targets*, 22(9): 998-1009.
- ✓ **Ballout, M. (2005).** Evaluation par PCR de l'activité antivirale des inhibiteurs de l'ADN polymérase du Virus d'Epstein-Barr. Biologie Cellulaire. Thèse de doctorat publié, Ecole Doctorale Chimie et Sciences du Vivant.
- ✓ **Baseman, J.G. et Koutsky, L.A. (2005).** The epidemiology of human papillomavirus infections. *J Clin Virol 32 Suppl*, 1:S16-24.
- ✓ **Beaudin, S. Naspetti, M. Montixi, C. & Journo, C. (2015).** Les papillomavirus humains: actualisation des connaissances. *Virus HPV Cancer et Immunité*, 20(11), 23-58.
- ✓ **Bedri, S. Sultan, AA. Alkhalaf, M. Al Moustafa, AE. Vranic, S. (2019).** Epstein-Barr virus (EBV) status in colorectal cancer: a mini review. *Hum Vaccin Immunother*, 15(3):603-610.
- ✓ **Behar, D. Boublenza, L. Chabni, N. Hassaine, H., Dahmani, B. Masdoua, N. Nahet, A., Meguenni, K. (2020).** Retrospective epidemiological study on stomach cancer in a region of western Algeria: about 394 cases between 2011 and 2015. *Journal of Gastrointestinal Cancer*.
- ✓ **Belhamidi, MS. 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 [Epidemiological and pathological profile of colorectal cancer: about 36 cases]. *Pan Afr Med J*, 22;30:159.

- ✓ **Ben ayed, A. Rebai, A. (2022).** Extraction de l'ADN résiduel: obstacle et palier à franchir pour l'investigation de la qualité de l'huile d'olive. *Open Science*.
- ✓ **Ben larbi M. Naouaria G. Yahyaoui M. H. Hadded B. (2014).** Etude technicoéconomique de méthodes d'extraction de l'ADN chez le lapin Européen (*Oryctolagus cuniculus*) à partir du sang. *Journal of New Sciences*, 5(1) : 5-6.
- ✓ **Biomnis, 2012,** revue Epstein-Barr (EBV).
- ✓ **Bodaghi, S. Yamanegi, K. Xiao, SY. Da Costa, M. Palefsky, JM. Zheng, ZM. (2005).** Colorectal papillomavirus infection in patients with colorectal cancer. *Clin Cancer Res*, 11(8):2862-7.
- ✓ **Boguszaková L. Hirsch I. Bricháček B. Faltýn J. Fric P. Dvoráková H. Vonka V. (1988).** Absence of cytomegalovirus, Epstein-Barr virus, and papillomavirus DNA from adenoma and adenocarcinoma of the colon. *Acta Virol*, 32:303–308.
- ✓ **Boutron , MC. Faivre, J. Dop, MC. Quipourt, V. Senesse, P. (1995).** Tobacco, alcohol and colorectal tumors : a multistep process. *Am J Epidemiol*, 141 (11): 1038-1046.
- ✓ **Boutron-Boulet, G. Horvath, C. Vanden Broeck, D. Sahebali, S. Bogers, J. (2007).** Human papillomavirus: E6 and E7 oncogenes. *The international journal of biochemistry and Cell biology*; 39(11), 2006-2011.
- ✓ **Bruyère M. (2019).** Comment améliorer la couverture vaccinale du papillomavirus humain : propositions des médecins généralistes des Pyrénées-Atlantiques à partir de l'analyse de leur pratique. *Médecine humaine et pathologie*.
- ✓ **Bucchi, D. Stracci, F. Buonoro, N. Masanotti, G. (2016).** Human papillomavirus and gastrointestinal cancer: A review. *World j Gastroenterol*. 22(33): 7415–7430.
- ✓ **Burd, M.-E., Dean, L.-C. (2016).** *Diagnostic Microbiology of the Immunocompromised Host*. (2e éd.)
- ✓ **Burley, M. Roberts, S. & Parish, J. L. (2020).** Epigenetic regulation of human papillomavirus transcription in the productive virus life cycle. *In Seminars in Immunopathology*, 42(2), 159-171.
- ✓ **Butt, J. & Epplein, M. (2019).** Helicobacter pylori and colorectal cancer—A bacterium going abroad?. *PLoS pathogens*, 15(8), e1007861.
- ✓ **Buyru N, Tezol A, Dalay N. (2006).** Coexistence of K-ras mutations and HPV infection in colon cancer. *BMC Cancer*.

- ✓ **Carbone, A. Gioghini, A. Datti, G. (2008).** EBV-Associated Lymphoproliferative disorders ; classification and treatment. *The oncologist*, 13,557-585.
- ✓ **Cellier, C.C. Lombard, C. Dimet, I. Kolopp-Sarda, M.N. (2018).** L'électrophorèse des protéines sériques en biologie médicale : interférences et facteurs confondants. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2018(499), 47-58.
- ✓ **Chaturvedi, A.K. (2010).** Beyond Cervical Cancer : Burden of Other HPV-Related cancers among men and women. *Journal of Adolescent Health*. 46(4), 20-26.
- ✓ **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.
- ✓ **Chen HP, Jiang JK, Lai PY, Chen CY, Chou TY, Chen YC, et al. (2014)** .Tumoral presence 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.
- ✓ **Chen X, Dong Z, Hubbell E, Kurtzman KN, Oxnard GR, Venn O, Melton C, Clarke CA, Shaknovich R, Ma T, Meixiong G, Seiden MV, Klein EA, Fung ET, Liu MC. (2021).** Prognostic Significance of Blood-Based Multi-cancer Detection in Plasma Cell-Free DNA. *Clin Cancer Res*, 27(15):4221-4229.
- ✓ **Clinton SK, Giovannucci EL, Hursting SD. (2020).** The World Cancer Research Fund/American Institute for Cancer Research Third Expert Report on Diet, Nutrition, Physical Activity, and Cancer: Impact and Future Directions. *J Nutr*, 150(4):663-671.
- ✓ **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.
- ✓ **Cohen, J. Enserink, M. (2008).** HIV, HPV Researchers Honored, But One Scientist Is Left Out. *Science*, 322(5899), 174-175.
- ✓ **Cressot, L. Galleri-Paris, C. Tronchon, M. Vonau, S. (2023).** RCC1, un nouveau partenaire stabilisant le génome du virus d'Epstein-Barr. *Med Sci (Paris)*, 39 : 392–394.
- ✓ **Damin DC, Caetano MB, Rosito MA, Schwartzmann G, Damin AS, Frazzon AP, et al. (2007).** Evidence for an association of human papillomavirus infection and colorectal cancer. *Eur J Surg Oncol*, 33(5):569-74.
- ✓ **Damin DC, Ziegelmann PK, Damin AP. (2013).** Human papillomavirus infection and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Colorectal Dis*, 15:420–428.
- ✓ **David, B. (2018).** Tabac, un facteur de risque de cancer colorectal. ddenis

- ✓ **De Villiers, E.M., Fauquet, C., Broker, T.R., Bernard, H.U. et zur Hausen, H. (2004).** Classification of papillomaviruses. *Minireview Virology* 324:17– 27.
- ✓ **Delpero E, Selk A. (2022).** Transition de la cytologie à la détection du VPH pour le dépistage du cancer du col de l'utérus au Canada. *CMAJ*, 194(28): 1012- 1014.
- ✓ **Denesvre, C. (2003).** Entrée du virus d'Epstein-Barr dans les cellules épithéliales oropharyngées. *Virologie*, 7(3), 219.
- ✓ **Denis T. Possamai S. J. Méreau A. (2018).** Principe des techniques de biologie moléculaire et génomique. 3ème édition, Quae, France. p. 47.
- ✓ **Diant, L.R. Sordes, F. Chaubard, T. (2018).** Impact psychologique de la stomie sur la qualité de vie des patients atteints d'un cancer colorectal : rôle de l'image du corps, l'estime de soi et l'anxiété Psychological impact of ostomy on the quality of life of colorectal cancer patients: Role of body image, self-esteem and anxiety. *Bulletin du Cancer*, 105(6): 573-580.
- ✓ **Doorbar, J. (2005).** The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology*, 32, 7–15.
- ✓ **Doorbar, J. (2006).** Molecular biology of human papillomavirus infection and cervical cancer. *Clinical science*, 110(5), 525-541.
- ✓ **Doorbar, J. Egawa, N., Griffin, H. Kranjec, C. Murakami, I. (2015).** Human papillomavirus molecular biology and disease association : Human papillomavirus. *Rev Med Virol.* 25: 2-23.
- ✓ **Douvier, S. Dalac, S. (2004).** Infections à papillomavirus Human papillomavirus. *EMC- Maladies Infectieuses*. 1(4): 235-261.
- ✓ **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.
- ✓ **Elodie, G. (2013).** Étude des couples Chimioquinas/Récepteurs comme nouvelles cibles thérapeutiques des cancers colorectaux métastasés : études précliniques. Intéraction Moléculaire et Cellulaire. Thèse de doctorat. Publié à la faculté de médecine de Nice, France.
- ✓ **FERLAY Duport, N. (2008).** Données épidémiologiques sur le cancer du col de l'utérus. Etat des Connaissances. Saint-Maurice: *Institut de Veille Sanitaire*, 30(8): 9-15.
- ✓ **Favre, M., Ramoz, N., & Orth, G. (1997).** Human papillomaviruses: general features. *Clinics in dermatology*, 15(2), 181-198.
- ✓ **Fearon, E.R. (2011).** Molecular genetics of colorectal cancer. *Annu Rev Pathol*, 6: 479–507.
- ✓ **Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, et al. (2019).** Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer*, 144(8):1941-53.

- ✓ **Fernandes Q. Gupta I. Vranic S. Al-Mostaffa AL. (2020).** Papillomavirus humains et interactions du virus d'Epstein-Barr dans le cancer colorectal : un bref examen. *Pathogens*, 9(4) :300.
- ✓ **Fiorina, L., Ricotti, M., Vanoli, A., Luinetti, O., Dallera, E., Riboni, R., et al. (2014).** Systematic analysis of human oncogenic viruses in colon cancer revealed EBV latency in lymphoid infiltrates. *Infect Agent Cancer*, 9:18
- ✓ **Fradet-Turcotte, A. (2011).** Identification du rôle et des modifications posttraductionnelles modulant l'export nucléaire de l'hélicase virale E1 au cours du cycle de réplication du virus du papillome humain. Thèse présentée à la Faculté médecine en vue de l'obtention du grade de doctorat en Biochimie. Université de Montréal.
- ✓ **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*, 11, 188.
- ✓ **Gil, L. A. (2007).** PCR-based methods for fish and fishery products authentication. *Trends in Food Science & Technology*, 18(11), 558-566.
- ✓ **Gilla, k.S. (2022).** HPV Vaccination: An Underused Strategy for the Prevention of Cancer. *Curr Oncol*. 29(5), 3780-3792.
- ✓ **Gornick M.C., Castellsague X., Sanchez G., Giordano T.J., Vinco M., Greenson J.K., Capella G., Raskin L., Rennert G., Gruber S.B., et al. (2010).** Human papillomavirus is not associated with colorectal cancer in a large international study. *Cancer Causes Control*, 21:737–743.
- ✓ **Graham, SV. (2017).** The human papillomavirus replication cycle, and its links to cancer progression: a comprehensive review. *Clinical science*, 131(17), 2201-2221.
- ✓ **Guillet, J. (2010).** Carcinomes épidermoïdes liés aux papillomavirus humains: transmission avec cancérogénèse des muqueuses orales et génitales, thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire, Université Henri Poincare Nancy I. 59-60.
- ✓ **Gupta, I. Al-Farsi, H. Jabeen, A. Skenderi, F. Al-Thawedi, H. Al-Ahmed, Y. Abdelhafez, I....Vranic, S. (2020).** High-Risk Human Papillomavirus and Epstein-Barr Virus in Colorectal Cancer and Their Association With Clinicopathological Status. *Pathogens*. 9(6): 452.
- ✓ **Gupta, I., Nasrallah, GK, Sharma, A. et al. (2020).** Co-prévalence des papillomavirus humains (HPV) et du virus d'Epstein-Barr (EBV) chez des donneurs de sang sains de diverses nationalités au Qatar. *Cancer Cell Int*, 20, 107 (2020).
- ✓ **Habak PJ, Kole M. (2022).** Vaginal Birth After Cesarean Delivery. *In: StatPearls..*

- ✓ **Habib, M.** The possible role of EBV in carcinogenesis of colorectal carcinoma. *J Fac Med Baghdad*, 52(1):172-4.
- ✓ **Hadinoto, V., Shapiro, M., Sun, S, et al. (2009).** The dynamics of EBV shedding implicate a central role for epithelial cells in amplifying viral output. *PLoS Patho*, 5.
- ✓ **Hampel, H. Frankel, W.L. Martin, E. Arnold, M. Khanduja, K. Kuebler, P. Clendenning, M. Sotamaa, K. Prior, T. Westman, J.A., et al. (2008).** Feasibility of screening for Lynch syndrome among patients with colorectal cancer. *J. Clin. Oncol.* 26: 5783–5788.
- ✓ **Hantz, S. (2021).** Papillomavirus humains: dépistage et prévention. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2021(530), 60-70.
- ✓ **Harley, J.B. Chen, X. Pujato, M. et al. (2018).** Transcription factors operate across disease loci, with EBNA2 implicated in autoimmunity. *Nat Genet*, 50, 699–707.
- ✓ **Hess RD. (2004).** Routine Epstein-Barr virus diagnosis from the laboratory perspective :still challenging after 35 years. *J. Clin. Microbiol.* 42, 3381-3387.
- ✓ **Hutt-Fletcher, LM. (2015).** EBV glycoproteins: where are we now? *Future Virol.* 10, 1155–1162.
- ✓ **Ibragimova, M. K. Tsyganov, M. M. & Litviakov, N. V. (2018).** Human papillomavirus and colorectal cancer. *Medical Oncology*, 35(11), 1-6.
- ✓ **Imad, F.Z. Drissi, H. Tawfiq, N. Bendahhou, K. Benider, A. Radallah, D. (2020).** Facteur de risque alimentaire du cancer colorectal au maroc : étude cas témoin. *The Pan African Medical journal*, 35 : 59.
- ✓ **Imai, S. Nishikawa, J. and Takada, K. (1998).** Cell-to-cell contact as an efficient mode of Epstein-Barr virus infection of diverse human epithelial cells. *J Viro*, 72, 4371-8.
- ✓ **Inserm, (2017).** Infection par le virus d'Epstein-Barr: un nouveau mode de transformation cancéreuse. *Par Inserm*.
- ✓ **Jarzynski A, Zając P, Zebrowski R, Boguszewska A, PolzDacewicz M. (2017).** Occurrence of BK virus and human papilloma virus in colorectal cancer. *Ann Agric Environ Med*, 24(3):440-5.
- ✓ **Jaspersen, K.W. Tuohy, T.M. Deborah, W. Neklason. Burt, R.W. (2010).** Cancer du côlon héréditaire et familiale. *Gastro-entérologie*, 138(06) : 2044-58.
- ✓ **Jaton, K., Greub, G. (2007).** PCR en microbiologie : de l'amplification de l'ADN à l'interprétation du résultat. *Revue Médicale Suisse*.
- ✓ **Jean Nesson, E. (2007).** Profils génétiques de lignées cellulaires humains modelés en physiopathologie et pharmacotoxicologie cardio-vasculaires. Thèse de doctorat publié, Université Henri Poincre-Nancy1,France.

- ✓ **Karoui, M. Tresallet, C. Brouquet, A. Radvanyi, H. & Penna, C. (2007).** Carcinogénèse colorectale: 1. Prédilections héréditaires et cancer colorectal. *Journal de Chirurgie*, 144(1), 13-18.
- ✓ **Karpinski, P., Myska, 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. *Tumour Biol*, 32(4):653-9.
- ✓ **Kaye, KM. (2021).** Mononucléose Infectieuse (Infection par le virus d'Epstein-Barr [EBV] ; Mononucléose). *Revue/Révision complète*.
- ✓ **Kloul, M., & Oussadou, K. (2022).** Etude rétrospective des infections HPV induites sur les frottis cervico-utérinschez les patientes orientées vers le laboratoire Anatomie-cytologie-pathologique du CHU de Tizi-Ouzou (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- ✓ **Kombe, A. J. K., Li, B., Zahid, A., Mengist, H. M., Bounda, G. A., Zhou, Y., & Jin, T. (2021).** Epidemiology and burden of human papillomavirus and related diseases, molecular pathogenesis, and vaccine evaluation. *Frontiers in Public Health*, 552(20), 8.
- ✓ **Larrat S. (2010).** Inhibition du cycle lytique du Virus Epstein-Barr par ARN interférence. Sciences du Vivant [q-bio]. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, Français.
- ✓ **Lee SE, Jo H.B. Kwack W.G. Jeong Y.J. Yoon Y.J. Kang H.W. (2016).** Characteristics of and risk factors for colorectal neoplasms inyoung adults in a screening population. *World J*
- ✓ **Lehman, C.W. et Botchan, M.R. (1998).** Segregation of viral plasmids depends on tethering to chromosomes and is regulated by phosphorylation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95: 4338-43.
- ✓ **Lepiller, Q. Puget, L. Debernardi, A. Prétet, JL. (2021)** .Infections à papillomavirus humains et lésions associées. *Journal de Pédiatrie et de Puériculture*, 34(3), 122-129.
- ✓ **Liu, F. Mou, X. Zhao N. Lin, J. Teng, L. Xiang, C. (2011).** Prevalence of human papillomavirus in Chinese patients with colorectal cancer. *Colorectal Dis*, 13(8); 865-71.
- ✓ **Liu, H.X. Ding, Y.Q. Li, X. Yao, K.T. (2003).** Investigation of Epstein-Barr virus in Chinese colorectal tumors. *World J Gastroenterol*, 9 : 2464–8.
- ✓ **Lorenzon, L. Ferri, M. Pillozzi, E. Torrisi, MR. Ziparo, V. French, D. (2011).** Human papillomavirus and colorectal cancer: evidences and pitfalls of published literature. *Int J Colorectal Dis*, 26:135–142.
- ✓ **Lupo, J. Thiebaut-Bertrand, A. Epaulard, O. Morand, P. & Germi, R. (2019).** Virus d'Epstein-Barr et syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2019(515), 26-35.

- ✓ **Maginnis MS, Atwood WJ. (2009).** JC virus: an oncogenic virus in animals and humans? *Semin Cancer Biol*, 19(4):261-9.
- ✓ **Mahmoudvand S. Safaei A. Erfani N. Sarvari J. (2015).** Presence of Human Papillomavirus DNA in Colorectal Cancer Tissues in Shiraz, Southwest Iran. *Asian Pac. J. Cancer Prev*, 16:7883–7887.
- ✓ **Malekpour Afshar R. Deldar Z., Mollaei H.R. Arabzadeh S.A. Iranpour M. (2018).** Evaluation of HPV DNA positivity in colorectal cancer patients in Kerman, Southeast Iran. *Asian Pac. J. Cancer Prev*, 19:193–198.
- ✓ **Malki M.I. Gupta I, Fernandes Q. Aboukassim T. Yasmeen A. Vranic S. Al Moustafa A.E., Al-Thawadi H.A. (2020).** Co-presence of Epstein-Barr virus and high-risk human papillomaviruses in Syrian colorectal cancer samples. *Hum. Vaccines Immunother*, 16:2403–2407.
- ✓ **Manceau, G.(2014).** Cancer du côlon: épidémiologie, Diagnostic EMC –Gastroentérologie, 9-068-A-10.
- ✓ **Manet E. Gruffat H. (2022).** Le Virus d’Epsteain-Barr : un acteur clé dans le développement de la sclérose en plaque. *Med Sci (Paris)*, 38, 422-424.
- ✓ **Marelle, L. Rea, D. Rapahael, M. (1993).** Le virus d’Epstein-Barr et les proliférations lymphoïdes. *Médecine/Science*, 9, 693-700.
- ✓ **Maréchal V. Quignon F. (2013).** Virus et cancers humains : des virus modèles aux nouvelles étiologiesVirus et cancers humains : des modèles aux nouvelles étiologies virales. *Revue Francophone des Laboratoires*. (456), 37-46.
- ✓ **Maréchal, V. Piolot, T. (2001).** Le virus epstein-barr : structure et cycle biologique. *Revue française des laboratoires*, 2001(337) : 25-31.
- ✓ **Marina, P. Jean, T. (2006).** Institut scientifique de santé publique.Cancer colorectal : état de connaissance et données disponibles pour le développement d’une politique de santé en Belgique (Rapport no RS-023). Bruxelles, Belgique : Centre de recherche opérationnelle en santé publique à Bruxelles.
- ✓ **Marongiu, L., Allgayer, H. (2021).** Viruses in colorectal cancer. *Molecular oncology*, 16(7), 1423-1450.
- ✓ **Martins S.F., Mariano V., Rodrigues M., Longatto-Filho A. (2020).** Human papillomavirus (HPV) 16 infection is not detected in rectal carcinoma. *Infect. Agents Cancer*, 15:17.
- ✓ **McBride, A. A. (2008).** Replication and partitioning of papillomavirus genomes. *Advances in Virus Research*, 72(8), 155-205.



- ✓ **Mehrabani-Khasraghi S., Ameli M., Khalily F. (2016).** Demonstration of Herpes Simplex Virus, Cytomegalovirus, and Epstein-Barr Virus in Colorectal Cancer. *Iran Biomed. J*, 20:302–306.
- ✓ **Mendy, M., Lawlor, R., van Kappel, A. L., Riegman, P., Betsou, F., & Cohen, O. (2013).** Échantillonnages biologiques et biobanques. Guide de la recherche sur le cancer en Afrique, 103.
- ✓ **Münger K, Howley PM. (2002).** Human papillomavirus immortalization and transformation functions. *Virus Res* , 89(2):213-28.
- ✓ **parkModis, Y., Trus, B.L. et Harrison, S.C. (2002).** Atomic model of the papillomavirus capsid. *EMBO J*, 21:4754–62.
- ✓ **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.
- ✓ **Molesworth SJ, Lake CM, Borza CM, Turk SM, Hutt-Fletcher LM. (2000).** Epstein-Barr virus gH is essential for penetration of B cells but also plays a role in attachment of virus to epithelial cells. *J Virol*, 74(14):6324-32.
- ✓ **Monsonogo, J. (2006).** Infections à papillomavirus. État des connaissances, pratiques et prévention vaccinale. *Éditions Springer*, Paris. P 195.
- ✓ **Monsonogo, J. (2006).** Prévention du cancer du col utérin : enjeux et perspectives de la vaccination antipapillomavirus. Cervical cancer prevention: the impact of HPV vaccination. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 34, 189-201.
- ✓ **Monsonogo, J. (2007).** Prévention du cancer du col (II) : vaccination prophylactique contre le VPH, connaissances actuelles, modalités pratiques et nouveaux enjeux. *Presse Médicale* (Paris, France : 1983), 36 (4 Pt 2), 640-666.
- ✓ **Moody, CA. Laimins, LA. (2010).** Human papillomavirus oncoproteins: pathways to transformation. *Nat Rev Cancer*, 10(8):550-60.
- ✓ **Mougin, C. Dalstein, V. (2004).** Épidémiologie, histoire naturelle et détection des infections à HPV. *Bio Tribune Magazine*, 9:16-18.
- ✓ **Mougin, C. Nicolier, M. & Decrion-Barthod, A. Z. (2008).** HPV et cancers: mécanismes de l'oncogenèse. *Revue Francophone des Laboratoires*, (405), 35-42.
- ✓ **Münz C. (2019).** Latency and lytic replication in Epstein-Barr virus-associated oncogenesis. *Nat Rev Microbiol*, 17(11):691-700.

- ✓ **Nagi K, Gupta I, Jurdi N, Yasmeen A, Vranic S, Batist G, Moustafa AA. (2021).** Copresence of High-Risk Human Papillomaviruses and Epstein-Barr Virus in Colorectal Cancer: A Tissue Microarray and Molecular Study from Lebanon. *Int J Mol Sci*, 22(15):8118.
- ✓ **Nemerow, G.R., Wolfert, R., McNaughton, M.E. and Cooper, N.R. (1985).** Identification and characterization of the Epstein-Barr virus receptor on human B lymphocytes and its relationship to the C3d complement receptor (CR2). *J Virol*, 55, 347-51.
- ✓ **Oleynicova, N.A. Danilova, N.V. Grimuta, M.O. Malkov, P.G. (2021).** Epstein–Barr Virus in the Development of Colorectal Cancer (Review). *Sovrem Tekhnologii Med.* 13(4): 82–91.
- ✓ **Olivieri, CV. (2019).** Inflammations orales et infection par le virus d’Epstein-Barr : vers un nouveau paradigme en pathogénèse orale. *Immunologie. HAL Open Science.*
- ✓ **Ouhoumane N, Steben M, Coullée F, Vuong T, Forest P, Rodier C, Louchini R, Duarte E, Brassard P.** Squamous anal cancer: patient characteristics and HPV type distribution. *Cancer Epidemiol*, 37(6):807-12.
- ✓ **Oyouni AAA. (2023).** Human papillomavirus in cancer: Infection, disease transmission, and progress in vaccines. *J Infect Public Health*, 16(4):626-631.
- ✓ **OMS. (2020).** Cancer. Organisation mondiale de santé. Genève, Suisse.
- ✓ **OMS. (2022).** Cancer du col de l’utérus. Organisation mondiale de santé. Genève, Suisse.
- ✓ **Park Y, Hunter DJ, Spiegelman D, Bergkvist L, Berrino F, van den Brandt PA, et al. (2005).** Dietary fiber intake and risk of colorectal cancer: a pooled analysis of prospective cohort studies. *JAMA*, 14; 294(22):2849-57.
- ✓ **Pegtel, M., Middeldorp, J., Thorley-lawson, A. (2004).** Epstein-Barr virus infection in ex vivo tonsil epithelial cell cultures of asymptomatic carriers. *J Virol*, 78, 12613-
- ✓ **Pérez L.O., Abba M.C., Laguens R.M., Golijow C.D. (2005).** Analysis of adenocarcinoma of the colon and rectum: Detection of human papillomavirus (HPV) DNA by polymerase chain reaction. *Colorectal Dis*, 7:492–495.
- ✓ **Ponz de Leon M, Di Gregorio C. (2001).** Pathology of colorectal cancer. *Dig Liver Dis*, 33(4):372-88.
- ✓ **Prétet JL, Charlot JF, Mougin C. (2007).** Virological and carcinogenic aspects of HPV. *Bulletin de L’academie Nationale de Medecine*, 191(3):611-23.
- ✓ **Pujals A. Gaulard P. Wiels J. (2013).** Propriétés oncogéniques du virus d’Epstein-Barr et pathologies malignes associées. *Virus et Cancers.*
- ✓ **Qi, X., Qian, Y. H., Bao, C. J., Guo, X. L., Cui, L. B., Tang, F. Y., ... & Wang, H. (2013).** Probable person to person transmission of novel avian influenza A (H7N9) virus in Eastern China, 2013: epidemiological investigation. *Bmj*, 347.

- ✓ **Queenie, F. Ishita, G. Semir, V. Ala-Eddin, A.M. (2020).** Human Papillomaviruses and Epstein-Bar Virus interaction in Colorectal Cancer : *A Brief Review. Pathogens*, 9(4): 300.
- ✓ **Ratouit, P. (2022).** Évolution des virémies EBV chez les patients présentant des lymphomes malins. *Sciences du Vivant. q-bio*.
- ✓ **Rawla, P. Sunkara, T. Barsouk, A. (2019).** Epidemiology of colorectal cancer: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Prz Gastroenterol*, 14(2); 89-103.
- ✓ **Rebibo, JD. (2019).** Comment je prescris un traitement pour condylomes génitaux (infection à papillomavirus humain). *Progrés en Urologie-FMC*, 29(2): 51-53.
- ✓ **Reinson, T., Henno, L., Toots, M., Ustav Jr, M., & Ustav, M. (2015).** The cell cycle timing of human papillomavirus DNA replication. *PLoS One*, 10(7).
- ✓ **Sabouret, M. Aichouch, F. Linon, C. Milones, S. Challier, J. Chkair, S. Maillon, R. (2020).** Questions-Réponses sur l'infection à papillomavirus humains (HPV), cause de cancer du col de l'utérus, et le dépistage. HAS
- ✓ **Sagna, M., Tani. (2012).** Caractérisation moléculaire du VIH et du papillomavirus humain chez les femmes en âge de procréer infectées et diagnostic précoce par PCR du VIH chez leur enfants au centre médical Saint Camille et au CERBA – Ouagadougou.
- ✓ **Salem, I. (2010).** Étude de l'infection lytique du Virus Epstein-Barr dans le développement de tumeurs post-greffe. *Microbiologie et Immunologie*. Thèse de doctorat. Publié à Université de Montréal.
- ✓ **Salepci T, Yazici H, Dane F, Topuz E, Dalay N, Onat H, Aykan F, Seker M, Aydiner A. (2009).** Detection of human papillomavirus DNA by polymerase chain reaction and southern blot hybridization in colorectal cancer patients. *JBUON*, 14(3):495-9.
- ✓ **Salepci T. Yazici H. Dane F. Topuz E. Dalay N. Onat H. Aykan F. Seker M. Aydiner A. (2009).** Detection of human papillomavirus DNA by polymerase chain reaction and southern blot hybridization in colorectal cancer patients. *Off. J. Balk. Union Oncol*, 14:495–499.
- ✓ **Sall, FB. (2021).** Rôle des virus EBV et VIH dans la formation de la translocation chromosomique t (8;14) du Lymphome de Burkitt. *Biochimie, Biologie Moléculaire. HAL Open Science*.
- ✓ **Salyakina, D. Tsinoremas, N F. (2013).** Viral expression associated with gastrointestinal adenocarcinomas in TCGA high-throughput sequencing data. *Hum. Genom*, 7; 23.
- ✓ **Sarvari J, Mahmoudvand S, Pirbonyeh N, Safaei A, Hosseini SY. (2018).** The very low frequency of Epstein-Barr JC and BK viruses DNA in colorectal cancer tissues in Shiraz, southwest Iran. *Pol J Microbiol*, 67(1):73-9.

- ✓ **Schlienger, J.L. Luca, F. Vinzio, S. Pradignac, A. (2009).** Obesity and cancer. *La revue de médecine interne*, 30(09), 776-782.
- ✓ **Segondy, M. (2008).** Classification des papillomavirus (HPV). *Revue francophone des laboratoires*, 2008(405), 23-25.
- ✓ **Senicourt L. (2016).** Études des protéines membranaires TSPO, Thèse de doctorant université Pierre et Marie Curie, 86-134.
- ✓ **Shannon-Lowe C, Adland E, Bell AI, Delecluse HJ, Rickinson AB, 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(15):7749-60.
- ✓ **Sigma-Aldrich. (2015).** GenElute FFPE DNA purification kit.ferlay
- ✓ **Sole, C, V. Calvo, F, A. Ferrer, C. Alvarez, E. Carreras, J, L. Ochoa, E. (2015).** Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infection impact on (18)F-FDG PET/CT SUVmax, CT volumetric and KRAS-based parameters of patients with locally advanced rectal cancer treated with neoadjuvant therapy. *Eur. J. Nucl. Med. Mol. Imaging*, 42; 186–196.
- ✓ **Sotisse, OP. (1994).** Epstein-Barr Virus (EBV) ou le virus d'Epstein-Barr Aspects immunologiques. Microbiologie et d'hygiène. Publié, à Université Libre de Bruxelles.
- ✓ **Sueur, C. (2011).** Identification et caractérisation des partenaires cellulaires de zebra, facteur de transcription du virus Epstein-Barr : mise en évidence d'un complexe tripartite entre la protéine virale zebra et les protéines cellulaires ubinucléine et 14-3-3epsilon. Sciences pharmaceutiques.
- ✓ **Sung, H. Ferlay, J. Rebecca, L. Siegel, MPH. Laversanne, M. Soerjomataram, I. et al. (2021).** Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA : A Cancer Journal for Clinicians*, 71(6) : 209-249.
- ✓ **Szydowski, 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*, 21: 822-824.
- ✓ **Szymonowicz, K. A. Chen, J. (2020).** Biological and clinical aspects of HPV-related cancers. *Cancer Biol Med*, 17(4), 864-878.
- ✓ **Tafvizi, F. Fard, Z, T. Assareh, R. (2015).** Epstein–Barr virus DNA in colorectal carcinoma in Iranian patients. *Pol J Pathol*, 66(2):154–160.

- ✓ **Taherian, H. Tafvizi, F. Fard, ZT. Abdirad, A. (2014).** Absence d'association entre l'infection à papillomavirus humain et le cancer colorectal. *Gastroenterology Review*. 9(5):280–284.
- ✓ **Than-Sothéa O. (2008).** Rôle de la protéine LMP1 dans la balance survie/apoptose des cellules infectées par le virus d'Epstein-Barr. *Physiologie Moléculaire de la Réponse Immune et des Lymphoproliférations*.
- ✓ **Tommasino, M. (2014).** The human papillomavirus family and its role in carcinogenesis. *In Seminars in Cancer Biology*, 26, 13-21.
- ✓ **Tran N, Rose BR, O'Brien CJ. (2007).** Role of human papillomavirus in the etiology of head and neck cancer. *Head Neck*, 29(1):64-70.
- ✓ **Tsang CM, Tsao SW. (2015).** Le rôle de l'infection par le virus d'Epstein-Barr dans la pathogenèse du carcinome du nasopharynx. *Virole. Péché*, 30 : 107–121.
- ✓ **Van Doorslaer, K. (2013).** Evolution of the papillomaviridae. *Virology*, 445(1-2), 11-20.
- ✓ **Verena, S. Christoph, E. Reinhard, B. Hans, K.S. Wolf, H.S. Peter, P. (2013).** Hereditary nonpolyposis colorectal cancer (HNPCC)/Lynch syndrome. *Dtsch Arztebl*, 110(3):32-8.
- ✓ **Villada B. (2013).** Vaccination anti-papillomavirus humain : réalité et perspectives. *Revue générale : cancérologie*.
- ✓ **Voirin, MA. (2018).** L'oncogénicité virale : le virus Epstein-Barr, un virus modèle. Science pharmaceutique. *HAL Open Science*.
- ✓ **Voisin, J. (2021).** Les atteintes neurologiques liées au virus d'Epstein-Barr : synthèse des données clinico-biologiques de la littérature ; intérêt des PCR EBV et de l'index de sécrétion intrathécale des anticorps anti-EBV dans le liquide céphalo-rachidien. Sciences pharmaceutiques. Thèse de doctorat publié, Université Grenoble Alpes, France.
- ✓ **Yang L, Aozasa K, Oshimi K. Takada K. (2004).** Epstein-Barr Virus (EBV)-Encoded RNA Promotes Growth of EBV-Infected T Cells Through Interleukin-9 Induction. *Cancer Res*. 64, 5332-5337.
- ✓ **Yang, D. Shi, Y. Tang, Y. Yin, H. Guo, Y. Wen, S...(2019).** Effect of HPV Infection on the Occurrence and Development of Laryngeal Cancer: A Review. *J Cancer*. 10(19), 4455–4462.
- ✓ **Yavuzer D. Karadayi N. Salepci T. Baloglu H. Dabak R., Bayramicli O.U. (2011).** Investigation of human papillomavirus DNA in colorectal carcinomas and adenomas. *Med. Oncol*, 28:127–132.
- ✓ **Yim EK, Park JS. (2005).** The role of HPV E6 and E7 oncoproteins in HPV-associated cervical carcinogenesis. *Cancer Res Treat*, 37(6):319-24.

- ✓ **Youcef, Z. E. M. M. A. L. (2021).** Etude des facteurs de risque de cancer de la prostate (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébéssi Tébéssa).
- ✓ **Young, L. Rickinson, A. (2004).** Epstein-Barr virus: 40 years on. *Nat Rev Cancer*. 4(10): 757-68.
- ✓ **Zheng, Z. M. & Baker, C. C. (2006).** Papillomavirus genome structure, expression, and posttranscriptional regulation. *Frontiers in Bioscience: A Journal and Virtual Library*, 11, 2286.
- ✓ **Zito Marino, F. Sabetta, R. Pagliuca, F. Brunelli, M. Aquino, G. Perdonà, S. (2021).** Correction : divergence entre l'expression immunohistochimique de p16 et l'ARN du VPH dans le cancer du pénis. Une étude d'approche multiplex in situ hybridation/immunohistochimie. *Agents infectieux et cancer*, 16,22.
- ✓ **Zong, YS. Sham, JS. Ng, MH. Ou, XT. Guo, YQ. Zheng, SA. Liang, JS. Qiu, H. (1992).** Immunoglobulin A against viral capsid antigen of Epstein-Barr virus and indirect mirror examination of the nasopharynx in the detection of asymptomatic nasopharyngeal carcinoma. *Cancer*, 69(1):3-7.
- ✓ **Zumkeller, N. Brenner, H. Zwahlen, M. & Rothenbacher, D. (2006).** Helicobacter pylori infection and colorectal cancer risk: a meta-analysis. *Helicobacter*, 11(2), 75-80.
- ✓ **ZurHausan, H. (2002).** Papillomaviruses and cancer: from basic studies to clinical application. *Nat Rev Cancer*, 2(5), 42-50.