

Université de Montréal

**Charge virale des papillomavirus et transmission entre
partenaires**

Par
Emilie Comète

Département de microbiologie et immunologie
Faculté de médecine

Mémoire présenté à la faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de maîtrise (M.sc.)
en microbiologie et immunologie

Août 2013

© Emilie Comète, 2013

Université de Montréal

Ce mémoire intitulé :

**Charge virale des papillomavirus et transmission entre
partenaires**

Présenté par :

Emilie Comète

A été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Daniel Kaufmann, président-rapporteur

Dr François Coutlée, directeur de recherche

Dre Lise Anne St-Jean, membre du jury

Résumé

L'histoire naturelle et la progression des infections au VPH (virus du papillome humain) sont bien décrites. Cependant, la dynamique de transmission reste faiblement documentée. Une meilleure compréhension de la dynamique de transmission ainsi que de ses facteurs de risque permettrait d'optimiser les stratégies de prévention afin de réduire la prévalence de ces infections dans la population par la vaccination et les méthodes contraceptives. Notre étude vise à déterminer si la charge virale des infections au VPH influence leur transmission entre les partenaires sexuels. Pour ce faire, l'association entre la charge virale au niveau des organes génitaux et la concordance spécifique de type des infections prévalentes au VPH a été évaluée pour 250 couples hétérosexuels récemment formés. Les charges virales de VPH16 ($r = 0.30$), de VPH18 ($r = 0.50$) et de VPH51 ($r = 0.19$) étaient significativement corrélées ($p < 0.05$) entre les deux partenaires sexuels, contrairement à celles de VPH31 ($r = 0.08$) et de VPH42 ($r = -0.1$). Lorsqu'ajusté en fonction de l'âge des participants, une charge virale élevée augmentait significativement le taux de détection du même type chez le partenaire pour les types 16, 31 et 51. Ainsi, dans les couples hétérosexuels récemment formés, des charges virales élevées sont associées à une détection accrue du même type chez le partenaire sexuel.

Mots clés : VPH, couple, transmission, hétérosexuel, charge virale

Abstract

The natural history and progression of genital HPV infection are well understood. However, less is known about transmission dynamics of HPV between sexual partners. A better knowledge of risk factors and dynamics of HPV transmission is needed to optimize prevention strategies through vaccination and contraceptive measures. Our study aims to determine if the viral load of HPV infection affects transmission between sexual partners. The association between human papillomavirus (HPV) loads in genital swabs and type-specific concordance of prevalent HPV infection was assessed in 250 heterosexual recently-formed couples to further characterize HPV transmission. Viral loads of HPV16 ($r=0.30$), HPV18 ($r=0.50$) and HPV51 ($r=0.19$) were significantly correlated ($p<0.05$) between partners in opposite to HPV31 ($r=0.08$) and HPV42 ($r=-0.10$). A higher HPV load increased significantly the rate of detection of HPV16, 31 and 51 in sexual partners (age-adjusted odds ratios from 1.64 to 7.71). In recently-formed heterosexual couples, higher HPV16, 31 or 51 load was associated with increased detection of the same HPV type in sexual partners.

Keys Words: HPV, couple, transmission, heterosexual, viral load

Table des matières

RÉSUMÉ	iii
ABSTRACT	iv
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES FIGURES.....	ix
Revue de littérature	ix
Article scientifique.....	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	x
Article scientifique.....	x
LISTE DES ABRÉVIATIONS	xi
Remerciements.....	xiii
Dédicace.....	xiv
REVUE DE LITTÉRATURE	1
Introduction	2
1. Évolution et classification des papillomavirus	4
2. Biologie moléculaire des VPH	10
2.1. Organisation génomique et structure des VPH.....	10
2.2. Fonctions des différentes sections du génome des VPH.....	11
2.2.1. La région régulatrice : le LCR.....	11
2.2.2. Les protéines virales	12
2.2.2.1. La protéine E1	12
2.2.2.2. La protéine E2	13
2.2.2.3. La protéine E4	15
2.2.2.4. La protéine E5	16
2.2.2.5. La protéine E6	17
2.2.2.6. La protéine E7	19
2.2.2.7. La protéine E8	20
2.2.2.8. La protéine L1.....	21

2.2.2.9. La protéine L2.....	21
2.3. Cycle de réplication	23
2.3.1. Le col de l'utérus et la zone de transformation	23
2.3.2. La dépendance de la différenciation cellulaire pour la réplication des VPH	26
2.3.3. Étapes du cycle de réplication des VPH anogénitaux	27
2.3.3.1. Attachement et entrée du VPH.....	27
2.3.3.2. Maintenance de l'infection et infection productive.....	29
2.3.3.3. Amplification du génome	30
2.3.3.4. Expression des gènes viraux.....	31
2.3.3.5. Assemblage des virions et relâchement dans l'environnement	33
2.4. Oncogénèse des VPH anogénitaux.....	34
2.4.1. Mécanismes d'oncogénèse.....	35
2.4.2. Facteurs influençant la progression des infections génitales au VPH	37
2.4.2.1. Persistance de l'infection.....	37
2.4.2.2. Charge virale de l'infection	37
2.4.2.3. Intégration du génome viral	38
2.4.2.4. Types et variantes	39
2.4.2.5. Co-infection avec d'autres types de VPH.....	39
2.4.2.6. Nombre de grossesses.....	40
2.4.2.7. Utilisation de contraceptifs oraux.....	41
2.4.2.8. Système immunitaire de l'hôte	41
2.4.2.9. Présence d'infections transmises sexuellement autre que les VPH	42
2.4.2.9.1. <i>Chlamydia trachomatis</i>	42
2.4.2.9.2. Virus herpès de type II	42
2.4.2.9.3. Virus de l'immunodéficience humaine.....	42
3. Maladies causées par les papillomavirus	43
3.1. Verrues cutanées	43
3.2. Papillomatose respiratoire récurrente	44
3.3. Conjonctivites à papillomavirus.....	45
3.4. Epidermodysplasia verruciformis	45
3.5. Verrues génitales.....	45

3.6. Cancers.....	46
4. Réponse immunitaire à l'infection au VPH	47
4.1. Réponse innée	47
4.2. Immunité adaptative, réponse à médiation cellulaire	49
4.3. Immunité adaptative, réponse humorale.....	49
5. Vaccination contre le VPH.....	50
6. Prévalence des infections génitales au papillomavirus dans la population...	52
7. Transmission des papillomavirus.....	54
7.1. Modes de transmission des papillomavirus.....	54
7.1.1. Transmission sexuelle.....	54
7.1.2. Transmission mère-enfant.....	55
7.1.3. Autres modes de transmission	56
7.2. Facteurs influençant la transmission des infections génitales au VPH.....	56
7.2.1. Facteurs comportementaux et génétiques influençant l'exposition au virus.....	57
7.2.1.1. L'acquisition de nouveaux partenaires sexuels, le nombre de partenaires sexuels et les caractéristiques des partenaires sexuels	57
7.2.1.2. Relations concurrentes et relations monogames rapprochées	57
7.2.1.3. Utilisation du condom	58
7.2.1.4. Âge lors du début de l'activité sexuelle et intervalle entre les premières relations sexuelles et les premières menstruations	60
7.2.1.5. Circoncision	60
7.2.1.6. Nombre de grossesses.....	61
7.2.1.7. Contraceptifs oraux.....	62
7.2.1.8. Tabagisme, consommation d'alcool et de drogues	62
7.2.1.9. Présence d'infections transmises sexuellement autre que les VPH	63
7.2.1.9.1. <i>Chlamydia trachomatis</i>	63
7.2.1.9.2. Virus herpès de type II	64
7.2.1.9.3. Vaginose bactérienne.....	64
7.2.1.9.4. Virus de l'immunodéficience humaine.....	65
7.2.2. Facteurs viraux influençant la transmission des VPH.....	65
7.2.2.1. Types et variantes	65

7.2.2.2. Co-infection et infections subséquentes par plusieurs types de VPH	66
7.2.2.3. Charge virale de l'infection	67
PROJET DE RECHERCHE	68
Déclaration de l'étudiante	69
Hypothèses et objectifs	70
Article	71
Discussion	99
Conclusion	108
Bibliographie	109

Liste des figures

Revue de littérature

Figure 1 : Classification de la famille des *Papillomaviridae*6

Source : Modifié de Bernard, H.-U., Burk, R.D., Chen, Z., van Doorslaer, K., zur Hausen, H., de Villiers, E.-M. (2010). Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 401, 70-79.

Figure 2 : Classification du genre α -papillomavirus9

Source : Modifié de Burk, R.D., Chen, Z., van Doorslaer, K. (2009). Human Papillomaviruses: Genetic Basis of Carcinogenicity. *Public Health Genomics* 12, 281-290.

Figure 3 : Organisation du génome du VPH1611

Source : Modifié de Katijani, N., Satsuka, A., Kawate, A., Sakai, H. (2012). Productive lifecycle of human papillomavirus that depends upon squamous epithelial differentiation. *Frontiers in microbiology* 3, 152-163.

Figure 4 : Schéma de la zone de transformation à la naissance, à l'adolescence et à l'âge adulte25

Source : Modifié de Kumar, V., Robbins, S.L., Cotran, R.S. (2005) *Basic pathology*, 7^{ème} édition.

Figure 5 : Le cycle de réplication des VPH est étroitement lié à la différenciation de l'épithélium qu'ils infectent27

Source : Modifié de Doorbar, J. (2005). The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology* 32S, S7-S15.

Article scientifique

Online Figure 1: Genital HPV load by gender, visit and HPV type91

Online Figure 2: Correlation of HPV viral loads measured at visit 1 and 2 93

Liste des tableaux

Article scientifique

Table 1: Type-specific HPV viral load and HPV status of sexual partners in recently-formed heterosexual couples at enrollment88

Table 2: HPV viral load predicting the partners HPV positivity for five genital HPV types in 250 heterosexual couple.....90

Online Table 1: Primer sequences and cycling parameters for the type-specific real-time PCR assays95

Liste des abréviations

ADN: Acide désoxyribonucléique
ARN: Acide ribonucléique
ARNm : ARN messenger
ATP : Adénosine tri-phosphate
BPV1 : Bovine papillomavirus type 1
brd4 : bromodomain-containing protein 4
CD₄/CD₈ : Cluster of differentiation _{4/8}
CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité
CPA : cellule présentatrice d'antigène
CT : *Chlamydia trachomatis*
CTL : Lymphocytes T cytotoxiques
Daxx : Death domain-associated protein 6
DBD : DNA binding domain
E6AP : E6 associated protein
EV : Epidermodysplasia verruciformis
Hitch : HPV Infection and Transmission among Couples through Heterosexual activity
HLA : Human leucocyte antigen
HR-VPH: VPH à haut risque oncogénique
Hsc70: Heat shock cognate protein 70
HSV-II: Herpès simplex virus type II
hTert : Human telomerase reverse transcriptase
ICTV: International Committee on the Taxonomy of Viruses
IFN : Interféron
ITS: Infection transmise sexuellement
Kb: Kilobase (1000 pb)
KIR : Killer-cell immunoglobulin-like receptor
LA-HPV : Linear array-HPV
LCR: Long control region
LR-VPH: VPH à bas risque oncogénique
LMP2: Large multifunctional peptidase 2
MADO: Maladie à déclaration obligatoire
ND10 : Nuclear domain 10
NK: Natural killer
nm: Nanomètre
OR : Origine de répllication
ORF : Open reading frame
Pap : Papanicolaou

pb: Paire de base
PCR: Polymerase chain reaction
PDZ: Post synaptic density protein, Drosophila disc tumor suppressor, Zonula occludens-1 protein
pRb : protéine du rétinoblastome
PV: Papillomavirus
qPCR : PCR quantitatif
RPA : Replication protein A
SIL : Squamous intraepithelial lesions
Sp1/3/100 : Specificity protein 1/3/100
SV40: virus simien 40
TAP1: Transporteur associated with antigen processing 1
Th1/Th2 : Lymphocytes T helper 1 / 2
TMC6/8 : Transmembrane channel-like 6/8
TNF- α : Tumor necrosis factor α
VIH: Virus de l'immunodéficience humaine
VLP: Virus-like particle
VPH: Virus du papillome humain

Remerciements

Premièrement, je tiens à remercier mon directeur de recherche, Dr François Coutlée. Vous m'avez donné une belle opportunité d'effectuer ma maîtrise dans votre laboratoire. J'ai grandement apprécié votre disponibilité et votre enthousiasme envers mon projet. Vos conseils et vos explications m'ont beaucoup aidé dans la réalisation de ce projet.

Un énorme merci à mes parents, Sylvie et Jean, pour votre soutien tout au long de mes études. Vos encouragements et votre confiance m'ont permis de persévérer dans les moments plus difficiles. J'ai apprécié votre intérêt et votre participation à chacune des étapes de cette aventure. Je remercie également mon frère et ma belle-sœur, Simon et Julie, qui ont montré un grand intérêt envers mon cheminement. Je remercie aussi mes grand-mamans, Thérèse et Yolande, ainsi que toute ma famille pour vos encouragements.

Je voudrais également remercier mes collègues, Pierre Forest, Véronique Legault et Julie Guenoun, qui m'ont enseigné de nouvelles techniques de laboratoire et qui m'ont soutenu durant la réalisation de cette maîtrise.

Merci à mes collègues et amies, Aurélie Formentin, Julie Guenoun et Josiane Chagnon-Choquet. J'ai passé des très beaux moments avec vous et merci pour la belle touche de folie que vous avez apportée dans ma vie.

Finalement, une belle pensée pour Isabelle Hardy et Simon Gagnon qui m'ont grandement encouragés à débiter ma maîtrise. Merci également pour vos conseils et votre soutien tout au long du processus.

Dédicace

Je dédie ce mémoire à mes deux rayons de soleil, Sarah-Maudé et Roxane, en vous souhaitant de tout cœur de trouver un domaine d'étude qui vous enthousiasmera.

REVUE DE LITTÉRATURE

Introduction

Les virus du papillome humain (VPH) à haut-risque oncogénique (HR-VPH) sont responsables du développement de virtuellement 100% des cancers du col de l'utérus (Sellors et al., 2003). Les HR-VPH sont également en partie responsables d'autres cancers des organes génitaux et du système oropharyngé (Trottier and Franco, 2006a). Le cancer du col utérin est le deuxième cancer le plus prévalent chez les femmes après le cancer du sein (Parkin and Bray, 2006). Environ 85% des décès dus au cancer du col de l'utérus se produisent dans les pays en voie de développement, majoritairement en Afrique sub-saharienne, puisque la disponibilité des tests de dépistage dans cette région est très limitée (Bravo et al., 2010). En 2009, au Canada, 1 300 femmes ont reçu un diagnostic de cancer du col de l'utérus, et parmi elles, 390 en sont décédées (Tricco et al., 2011). Environ 70% des cancers du col de l'utérus sont attribuables aux génotypes 16 et 18 (Veldhuijzen et al., 2010a).

L'infection par les VPH est l'ITS (infection transmise sexuellement) la plus fréquente, autant chez les hommes que chez les femmes (Widdice et al., 2010). Les infections au VPH sont retrouvées chez 30 à 60% de la population sexuellement active (Tindle, 2002). Certains types à bas-risque, majoritairement VPH6 et VPH11, causent des verrues génitales (Burchell et al., 2010a). Le système immunitaire permet l'éradication des infections par les VPH et permet la résolution de la grande majorité des infections sur une période d'environ un an (Handisurya et al., 2009). Cependant, dans une minorité des cas, les lésions causées par les HR-VPH peuvent progresser en cancer (Tindle, 2002).

Les VPH se transmettent principalement lors d'activités sexuelles (Veldhuijzen et al., 2010a). Environ 70% de la population sexuellement active est infectée par un ou plusieurs types de VPH durant leur vie sexuelle (Institut national de santé publique du Québec, 2012). Les VPH sont transmis efficacement entre les partenaires sexuels (Schiffman et al., 2007). La concordance spécifique de type des infections au VPH entre les partenaires sexuels est plus élevée que celle attendue par chance, selon la prévalence des différents types dans la population (Burchell et al., 2010a). Plusieurs facteurs comportementaux peuvent influencer la dynamique de transmission des VPH (Veldhuijzen et al., 2010a). Parmi les facteurs de transmission, l'exposition à un nouveau partenaire sexuel augmente grandement l'incidence des infections au VPH (Burchell et al., 2006d).

Notre étude vise à déterminer l'influence de la charge virale des VPH sur la transmission des infections entre partenaires sexuels. Précédemment, une augmentation de la fréquence de transmission entre partenaires a été observée en présence d'une haute charge virale (Bleeker et al., 2005c). Cependant, cette étude portait sur la transmission des VPH dans les couples où les femmes présentaient des lésions au niveau du col de l'utérus (Bleeker et al., 2005c). Dans la cohorte Hitch (HPV Infection and Transmission among Couples through Heterosexual activity),

utilisée lors de notre étude, les femmes n'ont aucun historique de lésion ou de cancer au niveau du col de l'utérus. De plus, les femmes de l'étude précédente étaient âgées en moyenne de 35 ans (Bleeker et al., 2002). Dans la cohorte Hitch, les femmes sont âgées de 18 à 24 ans. L'incidence et la prévalence des infections au VPH sont plus élevées chez les femmes de cette tranche d'âge que chez les femmes de plus de 30 ans (Tricco et al., 2011).

La première section de cette revue de littérature aborde l'évolution et la classification des VPH. Ensuite, la biologie moléculaire des VPH est discutée afin de survoler leur cycle de réplication ainsi que leurs mécanismes d'oncogénèse. Par la suite, les différentes pathologies causées par les VPH ainsi que la réponse immunitaire et la vaccination sont élaborées. Pour finir, les modes de transmission ainsi que les principaux facteurs de transmission des VPH sont détaillés.

1. Évolution et classification des Papillomavirus

Il a été proposé par Ignacio G. Bravo et ses collègues que le premier représentant des amniotes était déjà infecté par un type primitif de PV (papillomavirus) (Bravo et al., 2010). Les amniotes regroupent les vertébrés tétrapodes dont l'embryon se développe en milieu aqueux isolé par le sac amniotique (Miller A. Stephen and Harley P. John, 2005). Ce groupe s'est diversifié pour mener aux mammifères mais également aux oiseaux et aux reptiles (Miller A. Stephen and Harley P. John, 2005). Des infections à PV ont été retrouvées chez des oiseaux, des tortues ainsi que chez de nombreuses espèces de mammifères (Doorbar, 2005). Ils ont également suggéré que l'ancêtre commun des mammifères était déjà l'hôte de nombreux types de PV (Bravo et al., 2010). Les PV sont présents depuis l'origine des humains et ont co-évolué avec l'espèce humaine. Cependant, le génome des VPH est très stable et sa vitesse d'évolution est très lente; il semble évoluer à la même vitesse que le génome humain (Bernard, 2005). Les VPH sont présents dans toutes les populations humaines bien que la distribution des types et leur prévalence ne soit pas uniforme (Burchell et al., 2006d).

Les PV ont d'abord été classifiés avec les polyomavirus et le virus simien vacuolant (SV40) dans la famille des *Papovaviridae*. Ce rassemblement découlait des caractéristiques physiologiques communes de ces virus. Tous ces virus ont une capsidie icosahédrale non-enveloppée, un génome d'ADN (acide désoxyribonucléique) double brin circulaire et la réplication virale s'effectuant dans le noyau de la cellule infectée. Ensuite, au cours des années 80, des études ont démontré de nombreuses différences au niveau génomique entre ces deux genres de la famille des *Papovaviridae*. La taille du génome des polyomavirus (~5 Kb (Kilobase)) est d'environ 3 Kb inférieure à celle des papillomavirus (~8 Kb) (Lancaster and Olson, 1982). L'organisation génomique très différente des deux groupes ainsi que l'absence de similarité majeure entre leurs génomes expliquent la division subséquente en deux familles (Bernard, 2005). Cependant, le gène E1 des PV présente une homologie de séquence avec l'antigène Grand T des polyomavirus, ce qui suggère que ces deux familles pourraient dériver d'un ancêtre commun (Bernard et al., 2010). Ce n'est qu'en 2002, dans le 7^{ème} rapport de l'ICTV (International committee on the taxonomy of viruses), que la famille distincte des PV, les *Papillomaviridae*, a été créée (Bernard et al., 2010).

Les humains peuvent être infectés par plus de 150 types de PV (Kovanda et al., 2011). Cependant, le nombre de génotype probable de VPH serait estimé à plus de 200 par analyse de séquence d'amplicons de VPH (Bernard, 2005). Les PV étaient reconnus comme étant hautement spécifiques à l'espèce mais des études plus récentes semblent suggérer que cette barrière inter-espèce soit perméable (Mengual-Chulia et al., 2012). Des homologies de séquences ont été observées entre des lésions provenant de chats domestiques et des types de

PV infectant les humains (VPH9, -38, -76 et -80 du genre β -VPH) (Anis et al., 2010). De plus, la présence d'ADN de PV ayant 98% d'homologie avec le VPH9 a été retrouvée dans un papillome cutané félin (Munday et al., 2007).

Les arbres phylogénétiques sont construits par des algorithmes basés soit sur les séquences du génome total ou encore sur des séquences d'une portion du génome. Puisque le gène L1, codant pour la protéine majeure de la capsid, est la région la plus conservée dans le génome des PV, cette région est utilisée pour classifier les isolats viraux (Burk et al., 2009). Suite à la création de la famille des *Papillomaviridae*, la classification des PV a dû être révisée et l'article d'Ethel-Michele De Villiers et ses collègues résume les nouvelles règles de nomenclature de cette famille (de Villiers et al., 2004). La figure 1 présente la classification actuelle de la famille des *Papillomaviridae* (Bernard et al., 2010)

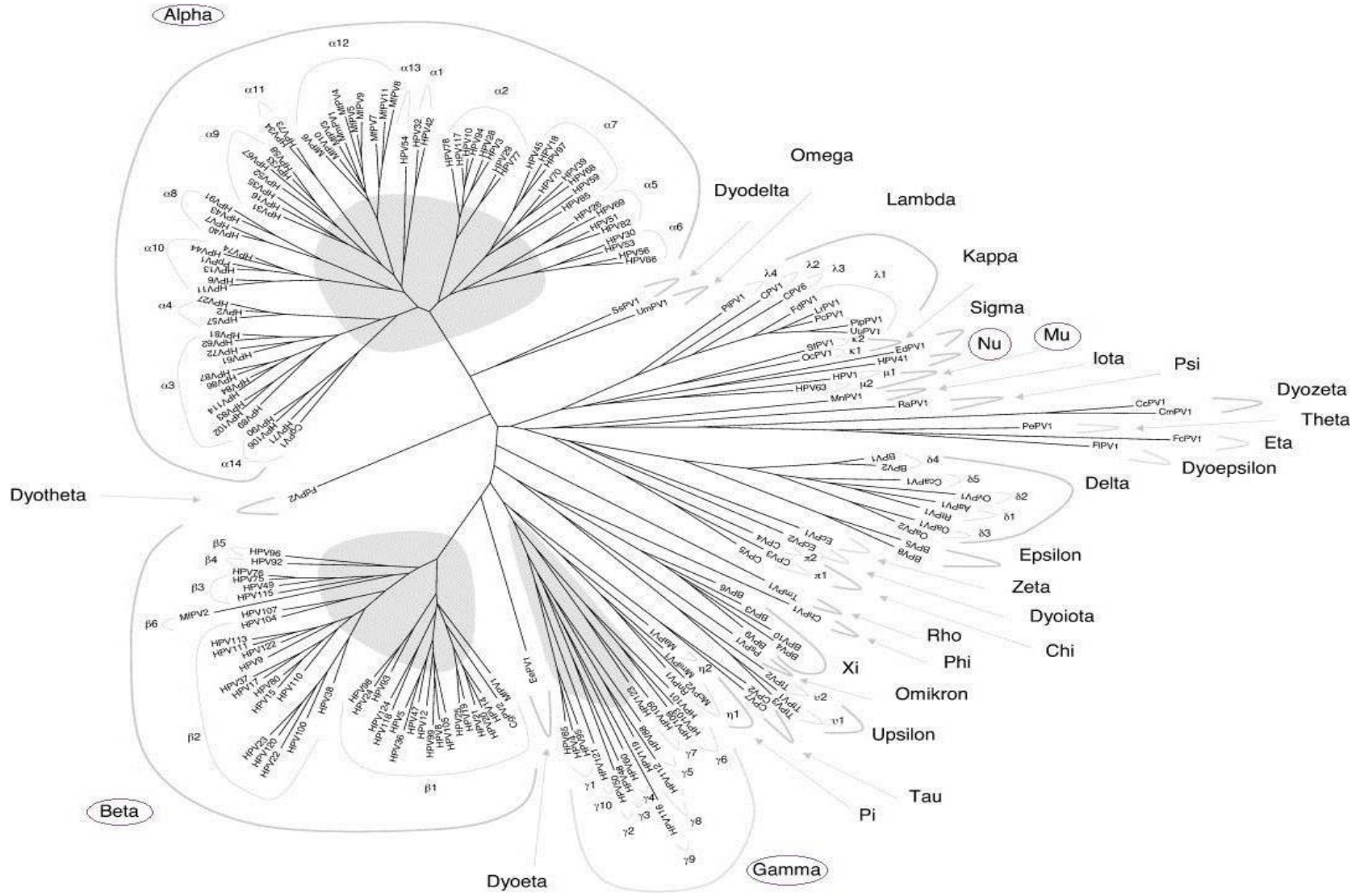


Figure 1 : Classification de la famille des *Papillomaviridae*. Les papillomavirus humains sont regroupés dans cinq genres : alpha-, beta-, gamma-, mu- et nu-VPH (les genres sont encerclés). Le genre alpha-papillomavirus est le plus étudié en raison des HR-VPH qu'il contient et de leur association avec le cancer du col de l'utérus.

Modifié de Bernard, H.-U., Burk, R.D., Chen, Z., van Doorslaer, K., zur Hausen, H., de Villiers, E.-M. (2010). Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 401, 70-79.

Les genres sont représentés par les branches majeures sur l'arbre phylogénétique et sont désignés par des lettres grecques. Pour déterminer un genre, la région L1 doit présenter un maximum de 60% de similitude avec les autres genres. Ils sont ensuite divisés en espèces, qui regroupent des types apparentés. Les espèces sont désignées par des chiffres arabes à la suite du genre (Bernard et al., 2010). Par exemple, le genre des *alphapapillomaviridea* est divisé en 14 espèces nommées α -1 à α -14. L'espèce est aussi représentée soit par le nom du type le plus significatif cliniquement, soit par le type le plus étudié, ou soit parce qu'il est le seul type composant l'espèce (de Villiers et al., 2004). Ainsi, l'espèce α -9 est aussi appelée l'espèce VPH16. Un isolat est considéré comme un nouveau type si la séquence de l'ADN de la région L1 est différente d'au moins 10% des séquences des autres types les plus similaires. De plus, un type peut également être divisé en sous-types et en variantes. Un sous-type signifie qu'il y a une différence d'homologie de 2% à 10 % au niveau de la région L1 avec les types connus similaires, tandis que pour la variante, cette différence est de moins de 2%. Cependant, lorsque des régions plus variables du génome sont analysées, comme la région du LCR (Long Control Region), les divergences de séquences peuvent atteindre jusqu'à 5% pour les variantes (Bernard et al., 2006). La détermination des variantes se fait par comparaison avec le prototype sous forme de changement de nucléotides, d'insertions ou de délétions (Bernard et al., 2006).

L'origine des VPH semble remonter à l'Afrique, au moment de la divergence des humains avec les autres primates (Ong et al., 1993). Dans le cas de VPH18, ce ne sont pas les mêmes variantes qui sont retrouvées selon les continents et une plus grande diversité de variantes est observée en Afrique (Ong et al., 1993). Les différentes variantes peuvent présenter certaines caractéristiques particulières qui les rendent plus ou moins pathogènes ou cancérogènes (Villa et al., 2000). Par exemple, l'infection persistante par les variantes non-européennes de VPH16 augmente le risque de près de neuf fois de cancer du col de l'utérus que l'infection par les variantes européennes (Hildesheim and Wang, 2002).

Les 150 types de VPH sont regroupés en 5 genres : alpha-, beta-, gamma-, mu- et nu-VPH (Kovanda et al., 2011). Les VPH présentent une spécificité de tropisme pour différents tissus. Les types infectant les muqueuses, dont la muqueuse anogénitale, sont regroupés dans le genre α -VPH (Burk et al., 2009). Bien que des types du genre α -VPH aient un tropisme cutané, ce sont majoritairement les autres genres qui infectent la peau, dont particulièrement le genre β -

VPH (de Villiers et al., 2004). Les types de VPH anogénitaux peuvent également être classés selon leur potentiels oncogéniques, soit à bas-risque (LR-VPH) ou à haut-risque (HR-VPH). Tandis que les infections par les types LR-VPH occasionnent uniquement des lésions bénignes ou non-apparentes, les types HR-VPH peuvent causer un cancer, dont le cancer du col de l'utérus qui est le plus fréquent (Burk et al., 2009). La figure 2 présente la classification des α -papillomavirus obtenue par l'équipe de Robert D. Burk. Tous les HR-VPH sont classifiés dans cinq espèces : α -5, α -6, α -7, α -9 et α -11. Les espèces α -9 et α -7 sont les plus représentées et contiennent respectivement les types VPH16 et VPH18, responsables de 70% des cancers du col de l'utérus (Burk et al., 2009). Certains types à tropisme cutané des genres β -VPH et nu-VPH peuvent être impliqués dans certains cas de cancer de la peau (de Villiers et al., 2004). Cependant, la relation de causalité entre la présence de ces types de VPH et le développement du cancer de la peau n'est pas encore aussi fermement établie que pour les HR-VPH anogénitaux.

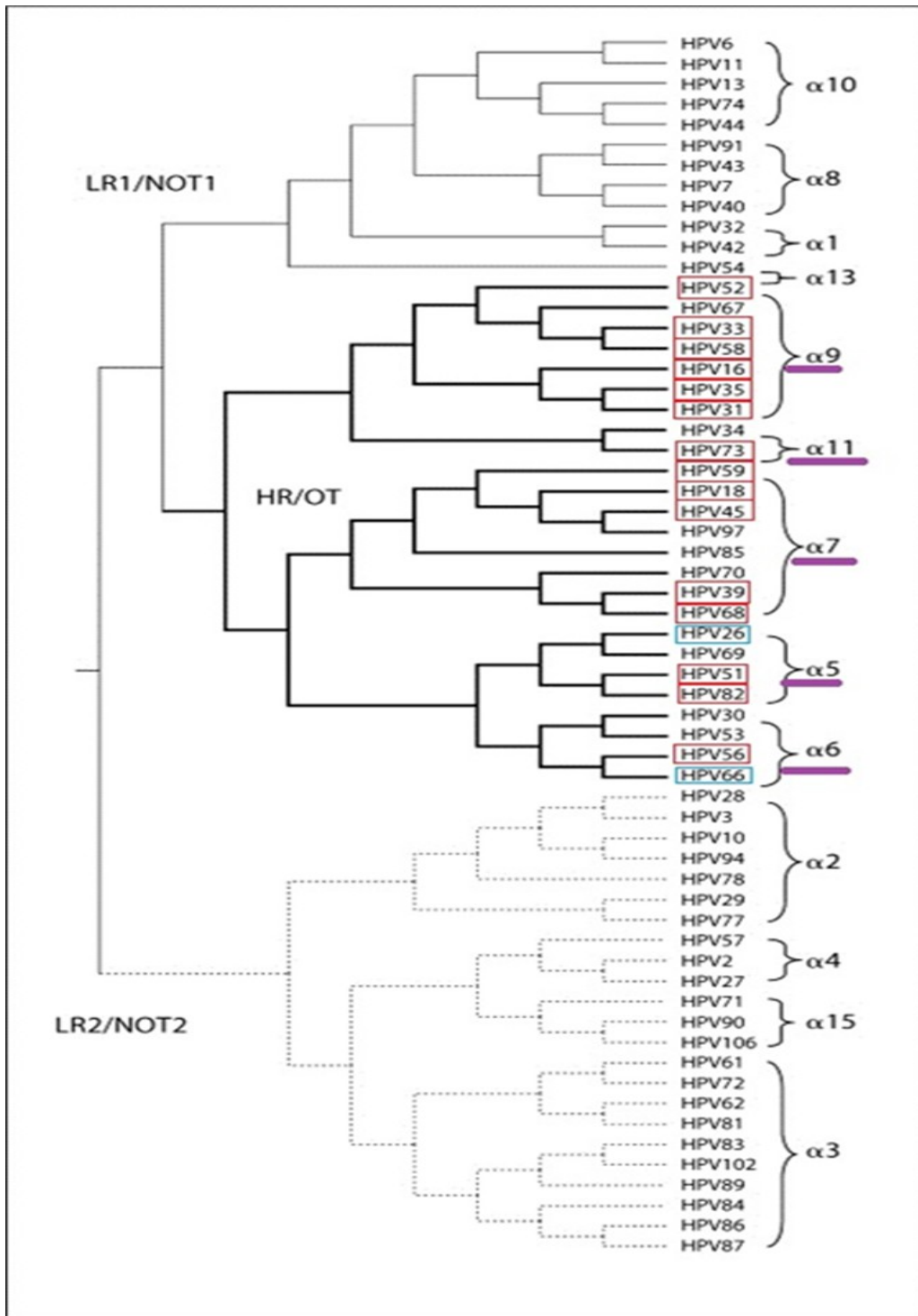


Figure 2 : Classification du genre α -papillomavirus. Classification obtenue grâce à l'alignement de séquence de six cadres de lectures (E6, E7, E1, E2, L2 et L1). Les α -papillomavirus sont nommés HR-VPH et LR-VPH selon leur potentiel oncogénique. Les HR-VPH (encadrés en rouge) appartiennent à cinq espèces différentes (soulignées en violet).
Modifié de Burk, R.D., Chen, Z., van Doorslaer, K. (2009). Human Papillomaviruses: Genetic Basis of Carcinogenicity. Public Health Genomics 12, 281-290.

2. Biologie moléculaire des VPH

2.1. Organisation génomique et structure des VPH

Le génome des VPH est une molécule d'ADN bicaténaire circulaire d'environ 8 Kb (Munoz et al., 2006). L'ADN viral est associé à des histones cellulaires et forme des complexes ressemblant à de la chromatine (Conway and Meyers, 2009). Le génome peut être divisé en trois régions, soit les régions précoce, tardive et régulatrice (Longworth and Laimins, 2004a). Le génome contient en moyenne huit ORF (open reading frame) (Longworth and Laimins, 2004a). La région précoce contient les gènes fonctionnels du virus qui sont impliqués dans la réplication du génome et dans la régulation de l'expression des protéines virales (Conway and Meyers, 2009). Certaines protéines de la région précoce ont des fonctions de transformation des cellules-hôtes (Handisurya et al., 2009). La région tardive code pour les gènes structuraux qui constituent la capsid virale (Kajitani et al., 2012). Aucun gène n'est contenu dans la région régulatrice, le LCR (McBride, 2008). Cette région est cependant essentielle à la régulation des processus de transcription et de réplication de l'ADN (Wooldridge and Laimins, 2008). Seul un brin de l'ADN viral code pour les protéines virales (Handisurya et al., 2009).

La particule virale des VPH a un diamètre d'environ 50 à 60 nm (nanomètre) (Xu et al., 2006). Les VPH sont des virus non-enveloppés, ce qui les rend très résistant à la dessiccation ainsi qu'aux savons et aux solvants organiques (Roden et al., 1997). Ils possèdent une capsid icosaédrale (Darshan et al., 2004). Cette capsid contient 360 protéines L1, la protéine majeure de la capsid virale, dont les 72 capsomères sont assemblés en pentamères (Modis et al., 2002). La capsid virale contient également une protéine mineure, L2 (Darshan et al., 2004). Il est proposé que les virions contiennent douze molécules de L2, soit un ratio de 30:1 (360:12) avec les 360 protéines L1 composant la capsid virale (Bossis et al., 2005). Cependant, des capsomères de L1 recombinant ont la capacité de se fixer à des molécules de L2 dans un ratio de 5 :1, ce qui suggère qu'il pourrait y avoir jusqu'à 72 molécules de L2 par virions (Buck et al., 2008). La capsid est solidifiée par de nombreux ponts disulfures entre les molécules L1 formant les pentamères (Buck et al., 2005).

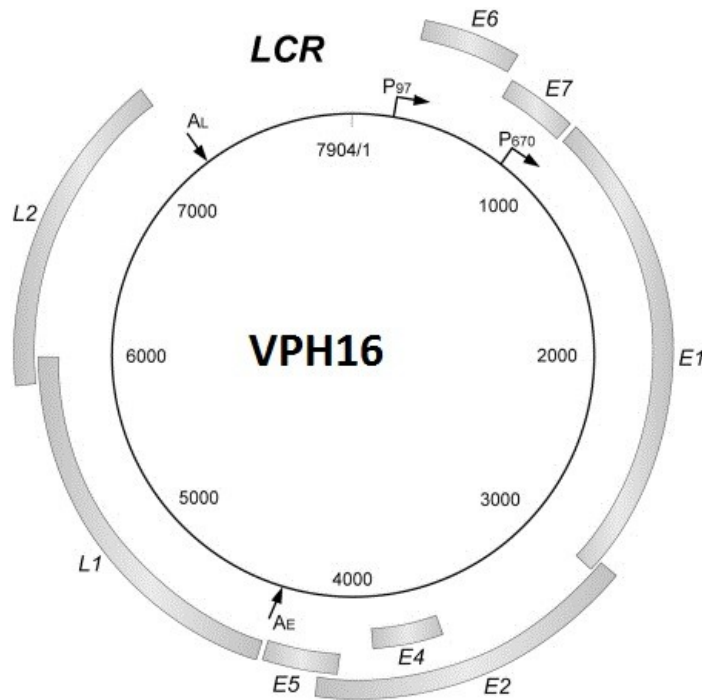


Figure 3 : Organisation du génome du VPH16. Les VPH présentent tous la même organisation générale de leur génome, un ADN double brin circulaire d'une taille d'environ 8kb, contenant 8 ORF. La région LCR représente la région régulatrice des VPH. Les protéines précédées d'un E représentent les protéines de la phase précoce, tandis que les protéines précédées d'un L sont les protéines structurales de la phase tardive. P97 et P670 représente les promoteurs précoces et tardifs, respectivement, tandis que les régions AE et AL représentent les sites de polyadénylation des ARNm précoces et tardifs, respectivement. Modifié de Katijani, N., Satsuka, A., Kawate, A., Sakai, H. (2012). Productive lifecycle of human papillomavirus that depends upon squamous epithelial differentiation. *Frontiers in microbiology* 3, 152-163.

2.2. Fonctions des différentes sections du génome des VPH :

2.2.1. La région régulatrice : le LCR

Le LCR est une région qui est variable parmi les différents types de VPH (Villa et al., 2000). Cette région a une taille approximative de 850 pb (paire de base), ce qui représente environ 10% du génome viral (Zheng and Baker, 2006). Le LCR ne code pour aucune protéine mais il contient de nombreux éléments de régulation de l'expression des gènes viraux (Bernard, 2002). Au niveau du LCR se situe l'origine de la réplication virale ainsi que des promoteurs et des

activateurs de la transcription des gènes viraux (McBride, 2008). Le LCR contient également de nombreux sites de liaison à des facteurs de transcription cellulaire, certains étant communs à tous les types de VPH tandis que d'autres sont uniques à des types particuliers (Longworth and Laimins, 2004a).

2.2.2. Les protéines virales :

La région précoce des VPH représente environ 50% de la taille du génome (Zheng and Baker, 2006). Elle code pour sept protéines fonctionnelles qui sont nécessaires pour la réplication de l'ADN viral ainsi que pour l'immortalisation et la transformation des cellules-hôtes (Tungteakkhun and Duerksen-Hughes, 2008). La région tardive code pour les deux protéines de structure qui forment la capsid virale (Tungteakkhun and Duerksen-Hughes, 2008). Les fonctions principales de chacune des protéines seront décrites dans cette section avant d'établir la chronologie du cycle de réplication des VPH.

2.2.2.1. La protéine E1

Le cadre de lecture du gène précoce E1 est le plus conservé chez les PV, démontrant ainsi les fonctions essentielles de ce gène pour leur cycle de réplication (Longworth and Laimins, 2004a). La séquence du gène E1 présente une grande similarité avec l'antigène grand T de SV40, suggérant un ancêtre commun (Bernard et al., 2010). Cette ressemblance a permis de guider les recherches des fonctions de la protéine E1 en analysant l'initiation de la réplication du génome viral (Wilson et al., 2002). Les fonctions essentielles à la réplication du génome se retrouvent au niveau de la partie C-terminale de la protéine E1 (Wilson et al., 2002). Cependant, en présence de la région N-terminale, l'efficacité de la protéine E1 pour la réplication virale est augmentée (Sun et al., 1998).

L'extrémité C-terminale de la protéine E1 a la capacité de se fixer à l'OR (origine de réplication) virale (Mendoza et al., 1995). Pour BPV1 (bovine papillomavirus type 1), seule la protéine E1 en haute concentration est nécessaire *in vitro* pour initier la réplication de l'ADN viral (Lusky et al., 1994). Bien que, la protéine E1 ne présente qu'une faible affinité pour l'OR (Mendoza et al., 1995), la fixation de la protéine E2 à proximité de l'OR permet le recrutement de la protéine E1 pour former un complexe E1-E2-OR, ce qui compense pour la faible affinité d'E1 (Amin et al., 2000). Le site de liaison de la protéine E1 pour la protéine E2 se situe également l'extrémité C-terminale de E1 (Yasugi et al., 1997).

La protéine précoce E1 se lie à l'ADN sous forme d'un dimère (Schuck and Stenlund, 2005). La fixation de la protéine E1 à l'OR va provoquer un relâchement de la condensation de

l'ADN (McBride, 2008). Dans les virions, l'ADN viral contient des histones H1 qui peuvent être reconnus par la protéine E1 (Swindle and Engler, 1998). La protéine E1 peut déloger les histones afin de relâcher la condensation du génome (Swindle and Engler, 1998). Par la suite, les protéines E1 vont se réarranger pour former une structure en double trimères qui va permettre l'ouverture de l'ADN viral (Schuck and Stenlund, 2005). L'ouverture des brins d'ADN par la protéine E1 nécessite l'utilisation d'ATP (adénosine triphosphate) cellulaire (McBride, 2008). Les protéines E1 vont ensuite s'auto-assembler en double hexamère autour d'un des brins de l'ADN viral au site de l'OR (Liu et al., 1998). L'activité hélicase de la protéine E1 va permettre l'accès aux protéines cellulaires qui sont nécessaires pour initier la réplication virale (Liu et al., 1998).

Le recrutement de la machinerie cellulaire de réplication se fait par la protéine E1 (McBride, 2008). La réplication de l'ADN viral nécessite la présence de la protéine de réplication A (RPA) qui se fixe à l'ADN simple brin (Loo and Melendy, 2004). La topoisomérase I va permettre le relâchement de la torsion de l'ADN en aval de la fourche de réplication (Clower et al., 2006). La protéine E1 permet aussi le recrutement du complexe de la polymérase α primase à l'origine de réplication virale (Amin et al., 2000).

Tandis que les protéines E1 et E2 sont nécessaires pour initier la réplication, seule la protéine E1 est essentielle pour le processus d'élongation de l'ADN (Liu et al., 1998). Après la fixation de E1 à l'origine de réplication, la protéine E2 est relâchée pour permettre la formation du double hexamère (McBride, 2008). De plus, puisque la protéine E1 est essentielle à l'initiation de la réplication virale, sa présence est nécessaire pour maintenir le génome viral sous forme d'épisome (Doorbar, 2005). En cas de mutation dans E1 qui altère la fonction de la protéine, l'intégration du génome viral dans les chromosomes de l'hôte représente la solution pour le maintien à long terme de l'infection (Wilson et al., 2002).

La protéine E1 présente plusieurs fonctions essentielles à la réplication de l'ADN viral, soit la reconnaissance de l'OR, le relâchement de la condensation de l'ADN viral, l'ouverture de l'ADN et le recrutement de la machinerie cellulaire de réplication.

2.2.2.2. La protéine E2

La protéine précoce E2 présente de nombreuses fonctions (Doorbar, 2005). Elle intervient dans les processus d'initiation de la réplication, de contrôle de l'expression des gènes viraux ainsi que dans la ségrégation des génomes viraux au cours de la division cellulaire. Cette protéine est très conservée parmi les différents types de VPH (Piccini et al., 1997).

La protéine E2 est essentielle *in vivo* pour initier la réplication de l'ADN viral (McBride, 2008). Le LCR du génome des VPH contient quatre sites de liaison pour la protéine E2, parmi lesquels trois de ces sites sont regroupés autour du site de liaison de E1 à l'OR (Kajitani et al.,

2012). La fixation de E2 à ces sites provoque le recrutement de la protéine E1 à l'OR, ce qui permet ensuite la fixation des facteurs cellulaires nécessaires à la réplication du génome (Longworth and Laimins, 2004a).

La protéine E2 est importante pour le contrôle de l'expression des protéines virales précoces E6 et E7 (Conway and Meyers, 2009). Les quatre sites de liaison pour E2 dans le LCR présentent des affinités différentes pour E2 (Kajitani et al., 2012). Cette différence d'affinité entre les sites de liaison de E2 à l'ADN viral permet la régulation de la transcription des ARN messagers (ARNm) précoces (Steger and Corbach, 1997). Lorsque la protéine E2 est présente en faible quantité, elle agit en activant la transcription des gènes précoces par sa fixation au niveau des sites de haute affinité du LCR (Steger and Corbach, 1997). Cependant, lorsque les niveaux d'E2 sont élevés, les sites de liaison d'E2 au niveau du LCR sont saturés, incluant les sites de basse affinité (Steger and Corbach, 1997). Ces sites de basse affinité sont superposés à des sites de liaison de facteurs de transcription, ce qui réduit la transcription des gènes précoces (Demeret et al., 1997).

La protéine E2 est également impliquée dans le processus de ségrégation des génomes viraux (Kajitani et al., 2012). Pour assurer la distribution des génomes dans les deux cellules-filles, le virus fixe les copies nouvellement synthétisées du génome viral aux différents chromosomes de la cellule-hôte lors de la mitose (Kajitani et al., 2012). La région DBD (DNA binding domain) de la protéine E2 se lie au génome viral à l'un des quatre sites de liaison situés dans la région LCR (McBride et al., 2006). La protéine brd4 (bromodomain-containing protein 4) est normalement fixée aux histones H3 et H4 des chromosomes (McBride et al., 2006). La fixation de E2 à brd4 assure que, lors de la séparation des chromosomes le long des fuseaux mitotiques, les génomes viraux soient directement entraînés dans les noyaux des deux cellules-filles avant la formation des nouvelles membranes nucléaires (McBride et al., 2006). Les protéines E2 des types 11, 16, 31 et 57 se lient à brd4 avec une faible affinité (McPhillips et al., 2006). Cependant, ces protéines E2 ont également la capacité de se fixer aux chromosomes pour la ségrégation en absence de la protéine brd4 (McPhillips et al., 2006).

La protéine E2 peut également bloquer le cycle cellulaire à la phase G2, ce qui empêche les cellules d'entrer dans la phase M de la mitose (Fournier et al., 1999). Cet arrêt permet de prolonger la période de réplication d'ADN afin de générer de nombreuses copies du génome viral (Davy et al., 2002). En plus de provoquer l'arrêt du cycle cellulaire, la protéine E2 des HR-VPH possède une activité pro-apoptotique (Blachon and Demeret, 2003). Le déclenchement de l'apoptose se fait par l'activation de la caspase 8 par des dimères de la protéine E2, qui sont ensuite clivés par cette caspase (Demeret et al., 2003). La protéine E2 s'accumule lors de la phase tardive de l'infection et permet la libération des nouveaux virions par apoptose (Blachon and Demeret, 2003). De plus, le site de clivage de E2 par la caspase 8 est conservé parmi les HR-VPH, mais les LR-VPH ne présente pas cette caractéristique (Blachon and Demeret, 2003).

La protéine E2 a ainsi plusieurs fonctions importantes dans le cycle de réplication des VPH, soit l'initiation de la réplication du génome viral, l'activation ou la répression de la transcription des gènes viraux, la ségrégation des génomes viraux dans les cellules-filles, l'arrêt du cycle cellulaire en G2 et le relâchement des virions dans l'environnement.

2.2.2.3. La protéine E4

La région E4 du génome viral est variable entre les différents types de VPH (Chow et al., 2010). La protéine E4 provient d'un épissage alternatif qui va fusionner la partie N-terminale de la protéine E1 et le cadre de lecture d'E4 (Longworth and Laimins, 2004a). La protéine E4 est retrouvée sous la forme d'un dimère ainsi que sous la forme d'hexamère (Wang et al., 2004). Elle est présente lors des phases précoce et tardive de l'infection au VPH (Kajitani et al., 2012). Cependant, l'expression maximale de la protéine E4 est détectée dans les couches supérieures de l'épithélium, là où la réplication virale est la plus active (Middleton et al., 2003). Cette protéine s'accumule au niveau du cytoplasme et elle peut représenter jusqu'à 30% des protéines de la cellule infectée (Doorbar et al., 1991).

Les kératines cellulaires sont des protéines de structure qui permettent à la cellule d'organiser son cytoplasme et de résister aux stress extérieurs (Wang et al., 2004). La région N-terminale de E4 est responsable de la réorganisation des filaments de kératine dans le cytoplasme de la cellule infectée (Wang et al., 2004). La liaison entre E4 et les filaments de kératine bloque la dynamique de ces derniers et entraîne une réorganisation des filaments qui vont s'accumuler de façon stable près du noyau (Wang et al., 2004). La réorganisation du réseau de kératine aide à la sortie des virions des cellules de la couche apicale de l'épithélium en affaiblissant l'enveloppe cellulaire (Doorbar et al., 1991).

La protéine E4 est également utilisée, en collaboration avec la protéine E2 pour contrôler le cycle cellulaire (Davy et al., 2002). C'est la protéine précoce E7 qui stimule le cycle cellulaire lors de la phase précoce de l'infection (Doorbar, 2005). Cependant, lorsque la protéine E4 est présente en haute concentration au moment de la phase tardive, elle bloque le cycle cellulaire en G2, ce qui inhibe la mitose (Davy et al., 2002). Cette propriété de la protéine E4 permet de contrebalancer la capacité de la protéine E7 à stimuler la mitose (Longworth and Laimins, 2004a). La phase S stimulée par la protéine E7 ne conduit pas à la mitose mais est plutôt bloquée après la réplication des chromosomes-hôtes (Davy et al., 2002). L'entrée en phase G2 va permettre l'amplification de l'ADN viral sans provoquer de réplication supplémentaire du génome de l'hôte, la réplication du VPH ne dépendant pas de la réplication de l'ADN cellulaire pour initier sa propre réplication (Davy et al., 2002).

En résumé, la production de la protéine E4 lors de la phase tardive de l'infection au VPH permet l'affaiblissement des membranes cellulaires pour permettre la sortie des virions ainsi que l'arrêt du cycle cellulaire en G2 qui permet l'amplification optimale de l'ADN viral.

2.2.2.4. La protéine E5

La protéine E5 des VPH est exprimée majoritairement au cours de la phase tardive de l'infection (Longworth and Laimins, 2004a). La protéine E5 est hydrophobe et elle est retrouvée au niveau des membranes des endosomes et de l'appareil de Golgi, et dans les membranes cellulaires (Ashrafi et al., 2005). La protéine E5 de BPV1 possède des propriétés pour la transformation cellulaire (Longworth and Laimins, 2004a). Cependant, la protéine E5 des VPH est faiblement oncogénique et agit précocement, avant les protéines oncogéniques E6 et E7, afin d'établir l'infection et d'initier le processus de transformation (Ashrafi et al., 2005). Aussi, la présence de la protéine E5 des HR-VPH module les activités virales de la phase tardive, dont la réplication de l'ADN viral et la transcription des gènes tardifs (Fehrmann et al., 2003).

Au niveau de la membrane basale, la protéine E5 agit afin de stimuler la prolifération cellulaire, ce qui augmente la quantité de cellules infectées qui maintiennent l'infection (McBride, 2008). La protéine E5 augmente l'expression à la surface cellulaire des récepteurs des facteurs de croissance (McBride, 2008). En plus de stimuler leur expression, la protéine E5 augmente le recyclage de ces récepteurs aux facteurs de croissance (DiMaio and Mattoon, 2001). La protéine E5 se lie à une sous-unité des ATPases vacuolaires des endosomes et empêche ainsi leur acidification (DiMaio and Mattoon, 2001). Sans l'acidification des endosomes, les récepteurs des facteurs de croissance ne sont pas dégradés, ce qui augmente leur recyclage (DiMaio and Mattoon, 2001). À ce stade, les protéines E5 et E7 agissent en synergie pour la stimulation du cycle cellulaire (Bouvard et al., 1994).

Lors du processus normal de différenciation, les cellules quittent le cycle de réplication et les taux de cyclines cellulaires diminuent (Fehrmann et al., 2003). Cependant, cette diminution des cyclines réduit la capacité des VPH à se répliquer et à exprimer les gènes de la phase tardive (Fehrmann et al., 2003). Lorsque les cellules sont infectées par le VPH, la diminution des taux de cyclines se déroule plus lentement que dans les cellules saines en processus de différenciation (Fehrmann et al., 2003).

La protéine E5 des VPH agit également sur le système immunitaire en diminuant la quantité de molécules du CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe I à la surface des cellules épithéliales (Venuti et al., 2011). Cette diminution aide les VPH à s'évader de la réponse immunitaire de l'hôte, en évitant la présentation des épitopes viraux, ce qui diminue la réponse immunitaire par les lymphocytes T cytotoxiques (Ashrafi et al., 2005). Différentes

stratégies sont utilisées selon les types de VPH afin d'obtenir une réduction des CMH de classe I en surface (Ashrafi et al., 2006). Pour VPH16, la protéine E5 maintient les complexes assemblés de CMH de classe I au niveau de l'appareil de Golgi (Ashrafi et al., 2005). Cependant, pour VPH83, c'est la protéine E5 qui agit plutôt en bloquant l'assemblage du complexe de CMH de classe I (Ashrafi et al., 2006).

Les kératinocytes n'expriment normalement pas de molécules de CMH de classe II à leur surface (Zhang et al., 2003). Cependant, en cas d'infection, ces cellules peuvent exprimer les molécules de classe II du CMH afin de se comporter en cellules présentatrices d'antigènes (Mota et al., 1999). La protéine E5, en empêchant l'acidification des endosomes, bloque l'assemblage des molécules de CMH de classe II, ce qui prévient la présentation des antigènes et permet l'évasion du système immunitaire (Zhang et al., 2003).

La protéine E5 permet ainsi d'augmenter la prolifération cellulaire dans la couche basale pour augmenter le nombre de cellules infectées et de faciliter l'évasion du système immunitaire en inhibant la présence des molécules de CMH à la surface cellulaire.

2.2.2.5. La protéine E6

Les protéines E6 et E7 sont les deux oncoprotéines principales des VPH (Doorbar, 2005). La région centrale de la protéine E6 contient deux doigts de zinc et elle est très conservée parmi les différents types de VPH (Thomas et al., 1999b). Cette région de E6 est essentielle pour assurer l'efficacité de la protéine car elle perd son efficacité avec la perte des doigts de zinc (Mantovani and Banks, 2001). Les activités de la protéine E6 nécessitent sa présence autant dans le cytoplasme qu'au noyau de la cellule infectée (Longworth and Laimins, 2004a).

Lors de la différenciation normale des cellules épithéliales, la réplication cesse et la cellule arrête d'exprimer les éléments nécessaires au cycle de réplication cellulaire (Longworth and Laimins, 2004a). Cependant, lors de l'infection au VPH, le virus a besoin de cette machinerie afin de répliquer son génome dans les couches supérieures de l'épithélium (Longworth and Laimins, 2004a). Cependant, l'activation du cycle cellulaire lors de la différenciation de l'épithélium produite par la protéine virale E7 est perçue comme une menace et sans la présence de la protéine E6 pour dégrader p53, les cellules infectées entreraient en apoptose (McBride, 2008). La protéine cellulaire p53 est connue pour être suppressive de tumeurs (Muller et al., 2006). Cette protéine permet la transactivation de la transcription de nombreux gènes contenant des éléments de réponse au p53 (Thomas et al., 1999b). La protéine p53 permet l'expression de gènes impliqués dans l'arrêt de croissance cellulaire, l'apoptose, la réparation des dommages à l'ADN et la réponse à différents stress cellulaires (Muller et al., 2006). Ainsi, pour de nombreux virus, il est vital de bloquer l'action de p53 afin de se répliquer (Mantovani and Banks, 2001).

La protéine E6 des HR-VPH empêche principalement l'arrêt de croissance et l'apoptose, par sa capacité de liaison avec la protéine cellulaire p53 (Doorbar, 2005). Dans les cellules infectées par le VPH, le taux cellulaire de p53 est plus faible bien que le taux d'ARNm de p53 reste élevé (Thomas et al., 1999b). La fixation de la protéine E6 de VPH16 et de VPH18 au p53 mène à la dégradation de ce dernier par le complexe du protéasome, ce qui permet à la cellule infectée de demeurer en phase S (McBride, 2008). La protéine E6 doit se lier à une protéine cellulaire, E6-AP (E6-associated protein), pour se fixer à p53, ce qui entraîne son ubiquitination (Thomas et al., 1999b). L'absence de la protéine cellulaire p53 cause la perte des points de contrôle du cycle cellulaire pour les transitions de la phase G1 à la phase S ainsi que de la phase G2 à la phase M (Filatov et al., 1998). Cette caractéristique de la protéine E6 n'est pas retrouvée avec les LR-VPH (Filatov et al., 1998).

La protéine E6 des LR-VPH et des HR-VPH peut se fixer à la protéine p53 sans provoquer sa dégradation (Thomas et al., 1999b). Cette liaison a pour conséquence d'empêcher p53 de se fixer aux promoteurs cellulaires ciblés par encombrement des sites de liaison à l'ADN (Thomas et al., 1999b). L'inactivation de p53 bloque en outre l'expression de la protéine p21, qui est un inhibiteur des cyclines et mène à l'arrêt du cycle cellulaire (Longworth and Laimins, 2004a). De plus, la protéine E6 des HR-VPH permet la dégradation de nombreuses protéines impliquées dans la signalisation cellulaire (Thomas et al., 2002). La protéine E6 des HR-VPH reconnaît les motifs cellulaires PDZ (Post synaptic density protein, Drosophila disc large tumor suppressor, Zonula occludens-1 protein) et mène à la dégradation de ces protéines par la voie du protéasome (Thomas et al., 2002). Les protéines à motifs PDZ sont souvent retrouvées au niveau des jonctions serrées entre les cellules épithéliales et sont impliquées dans la transduction de signaux cellulaires (Longworth and Laimins, 2004a).

Également, la protéine E6 des HR-VPH agit sur les télomérases cellulaires, ce qui favorise le processus d'immortalisation cellulaire (Klingelhutz et al., 1996). Normalement, les télomères se réduisent avec chaque division cellulaire et lorsqu'ils deviennent trop courts, la sénescence cellulaire se produit (Frias et al., 2012). Les télomérases ont pour fonction d'ajouter des séquences répétitives à l'extrémité des chromosomes (Frias et al., 2012). Les cellules épithéliales n'expriment généralement pas de télomérases, ce qui leur procure une durée de vie limitée (Veldman et al., 2001). Ainsi, lorsque les télomères sont trop courts, la cellule meurt (Veldman et al., 2001). La protéine E6 est essentielle afin de permettre l'immortalisation cellulaire en conservant les extrémités des chromosomes assez longues pour éviter la mort cellulaire (Goodwin et al., 2000). La protéine E6 permet d'exprimer en plus grande quantité la protéine hTert (human telomerase reverse transcriptase), la sous-unité catalytique de la télomérase cellulaire (Veldman et al., 2001).

La protéine E6 n'est pas directement impliquée dans les processus physiologiques mais plutôt dans la création d'un environnement favorable aux activités biologiques virales. La protéine E6 prévient la mort cellulaire par apoptose et active l'expression des télomérases cellulaires.

2.2.2.6. La protéine E7

La protéine virale E7 est la deuxième oncoprotéine principale des VPH et agit en complémentarité avec la protéine E6 (Mantovani and Banks, 2001). Comme la protéine E6, la protéine E7 est sous le contrôle de la protéine virale E2 pour réguler son niveau d'expression (Conway and Meyers, 2009). La protéine E7 est retrouvée majoritairement au niveau du noyau de la cellule infectée (Longworth and Laimins, 2004a).

La fonction majeure de la protéine E7 est de stimuler le cycle cellulaire afin de maintenir l'expression de la machinerie de réplication de l'ADN (Doorbar, 2005). Les gènes codant pour les protéines de réplication cellulaire sont sous le contrôle des facteurs de transcription de la famille E2F (Munger et al., 2001). La protéine E7 a la capacité de se fixer et d'inactiver la protéine cellulaire pRb (protéine du rétinoblastome) (McBride, 2008). La protéine pRb est un régulateur négatif du cycle cellulaire qui empêche l'entrée de la cellule en phase S en se liant au facteur de transcription E2F (Doorbar, 2005). L'inactivation de cette protéine provoque l'augmentation de l'expression des gènes de la phase S (McBride, 2008). De plus, l'inactivation de pRb permet de bloquer le point de contrôle cellulaire qui empêche la maintenance à long terme d'ADN extra-chromosomique (Longworth and Laimins, 2004a). La fixation de la protéine E7 au pRb est commune entre les LR-VPH et les HR-VPH, mais seule l'interaction par E7 des HR-VPH mène à la dégradation de pRb par ubiquitination (Wise-Draper and Wells, 2008). La protéine E7 des HR-VPH peut se fixer au pRb avec une affinité jusqu'à dix fois supérieure à celle de la protéine E7 des LR-VPH (Wise-Draper and Wells, 2008).

La protéine E7 des HR-VPH interagit également avec les cyclines cellulaires (Doorbar, 2005). Les cyclines agissent en phosphorylant le pRb, ce qui interfère avec son interaction avec le facteur de transcription E2F sur l'ADN cellulaire et permet la transcription des gènes de la phase S (Longworth and Laimins, 2004a). De plus, la protéine E7 des HR-VPH a la capacité de se lier aux inhibiteurs des kinases dépendantes des cyclines p21 et p27, ce qui les empêche de bloquer l'activité des cyclines (Doorbar, 2005). La protéine E7 des HR-VPH se lie aussi à la protéine cellulaire p130, ce qui cause la diminution de l'expression de l'involucrine, une protéine impliquée dans le processus de différenciation cellulaire (Zhang et al., 2006). À ce stade de l'infection, la collaboration entre les oncoprotéines virales E6 et E7 est essentielle (Mantovani and Banks, 2001). L'entrée en phase S à un moment inopportun entraîne normalement l'apoptose,

mais la protéine virale E6 contrebalance cet effet en dégradant la protéine suppressive de tumeurs p53 (White, 1994).

La protéine E7 se lie également aux histones déacétylases cellulaires (Doorbar, 2005). La position des histones dans la chromatine ainsi que leur acétylation déterminent quels sont les gènes qui peuvent être transcrits (Thiagalingam et al., 2003). Les histones déacétylases sont impliquées dans le contrôle de la transcription des gènes cellulaires, dans la progression du cycle cellulaire, dans la réplication de l'ADN, dans le processus de différenciation et dans la réponse au dommage à l'ADN (Thiagalingam et al., 2003). Les histones déacétylases peuvent agir directement sur les histones ou encore sur des protéines régulatrices du cycle cellulaire (Longworth and Laimins, 2004b). Les promoteurs des gènes impliqués dans le cycle cellulaire sont normalement bloqués par la présence des histones déacétylases (Longworth and Laimins, 2004a). Les VPH utilisent l'action de la protéine E7 sur les histones déacétylases afin de maintenir les histones à l'écart de ces promoteurs, ce qui permet l'expression des gènes de la phase S (Longworth and Laimins, 2004b).

De plus, la protéine E7 est impliquée dans l'évasion de la réponse immunitaire (Tindle, 2002). Par l'inhibition de l'expression des protéines TAP1 (transporteur associated with antigen processing 1) et LMP2 (large multifonctional peptidase 2), qui sont des composantes essentielles à l'apprêtement des antigènes, la protéine E7 diminue la présentation des antigènes pour l'activation du système immunitaire adaptatif (Hibma, 2012). De plus, la protéine E7 est tolérogénique et elle induit l'anergie des CTL (lymphocytes T cytotoxiques) dirigés contre E7 (Tindle, 2002).

2.2.2.7. La protéine E8

La protéine E8 des VPH provient soit de l'initiation de la transcription au niveau de la région C-terminale d'E2, soit d'un épissage alternatif d'un ARNm contenant E2 (Stubenrauch et al., 2000). La protéine E8 ne contient pas le domaine de transactivation de la protéine E2 mais uniquement la région C-terminale qui permet la dimérisation et la fixation à l'ADN au niveau du LCR (Stubenrauch et al., 2000). Cette protéine est qualifiée de super-répresseur puisque son action résulte uniquement en l'inactivation du promoteur précoce (Bernard, 2002). La protéine E8 est exprimée tôt dans le cycle de réplication des VPH et sa fonction principale est de limiter le nombre de copies du génome viral contenu dans les cellules de la couche basale (Stubenrauch et al., 2000).

2.2.2.8. La protéine L1

La protéine L1 des VPH est la composante principale de la capsid virale (Doorbar, 2005). Il faut 360 protéines L1 pour compléter la capsid des VPH (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009). Les protéines L1 se regroupent d'abord en capsomères de cinq protéines L1 et 72 de ces capsomères seront liés les uns aux autres par des ponts disulfures en association avec L2, la protéine mineure de la capsid (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009). Ces protéines peuvent s'auto-assembler spontanément afin de former les VLP (virus-like particle) qui ressemblent beaucoup à de réels virions (Buck et al., 2005). Ces VLP sont très immunogènes et sont utilisés dans la préparation des vaccins prophylactiques pour permettre le développement d'une réponse humorale contre certains types de VPH (Govan, 2008). La protéine L1 des VPH est variable et permet de fabriquer des anticorps type-spécifiques (Roden et al., 2000). Cependant, une étude faite sur BPV1 a montré que les virions formés uniquement de la protéine L1 peuvent se fixer à la membrane de leurs cellules-cibles mais ne sont pas infectieux (Roden et al., 2001). Pour créer des virions infectieux, la présence dans la capsid virale de la protéine tardive L2 est essentielle (Richards et al., 2006).

La protéine L1 est très importante dans le processus d'attachement et permet le contact initial entre le virion et sa cellule-cible (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009). La protéine L1 peut aussi se lier à la matrice extracellulaire via les protéines laminine-5 (Culp et al., 2006). Cette liaison transitionnelle permet au virus de s'immobiliser au niveau de l'épithélium afin d'interagir avec les cellules-cibles (Culp et al., 2006). La protéine L1 reconnaît les glycoprotéines membranaires contenant du sulfate d'héparine (Joyce et al., 1999). Cette liaison initiale permet des changements conformationnels au niveau de la capsid virale qui vont permettre le transfert du virion vers le récepteur secondaire (Sapp and Day, 2009). Cette liaison au récepteur secondaire serait également médiée par la protéine L1 (Sapp and Day, 2009). De plus, la présence de ponts disulfures entre les protéines L1 permet la stabilisation de la capsid et rend les virions plus résistants à la protéolyse (Buck et al., 2005).

2.2.2.9. La protéine L2

La protéine mineure L2 de la capsid des VPH, comporte de nombreuses fonctions dans le cycle de réplication des VPH (Doorbar, 2005). Bien que la présence des protéines L2 ne soit pas nécessaire pour l'assemblage des VLP *in vitro*, la présence de L2 est essentielle dans les virions pour établir l'infection ainsi que pour la formation de nouveaux virions (Richards et al., 2006). La protéine L2 stimule également la réponse immunitaire humorale (Roden et al., 2000).

Les anticorps générés contre la protéine L2 ont des réactions croisées avec différents types de VPH contrairement aux anticorps dirigés contre la protéine L1 (Moscicki, 2008).

L'interaction initiale du virion avec la cellule-cible implique la protéine L1 qui se fixe avec un premier récepteur, les glycoprotéines membranaires contenant du sulfate d'héparine (Spillmann, 2001). Cette interaction initiale provoque un changement conformationnel de la protéine L1, ce qui expose la protéine L2 en surface (Sapp and Day, 2009). La protéine L2 est alors clivée à son extrémité N-terminale par la furine cellulaire, ce qui va permettre à L2 de changer de conformation et de permettre la fixation de la protéine L1 du VPH à un récepteur secondaire (Richards et al., 2006). Cependant, l'identité de ce récepteur secondaire n'est pas encore connue avec certitude (Sapp and Day, 2009). Les molécules d'intégrines α -6 sont toutefois probablement impliquées dans l'internalisation des VPH (Culp et al., 2006). Le clivage de L2 est essentiel pour l'établissement de l'infection (Richards et al., 2006). Ce site de clivage par la furine est très conservé entre les différents types de VPH (Day et al., 2008a). Dans le virion, ce site de clivage est dissimulé et nécessite le changement conformationnel de L1 pour être exposé (Campos and Ozbun, 2009). Ceci empêche la reconnaissance de ce site par le système immunitaire de l'hôte puisqu'il est essentiel à l'infection (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009).

À la suite de l'entrée du VPH, le virus se retrouve dans un endosome (Day et al., 2003). La sortie de l'endosome est médiée par la protéine L2 (Sapp and Day, 2009). Afin de quitter l'endosome, la protéine L2 insère son extrémité C-terminale dans la membrane de l'endosome (Richards et al., 2006), ce qui entraîne l'instabilité de l'endosome et permet à la protéine L2 de quitter l'endosome (Kamper et al., 2006). Lors de la sortie de l'endosome, la protéine L2 reste attachée au génome viral (Richards et al., 2006). La protéine L2 peut interagir avec les complexes de dynéines cellulaires par son extrémité C-terminale (Florin et al., 2006). Cette interaction va permettre au VPH de se déplacer le long des microtubules en direction du noyau de la cellule-hôte (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009). Le transport des protéines par les microtubules est un processus actif qui nécessite un complexe de protéines cellulaires (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009). De plus, la protéine L2 permet la translocation du génome viral du cytoplasme vers le noyau (Florin et al., 2006). La protéine L2 possède des signaux de localisation nucléaire et en présence de la protéine chaperonne Hsc70 (heat shock cognate protein 70), elle permet le transport actif du génome viral vers le noyau (Florin et al., 2006). Une fois dans le noyau, les protéines L2 vont guider le génome viral vers les sites de réplication, les ND10 (domaine nucléaire 10) (Campos and Ozbun, 2009).

Par la suite, la protéine L2 est impliquée dans l'assemblage des virions afin de permettre l'encapsidation des génomes nouvellement synthétisés dans les capsides virales (Doorbar, 2005). Les protéines L2 nouvellement synthétisées se redirigent vers les ND10 après leur entrée au noyau et vont permettre le recrutement des protéines L1 et E2 au site d'assemblage (Okun et al., 2001). La présence de la protéine E2 au ND10 à ce stade permet de

garder les nouveaux génomes au site d'encapsidation via les sites de liaison d'E2 à l'ADN viral (Holmgren et al., 2005). La protéine L2 se fixe à l'ADN viral via un site de liaison non-spécifiques (Zhou et al., 1994). Les génomes sont ainsi entraînés dans les capsides virales lors de l'auto-assemblage des protéines L1 et L2 pour former la capside virale (Ishii et al., 2005). La présence de L2 permet d'augmenter de 100 fois la capacité d'assemblage de la capside dans les cellules de mammifères en raison de la concentration des composantes au ND10 (Day et al., 1998). De plus, l'insertion des protéines L2 dans la capside permet sa stabilisation, ce qui rend les nouveaux virions plus résistants à la dessiccation ainsi qu'à la protéolyse (Holmgren et al., 2005).

La protéine L2, qui est essentielle à l'infection au VPH, présente de nombreuses fonctions dans le cycle de réplication des VPH. Cette protéine permet l'internalisation du virus, l'échappement de l'endosome, la localisation du génome viral au site de réplication ainsi que le recrutement des composantes virales permettant l'encapsidation des génomes viraux.

2.3. Cycle de réplication

Environ une quarantaine de types de VPH peuvent infecter les muqueuses anogénitales (Bernard et al., 2010). Les VPH anogénitaux se transmettent principalement lors des relations sexuelles (Veldhuijzen et al., 2010a). Afin d'établir l'infection, les VPH doivent avoir accès aux cellules de la membrane basale de l'épithélium (Doorbar, 2005). L'infection est favorisée lorsque des microlésions perturbent l'intégrité de l'épithélium et exposent les cellules basales à l'environnement (Doorbar, 2005). La période d'incubation de l'infection par des VPH anogénitaux varie de quelques semaines à quelques mois (Handisurya et al., 2009). La majorité des infections sont éliminées par le système immunitaire dans la première année (Longworth and Laimins, 2004a). Cette section portera sur le cycle de réplication des VPH muqueux anogénitaux, en particulier lors d'infection au niveau du col de l'utérus. Les HR-VPH sont les types les plus étudiés en raison des cancers qu'ils occasionnent (Doorbar, 2005). Aussi, VPH16 est le type le plus investigué puisque la moitié des cancers du col de l'utérus lui sont imputables (Zheng and Baker, 2006).

2.3.1. Le col de l'utérus et la zone de transformation

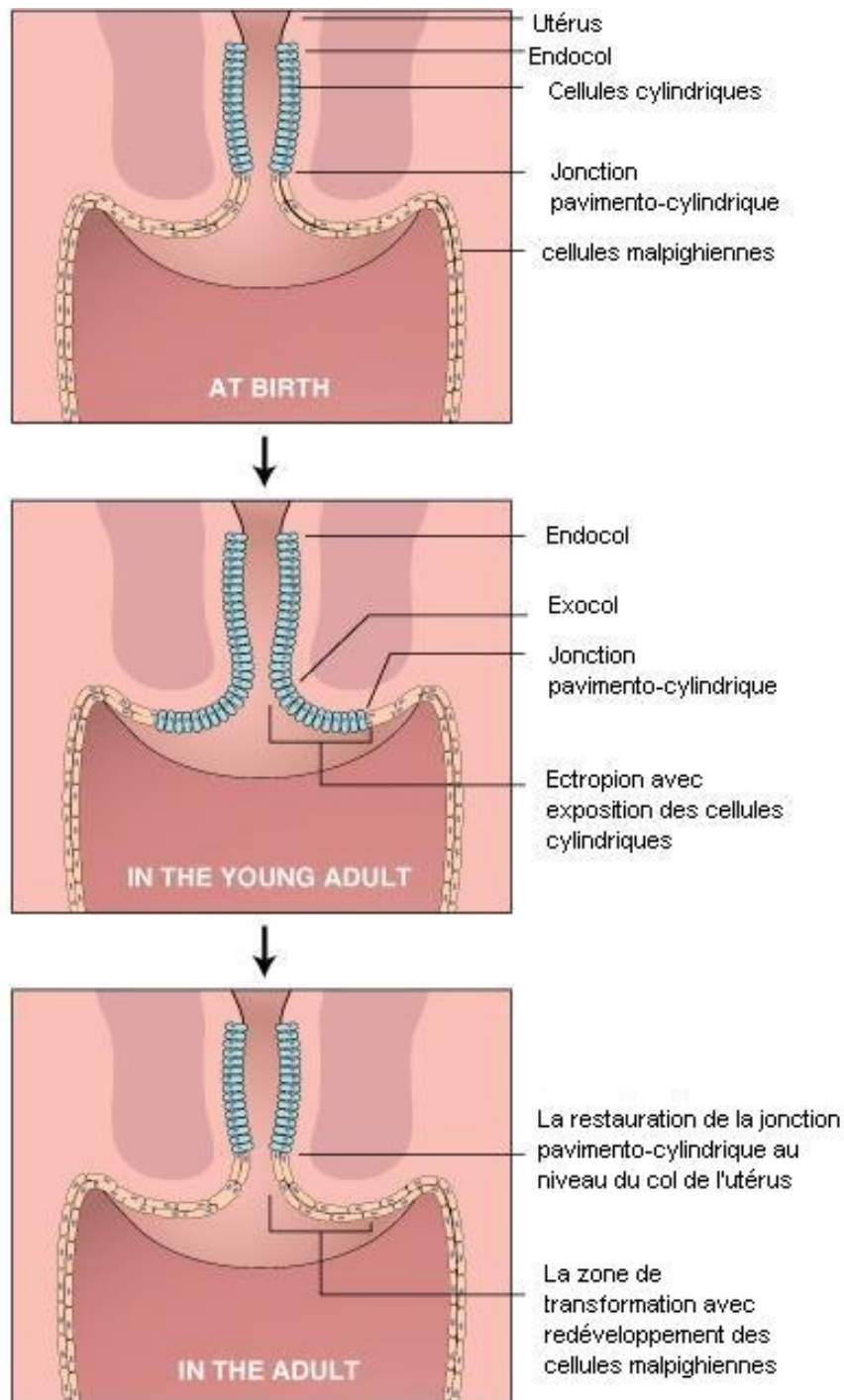
Le col de l'utérus permet la jonction entre le vagin et l'utérus. Plusieurs fonctions sont associées au col de l'utérus dans le processus de reproduction. Le canal endocervical permet l'évacuation du sang menstruel ou le passage du fœtus (Pocock Gillian and Richards Christopher D, 2004). De plus, le mucus sécrété par les glandes endocervicales permet de protéger l'utérus

contre l'introduction de sperme entre les périodes d'ovulation (Pocock Gillian and Richards Christopher D, 2004). Lors des périodes fertiles, la densité et la texture du mucus deviennent propices à l'entrée des spermatozoïdes (Pocock Gillian and Richards Christopher D, 2004). Lors de la grossesse, le col de l'utérus se referme afin de maintenir le fœtus en place dans l'utérus pour ensuite se dilater afin de permettre l'expulsion du bébé (Société canadienne du cancer, 2010).

Le col de l'utérus comprend l'endocol et l'exocol. L'endocol est la partie supérieure qui rejoint le corps principal de l'utérus. Son épithélium est composé d'une monocouche de cellules glandulaires cylindriques assises sur la membrane basale (Castle et al., 2006). L'exocol est la partie inférieure du col qui rejoint le vagin. Au niveau de l'exocol, l'épithélium est composé de plusieurs couches de cellules malpighiennes (Castle et al., 2006). Dans l'exocol, seules les cellules de la couche basale peuvent se diviser, une cellule-fille permettant de maintenir le nombre de cellules de la couche basale constant tandis que l'autre cellule va se différencier et migrer vers la surface (Munoz et al., 2006). Les cellules superficielles de l'épithélium sont remplacées régulièrement par la mort des cellules en surface par apoptose (Munoz et al., 2006).

La zone de transformation est la jonction entre ces deux différents types d'épithéliums, aussi appelée la jonction pavimento-cylindrique (Castle, 2004). Les infections à VPH sont fréquentes autant sur la muqueuse vaginale que sur la muqueuse cervicale (Schiffman et al., 2007). Cependant, les cancers vaginaux sont très rares tandis que les cancers du col de l'utérus sont fréquents (Schiffman et al., 2007). La zone de transformation est un endroit de prédilection pour l'infection au VPH puisque la couche basale y est exposée ce qui la rend facilement accessible pour les virus (Louie et al., 2009). Une zone de transformation similaire est observée au niveau de l'anus et cette zone est également susceptible au développement du cancer par les VPH (Castle, 2004). De plus, les cancers oropharyngés provoqués par les VPH se produiraient majoritairement dans des zones de transformation similaires au niveau du larynx et des voies nasales (Schiffman et al., 2007).

Le col de l'utérus évolue au cours de la vie de la femme. Lors de l'adolescence, la zone de transformation se situe au niveau de l'exocol et est exposée vers le vagin (Critchlow et al., 1995). Avec l'âge, la zone de transformation migre vers l'intérieur du col de l'utérus, ce qui la protège partiellement à l'exposition aux infections à VPH (Schiffman et al., 2007). Cependant, lors des changements hormonaux occasionnés par les grossesses et par l'utilisation des contraceptifs oraux, la zone de transformation se redirige vers l'extérieur, un processus nommé l'ectopie (Critchlow et al., 1995).



© Elsevier Ltd. Kumar et al: Basic Pathology 7E www.studentconsult.com

Figure 4 : Schéma de la zone de transformation à la naissance, à l'adolescence et à l'âge adulte. Le col de l'utérus évolue au cours de la vie des femmes. Lors de la naissance, la zone de transformation se situe au niveau de l'endocol. À l'adolescence, la zone de transformation est exposée au niveau de l'exocol, ce qui la rend plus susceptible aux infections au VPH. Au cours de l'âge adulte, la zone de transformation retourne progressivement au niveau de l'endocol. Modifié de Kumar, V., Robbins, S.L., Cotran, R.S. (2005) Basic pathology, 7^{ème} édition.

2.3.2. La dépendance de la différenciation cellulaire pour la réplication des VPH

Lors de la division d'une cellule infectée de la couche basale, une cellule-fille va perpétuer l'infection des cellules basales, tandis que dans l'autre cellule, les VPH vont débiter leur cycle de réplication simultanément à la différenciation cellulaire (Schiffman et al., 2007). Dans les cellules basales, le génome viral est maintenu à un faible nombre de copies, soit d'environ 20 à 100 copies par cellule (Longworth and Laimins, 2004a). Ce nombre de copies du génome viral dans les cellules basales reste constant tout au long de l'infection (Longworth and Laimins, 2004a).

Au départ, dans les couches inférieures de l'épithélium, les gènes précoces sont exprimés afin de permettre la réplication du génome viral (Longworth and Laimins, 2004a). La réplication de l'ADN viral se produit conjointement avec la réplication de l'ADN cellulaire (Fehrmann et al., 2003). Au cours de la différenciation, les cellules de l'épithélium cessent normalement de se diviser et perdent leurs noyaux, et leurs parois deviennent rigides (Bryan and Brown, 2001). Ces modifications permettent de protéger l'épithélium contre la dessiccation et les stress mécaniques, en plus de créer une barrière contre l'invasion par les microorganismes (Brown and Bryan, 2000). Lors d'une infection au VPH, le virus nécessite la présence de la machinerie de réplication de l'ADN jusqu'aux couches supérieures de l'épithélium pour se répliquer (Kajitani et al., 2012). Pour ce faire, le VPH doit prendre le contrôle du cycle cellulaire (Longworth and Laimins, 2004a).

Au cours de la différenciation cellulaire, les gènes tardifs commencent à être exprimés, par l'activation du promoteur tardif qui reconnaît des facteurs cellulaires spécifiques à la différenciation (Longworth and Laimins, 2004a). Les virions sont assemblés dans les couches supérieures de l'épithélium et ensuite relâchés par les cellules de la couche apicale (Doorbar, 2005). L'expression des protéines tardives est retardée afin de limiter la reconnaissance de l'infection par le système immunitaire puisque les protéines L1 et L2 sont très immunogènes (Peh et al., 2002).

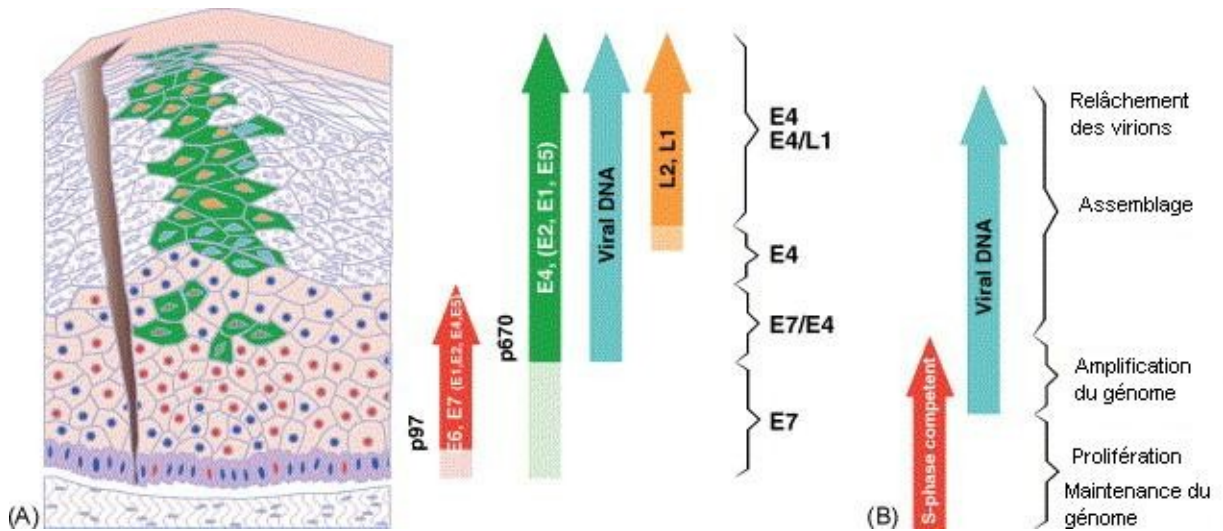


Figure 5 : Le cycle de réplication des VPH est étroitement lié à la différenciation de l'épithélium qu'ils infectent. Les VPH entrent dans l'épithélium par une microabrasion qui leur permet d'atteindre la couche basale de l'épithélium où se maintient l'infection. En quittant la couche basale, les VPH débutent la réplication de leur génome simultanément à la différenciation cellulaire. Dans les couches supérieures de l'épithélium, les VPH expriment les protéines de leur capsid afin de permettre l'assemblage des nouveaux virions. Modifié de Doorbar, J. (2005). The papillomavirus life cycle. *Journal of Clinical Virology* 32S, S7-S15.

2.3.3. Étapes du cycle de réplication des VPH anogénitaux

2.3.3.1. Attachement et entrée du VPH

Les VPH atteignent la couche basale de l'épithélium par des microlésions (Schiffman et al., 2007). Des études *in vitro* qui utilisent des VLP de VPH suggèrent que l'attachement initial aux cellules se produit par la liaison de protéine virale L1 et les glycoprotéines membranaires avec du sulfate d'héparine (Joyce et al., 1999). Ces glycoprotéines sont retrouvées sur la majorité des types cellulaires (Horvath et al., 2010). Elles sont impliquées dans de nombreux processus cellulaires allant de la coagulation au développement embryonnaire (Liu and Thorp, 2002). Les syndecanes-1 sont les glycoprotéines avec du sulfate d'héparine les plus fréquentes sur les cellules épithéliales (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009). Elles sont possiblement les molécules ciblées par les VPH pour la fixation initiale (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009). De plus, lors du processus de cicatrisation, l'expression de syndecanes-1 est augmentée dans les cellules épithéliales (Sapp and Day, 2009). Aussi, les VPH ont la capacité de se fixer sur les protéines de laminine-5 qui se retrouvent au niveau de la

matrice extracellulaire et qui sont sécrétées par les kératinocytes migrants qui vont envahir les plaies pour la cicatrisation (Culp et al., 2006). La liaison transitoire entre les VPH et les protéines de laminine-5 de la matrice extracellulaire permet au VPH de s'immobiliser dans l'épithélium afin de se lier aux cellules-cibles (Culp et al., 2006).

La liaison des protéines L1 du VPH aux glycoprotéines contenant du sulfate d'héparine permet l'attachement initial avec les cellules-hôtes (Spillmann, 2001). Toutefois, cette liaison n'est pas suffisante pour provoquer l'internalisation du virus (Day et al., 2008b). La protéine mineure de la capsid L2 est également impliquée dans les processus d'internalisation du VPH (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009). La liaison de la protéine L1 aux molécules avec du sulfate d'héparine cellulaires entraîne un changement conformationnel de L1 et ainsi, de la capsid virale (Sapp and Day, 2009). Suite à ce changement de conformation, une réaction de clivage médiée par la furine cellulaire se produit au niveau de l'extrémité N-terminal de la protéine L2 (Richards et al., 2006). Le changement conformationnel de la protéine L1 diminue l'affinité du virion avec les glycoprotéines membranaires contenant du sulfate d'héparine (Day et al., 2008a) de concert avec le clivage de la protéine L2 qui expose un nouveau site de liaison de L1 qui va se lier avec un récepteur secondaire (Sapp and Day, 2009). Il est possible que les molécules intégrines α -6 agissent comme deuxième récepteur (Culp et al., 2006).

L'entrée des VPH dans les cellules-cibles est un processus lent, la mi-temps requise pour l'entrée des virions pouvant atteindre jusqu'à 14 heures (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009). Ce long délai pour l'internalisation pourrait résulter du temps requis pour les changements de conformation des protéines de la capsid ainsi que du transfert des VPH vers leur deuxième récepteur (Sapp and Day, 2009). Aussi, il est possible que l'internalisation soit retardée par les mouvements des VPH à la surface cellulaire vers le site où se produit l'endocytose du VPH (Schelhaas et al., 2008). Ce mouvement se fait en suivant les filaments d'actine, mécanisme qui a été démontré *in vitro* (Schelhaas et al., 2008). L'entrée du virus se fait par endocytose par récepteurs interposés via les molécules de clathrine ou de calvéoline (Bousarghin et al., 2003). Bien que les récepteurs utilisés pour permettre l'entrée peuvent varier selon les types de VPH (Bousarghin et al., 2003), la majorité des génotypes utilisent les molécules de clathrine pour l'endocytose (Richards et al., 2006).

Suite à l'endocytose, les virions se retrouvent au niveau de l'endosome précoce dans le cytoplasme (Day et al., 2003). L'acidification de l'endosome par les lysosomes est essentielle pour permettre la sortie du virion (Selinka et al., 2002). La décapsidation virale de produit à l'intérieur de l'endosome, avant que le virion n'atteigne le cytoplasme (Sapp and Day, 2009). L'environnement réducteur de l'endosome affecte les ponts disulfures entre les protéines L1 de la capsid, menant ainsi à sa dégradation (Li et al., 1998). La protéine L2 est essentielle afin de permettre la sortie de l'ADN viral de l'endosome (Sapp and Day, 2009). L'insertion de la région C-terminale de la protéine L2 au travers de la membrane de l'endosome y provoque de

l'instabilité et mène à sa dissolution (Kamper et al., 2006). Les protéines L2 restent fixées à l'ADN viral et ce complexe s'échappe de l'endosome vers le cytoplasme (Richards et al., 2006).

La protéine L2 des VPH contient des signaux de localisation nucléaire, permettant l'utilisation des mécanismes cellulaires afin de pénétrer dans le noyau (Darshan et al., 2004). Les VPH utilisent le transport intracellulaire par les microtubules pour acheminer leur génome au noyau par l'interaction de la protéine L2 avec le complexe de protéines motrices cellulaires dynéines (Florin et al., 2006). La présence de la protéine chaperonne Hsc70 est nécessaire pour permettre la translocation du génome viral au noyau (Florin et al., 2006). L'ADN viral et la protéine L2 pénètrent dans le noyau sous la forme d'un complexe (Sapp and Bienkowska-Haba, 2009).

Certains PV pourraient être transportés au noyau par le réticulum endoplasmique (Bossis et al., 2005). Ainsi, il a été démontré que la protéine L2 de BPV1 a la capacité de se fixer avec la protéine syntaxine 18 sur la membrane du réticulum endoplasmique (Bossis et al., 2005). Une fois dans le noyau, les protéines L2 liées à l'ADN viral vont se regrouper au niveau des ND10, qui sont des sites actifs de transcription des cellules épithéliales (Richards et al., 2006).

2.3.3.2. Maintenance de l'infection et infection productive

L'infection est persistante au niveau de la couche basale de l'épithélium (Conway and Meyers, 2009). Le génome s'y retrouve sous forme d'épisome à un faible nombre de copies, soit entre 10 et 200 copies par cellules (Doorbar, 2005). La réplication de l'ADN viral dans les cellules de la couche basale est synchrone avec la réplication des chromosomes de l'hôte (Fehrmann et al., 2003). L'expression des gènes E1 et E2 permet le maintien du génome sous forme épisomale (Doorbar, 2005). Pour BPV1, l'infection ne peut être maintenue en l'absence de la protéine E1 sans l'intégration du génome viral (Wilson et al., 2002). La protéine E2 permet de conserver la couche basale infectée en s'assurant que les génomes viraux soient répartis dans les cellules-filles en les attachant aux chromosomes lors de la mitose (McBride, 2008). Les protéines virales E6 et E7 sont également nécessaires pour la maintenance stable du génome viral épisomal dans les cellules de la couche basale (Thomas et al., 1999a). Ces protéines entraîneraient l'abolition des points de contrôle cellulaires qui détectent la présence d'ADN extra-chromosomique à long terme (Longworth and Laimins, 2004a). Les niveaux d'expression des protéines précoces E1, E2, E6 et E7 dans les cellules de la couche basale sont faibles (Doorbar, 2005).

Le processus de différenciation des cellules épithéliales commence lorsqu'elles quittent la membrane basale (Conway and Meyers, 2009). Normalement, la réplication de l'ADN cellulaire cesse avec la perte du noyau (Doorbar, 2005). Les débris cellulaires forment alors la couche cornée (Longworth and Laimins, 2004a). Cependant, lors d'une infection au VPH, les gènes E6 et

E7 sont exprimés dans les cellules qui quittent la couche basale (Doorbar, 2005). Ces gènes vont prendre le contrôle du cycle cellulaire et retarder la différenciation cellulaire normale de l'épithélium afin de maintenir les cellules épithéliales en phase S (Munger et al., 2001). La phase productive de l'infection au VPH va mener à la synthèse de milliers de copies du génome par cellule dans les couches supérieures de l'épithélium (Klumpp and Laimins, 1999).

2.3.3.3. Amplification du génome

La réplication du génome des VPH débute dans les couches centrales et supérieures de l'épithélium (Doorbar, 2005). La réplication de l'ADN se déroule au niveau du noyau de la cellule infectée à des sites spécialisés, les ND10 (Becker et al., 2004). Les ND10 sont des structures organisées, fixées à la matrice nucléaire, où se déroule le contrôle de la transcription des gènes cellulaires, de la croissance cellulaire ainsi que de l'apoptose (Becker et al., 2004). Seules les protéines E1 et E2 des VPH, ainsi que le site d'origine de la réplication dans le LCR, sont nécessaires afin de permettre la réplication du génome viral (Yasugi et al., 1997). Toutes les autres protéines utilisées par le virus sont d'origine cellulaire pour la réplication de l'ADN humain (Liu et al., 1998).

La fixation de la protéine E2 au niveau du LCR permet le recrutement de la protéine E1 à l'origine de réplication (Doorbar, 2005). L'origine de réplication est une séquence riche en A/T (Longworth and Laimins, 2004a). Avec l'aide de protéines chaperonnes cellulaires, les protéines E1 vont former une structure composée de deux hexamères autour d'un brin de l'ADN viral (Schuck and Stenlund, 2005). Cette structure va permettre la réplication bidirectionnelle du génome des VPH (Liu et al., 1998). Une fois la protéine E1 fixée à l'origine de réplication, il est possible de recruter la polymérase cellulaire afin de débiter la réplication (Sakakibara et al., 2011). L'activité hélicase de E1 permet l'ouverture des brins d'ADN en aval des fourches de réplication (McBride, 2008). Dans la couche basale, la réplication débute environ au nucléotide 100 et se termine entre les nucléotides 3437 et 4906, selon l'endroit où les deux fourches de réplication se rejoignent (Flores and Lambert, 1997). Cependant, lors de l'infection productive, la réplication du génome viral se produit par la méthode du "cercle roulant" ("rolling circle"), qui permet l'amplification de plusieurs copies du génome sans devoir réassembler la machinerie de réplication à l'origine de réplication (Flores and Lambert, 1997).

L'activation du promoteur tardif stimule la production des protéines précoces E1, E2, E4 et E5 (Middleton et al., 2003). Les protéines E1 et E2 des VPH se regroupent au niveau des ND10, tout comme les génomes viraux associés à la protéine L2, pour la réplication du génome viral (McBride, 2008). De plus, les génomes nouvellement synthétisés peuvent servir à augmenter la transcription des protéines virales de réplication ou encore comme nouvelle matrice

pour la réplication (Doorbar, 2005). Dans les couches supérieures de l'épithélium, l'expression des protéines virales de réplication est très élevée et mène à la création de milliers de copies du génome viral par cellule infectée (Kajitani et al., 2012).

Pour les LR-VPH, la réplication virale débute plus tôt dans l'épithélium en différenciation que pour les HR-VPH (Mantovani and Banks, 2001). Les cellules en début de différenciation contiennent encore des protéines cellulaires impliquées dans la réplication de l'ADN qui peuvent être utilisées par le VPH (Thomas et al., 1999b). Il y a disparition de ces protéines cellulaires de réplication avec le processus de différenciation (Peh et al., 2002). Ainsi, les LR-VPH répliquent leur ADN dans un environnement moins différencié que les HR-VPH et ne nécessitent pas une protéine E6 aussi agressive que les HR-VPH (Thomas et al., 1999b).

2.3.3.4. Expression des gènes viraux :

L'expression des gènes viraux se fait de manière séquentielle via les promoteurs précoces et tardifs (Doorbar, 2005). Le promoteur de la transcription des gènes précoces, désigné le P97 pour VPH16, se situe en amont du cadre de lecture du gène E6 dans le LCR (Zheng and Baker, 2006). La transcription des gènes tardifs est contrôlée par le promoteur P670 pour VPH16, qui se retrouve à l'intérieur du cadre de lecture du gène E7 (Zheng and Baker, 2006).

La régulation du promoteur précoce se fait au niveau du LCR (del Mar Pena and Laimins, 2001). De plus, le promoteur précoce est sous le contrôle d'un activateur situé environ 400 pb en amont dans le LCR qui présente une spécificité pour les cellules épithéliales (Bernard, 2002). Les promoteurs des gènes précoces sont reconnus directement par l'ARN polymérase II cellulaire (Bernard, 2002). Ces gènes sont donc transcrits les premiers et vont ensuite participer au cycle de réplication du virus (Doorbar, 2005). La transcription est également contrôlée par les quatre sites de liaisons de E2 ainsi que par des interactions entre des facteurs cellulaires et la protéine virale E2 (Zheng and Baker, 2006). Les sites de liaison de E2 dans le LCR présentent différentes affinités, ce qui permet au virus de contrôler la quantité de ses protéines qui sont produites (Steger and Corbach, 1997). Ce processus est expliqué plus en détail dans la section portant sur la protéine E2.

De plus, certains facteurs de transcription cellulaire affectent les niveaux de transcription des gènes précoces (Doorbar, 2005). Par exemple, le facteur de transcription Sp1 (Specificity protein 1) augmente l'activité du promoteur précoce, en opposition avec un autre facteur, Sp3, qui agit comme répresseur au même site de liaison (Apt et al., 1996). Cette compétition pour le site de liaison est un autre élément de régulation de l'expression des gènes précoces via les ratios cellulaires de ces deux facteurs (Apt et al., 1996). Dans les cellules de la couche basale, le

facteur de transcription Sp3 est exprimé en grande quantité et bloque la transcription des gènes précoces, ce qui permet de maintenir un faible taux d'expression de ces gènes (Bernard, 2002). Inversement, lors de la différenciation cellulaire, ce site de liaison est généralement occupé par Sp1, ce qui stimule l'expression des gènes sous le contrôle du promoteur précoce (Bernard, 2002).

Le promoteur tardif est actif seulement dans les cellules épithéliales en fin de différenciation (Kajitani et al., 2012). Ceci assure que les protéines de la capsid, dont les épitopes peuvent être reconnus par le système immunitaire, ne soient pas exprimées trop tôt dans le cycle de réplication (Peh et al., 2002). L'activation du promoteur tardif nécessite deux signaux, soit le signal de différenciation cellulaire et la présence d'ADN viral amplifié (Fehrmann et al., 2003). Une modification du réseau de chromatine entourant le promoteur tardif se produit au cours du processus de différenciation qui rend le promoteur accessible pour la transcription (del Mar Pena and Laimins, 2001). Le promoteur tardif permet la transcription d'un ARNm pour les protéines E1 et E2 débutant dans le gène E7 (Klumpp and Laimins, 1999). Contrairement au promoteur précoce, la protéine E2 n'influence pas l'activation du promoteur tardif, ce qui entraîne une expression élevée des protéines E1 et E2 lors de la différenciation cellulaire, permettant l'amplification efficace de génomes viraux (Klumpp and Laimins, 1999). De plus, les grandes quantités de E2 produites par l'activation du promoteur tardif inhibent l'activation du promoteur précoce, réduisant ainsi l'expression des protéines E6 et E7 (Peh et al., 2002). Cependant, cette forte production limite la durée de vie de la cellule puisque la protéine E7 n'est plus présente afin de stimuler la phase S (Peh et al., 2002). De plus, des éléments régulateurs contenus dans les gènes E6 et E7, en amont du promoteur tardif, vont permettre l'activation du promoteur tardif (Zheng and Baker, 2006).

En plus des promoteurs, l'expression des gènes viraux est régulée par les mécanismes d'épissage alternatif (Longworth and Laimins, 2004a). Les ARNm viraux sont polycistroniques (Stacey et al., 2000). Le génome viral contient différents signaux d'épissage qui permettent de générer les différents ARNm pour chacune des protéines virales (Kajitani et al., 2012). De plus, l'épissage alternatif des ARNm précoces se termine toujours par la même séquence poly-A précoce qui bloque ainsi la production des protéines tardives (Kajitani et al., 2012). Afin de permettre la production des protéines tardives, l'épissage alternatif des ARNm tardifs doit ignorer la séquence poly-A précoce et stopper à la séquence poly-A des gènes tardifs (Kajitani et al., 2012).

2.3.3.5. Assemblage des virions et relâchement dans l'environnement

L'assemblage des nouveaux virions se produit dans le noyau de la cellule infectée (Darshan et al., 2004). Les protéines L1 et L2, qui forment la capsid virale, utilisent les pores nucléaires pour leur transport (Nelson et al., 2002). Les protéines de la capsid virale interagissent avec les protéines cellulaires kap (Darshan et al., 2004). Les protéines kap peuvent traverser les pores nucléaires et agissent comme importines ou exportines afin de gérer le trafic de protéines qui traversent la membrane nucléaire par reconnaissance de signaux de localisation (Lusk et al., 2004). L'entrée de la protéine L2 dans le noyau précède l'entrée de la protéine L1 (Florin et al., 2002a). La translocation de la protéine L2 au noyau nécessite la présence de la protéine cellulaire chaperonne Hsc70 (Florin et al., 2004). Les deux protéines se lient dans le cytoplasme et sont transportées ensemble dans le noyau (Florin et al., 2004). Les protéines L1 s'assemblent en capsomères au niveau du cytoplasme et seront transportées sous cette forme au noyau (Florin et al., 2002a).

Les virions s'assemblent aux sites nucléaires ND10, au même endroit où se produit la réplication de l'ADN viral (Becker et al., 2004). Afin de permettre l'assemblage efficace des nouveaux virions, les protéines L2 accumulées au site ND10 recrutent à ce site le répresseur de transcription cellulaire Daxx (Death domain-associated protein 6) et repoussent l'activateur cellulaire de transcription Sp100 (Florin et al., 2002b). De plus, l'accumulation de la protéine Daxx au ND10 permet de relocaliser les histones déacétylases, ce qui permet à l'ADN viral de se condenser (Florin et al., 2002b). La protéine L2 permet le recrutement de la protéine majeure de la capsid L1 (Day et al., 1998). L'accumulation des protéines L2 au ND10 précède l'arrivée des protéines L1 de plusieurs heures (Florin et al., 2002a). Les protéines L1 possèdent la capacité de s'auto-assembler spontanément (Nelson et al., 2002). Au moment de l'assemblage des virions, la protéine précoce E2 s'accumule également au niveau des ND10 (Day et al., 1998). La protéine E2 permet de garder les génomes viraux aux sites d'encapsidation via ses sites de liaisons à l'ADN viral (Day et al., 1998). La région N-terminale de la protéine L2 possède un site de liaison non-spécifique à l'ADN (Zhou et al., 1994). Au moment de l'assemblage spontané de la capsid virale, une copie du génome est entraînée dans la capsid par cette liaison L2-ADN (Ishii et al., 2005).

Les cellules superficielles d'un épithélium sain sont normalement anucléées et possèdent des membranes cellulaires très rigides (Bryan and Brown, 2001). Ces modifications morphologiques permettent une protection contre la dessiccation, les lésions mécaniques ainsi qu'une barrière physique contre les pathogènes (Brown and Bryan, 2000). Lors d'une infection au VPH, le virus maintient la présence du noyau pour permettre la réplication du génome et la transcription des gènes tardifs jusqu'aux couches superficielles de l'épithélium (Doorbar, 2005). Ceci affecte également les membranes cellulaires, qui plutôt que de devenir rigides, restent

souples (Bryan and Brown, 2001). De fait, la membrane cellulaire des cellules épithéliales superficielles infectées par VPH11 sont plus fragiles et plus minces que la membrane cellulaire des cellules épithéliales non-infectées (Brown and Bryan, 2000).

Les VPH ne provoquent pas la lyse des cellules qu'ils infectent (Bryan and Brown, 2000). Les cellules superficielles de l'épithélium sont remplacées régulièrement par desquamation et laissent place aux cellules sous-jacentes (Buck et al., 2005). Les virions nouvellement assemblés peuvent ainsi se propager dans les squames (Culp and Christensen, 2004). Lors des relations sexuelles, des squames contenant des virions de VPH sont transmis au partenaire non-infecté (Bryan and Brown, 2001). Les stress mécaniques peuvent briser ces squames et ainsi libérer les virions qui pourront infecter l'épithélium sain en cas de microlésions (Bryan and Brown, 2001). Les virions peuvent également être libérés par l'activation de l'apoptose dans les couches supérieures de l'épithélium par la protéine E2 (Blachon and Demeret, 2003). La protéine E2 étant essentielle à la réplication du génome viral, elle est présente en haute concentration en phase tardive de l'infection (Peh et al., 2002). En activant la caspase 8, la protéine E2 déclenche l'apoptose, ce qui libère les virions (Blachon and Demeret, 2003).

Les virions relâchés par les cellules épithéliales sont infectieux mais la capsid virale doit subir un processus de maturation qui peut nécessiter plusieurs heures (Buck et al., 2005). La maturation de la capsid des VPH consiste en l'établissement de ponts disulfures entre les différentes molécules L1, ce qui rend les virions plus stables et plus résistant à la protéolyse (Buck et al., 2005).

2.4. Oncogénèse des VPH anogénitaux

De l'ADN de HR-VPH a été retrouvé dans virtuellement 100% des cancers du col de l'utérus (Parkin and Bray, 2006). Il est maintenant reconnu que l'infection par un HR-VPH est essentielle mais non suffisante pour le développement du cancer du col de l'utérus (Trottier and Franco, 2006a). Cependant, puisque seulement une faible proportion des infections au VPH mène au développement d'un cancer, des facteurs cellulaires et/ou viraux sont requis (Nakahara et al., 2002). En effet, moins de 1% des infections du col de l'utérus par les HR-VPH progressent vers le cancer (Tindle, 2002). L'introduction du test Pap (Papanicolaou) pour le dépistage des lésions cancéreuses ou précancéreuses au niveau du col de l'utérus a réduit l'incidence de ce type de cancer de 80% aux États-Unis (Longworth and Laimins, 2004a). Cependant, au Canada, il est estimé que 12% des femmes ne participent pas au test de dépistage cytologique (Tricco et al., 2011). En 2002, environ 493 000 nouveaux cas de cancers du col utérin ont été diagnostiqués au niveau mondial (Parkin and Bray, 2006). La majorité des femmes avec un cancer du col de l'utérus proviennent de pays en voie de développement où le dépistage n'est

pas disponible (Parkin and Bray, 2006). Les VPH induisent également des cancers au niveau d'autres sites anatomiques, dont d'autres cancers des organes génitaux, des cancers de la peau et des cancers oropharyngés (Trottier and Franco, 2006a).

2.4.1. Mécanisme d'oncogénèse

La majorité des infections par les HR-VPH se résolvent naturellement (Trottier and Franco, 2006a). Cependant, lorsqu'une infection persiste, les risques de développement d'un cancer augmentent (Moscicki et al., 2006). Les lésions précancéreuses sont divisées en lésions de bas-grade et en lésions de haut-grade (Denis et al., 2008). Les lésions de bas-grade témoignent d'une infection productive et régressent fréquemment (Middleton et al., 2003). Dans les lésions de haut-grade, le cycle de réplication viral est atténué et les cellules de l'épithélium sont en prolifération (Doorbar, 2005). Pour les lésions de haut-grade, la régression est possible mais plus rare (Moscicki et al., 2006). L'évolution des lésions de haut-grade au cancer se produit lorsque le génome viral s'intègre au génome de la cellule-hôte et que le niveau d'expression des oncoprotéines virales E6 et E7 augmente (Munger et al., 2004). Lorsque le stade de cancer est atteint, la régression de l'infection n'est plus possible (Denis et al., 2008).

Lors de l'infection productive au VPH, les niveaux d'expressions des oncoprotéines E6 et E7 sont contrôlés par la protéine virale E2 qui inhibe le promoteur précoce lors de l'initiation de la phase tardive de la réplication (Conway and Meyers, 2009). L'intégration du génome viral dans l'ADN cellulaire se fait habituellement au niveau du gène E2 du VPH, ce qui entraîne l'inactivation de ce gène (Tungteakkhun and Duerksen-Hughes, 2008). Le gène E2 est un répresseur transcriptionnel des protéines E6 et E7 et en son absence, les niveaux d'expression de E6 et E7 sont augmentés (Tungteakkhun and Duerksen-Hughes, 2008). De plus, l'intégration du génome au niveau du gène E2 mène souvent à la perte du gène E4 (Middleton et al., 2003). La présence de la protéine E4 dans les infections par les HR-VPH est un marqueur de lésion de bas-grade, car cette protéine est associée à la phase tardive de l'infection productive (Middleton et al., 2003). Il est également possible que l'intégration se produise au niveau du gène E1, bien que moins fréquemment (Tungteakkhun and Duerksen-Hughes, 2008). De plus, l'intégration du génome viral mène fréquemment à une délétion de plusieurs centaines de bases du génome viral (Thorland et al., 2003). L'intégration est un événement rare et ne fait pas partie du cycle de réplication productive des VPH, qui vise à la production de nouveaux virions (Thomas et al., 1999b). En effet, la progression vers le cancer des lésions causées par les VPH n'est pas un avantage évolutif, puisque les lésions de haut-grade produisent généralement moins de nouveaux virions que les lésions de bas-grade qui entourent les lésions de haut-grade (Castle, 2004). L'intégration du génome viral initie une séquence d'événements qui entraîne l'instabilité

génomique de la cellule-hôte, favorisant ainsi la transformation cellulaire (Tungteakkhun and Duerksen-Hughes, 2008).

Les gènes E6 et E7 agissent en collaboration afin de transformer les cellules-hôtes (Mantovani and Banks, 2001). L'expression des oncoprotéines E6 et E7 doit être constante au cours du processus d'oncogénèse, car lors de l'interruption de l'expression de ces protéines par l'introduction d'ARN anti-sens, les cellules cessent de croître et entrent en sénescence (Dowhanick et al., 1995). La protéine E7 est impliquée majoritairement dans la promotion de la tumeur tandis que la protéine E6 agit davantage dans l'établissement de la tumeur (Mantovani and Banks, 2001).

La protéine E2 possède également des activités pro-apoptotique (Blachon and Demeret, 2003). Au cours de l'infection productive, l'expression de cette protéine est augmentée au cours de la phase tardive et elle est présente en grande quantité (Hebner and Laimins, 2006). Le déclenchement de l'apoptose qui permet la libération des virions est indépendante des protéines p53 et pRb qui sont respectivement inactivées par les protéines E6 et E7 (Demeret et al., 2003). La perte du gène E2 lors de l'intégration du génome permet au VPH d'éviter la mort cellulaire (Demeret et al., 2003).

L'intégration du génome viral entraîne la diminution de la production de plusieurs protéines virales, au site d'intégration et de tous les gènes situés en aval car ils ne sont plus sous le contrôle de leur promoteur (Thorland et al., 2003). Ainsi, la protéine E4 n'est fréquemment plus produite lors de l'intégration par rupture du gène E2, ce qui aide à la transformation des cellules (Doorbar, 2005). Lorsque la protéine E4 est présente en grande quantité, elle arrête normalement le cycle cellulaire en phase G2, bloquant ainsi la mitose (Davy et al., 2002). Sans la protéine E4, seule la protéine E7 régule le cycle cellulaire, ce qui permet la prolifération (Chow et al., 2010).

La cible principale de la protéine E7 est la protéine cellulaire pRb, une protéine suppressive de tumeur (Hebner and Laimins, 2006). La protéine E7 se fixe au pRb et l'inactive, ce qui entraîne un dérèglement du contrôle du cycle cellulaire (McBride, 2008). La protéine E7 stimule également les facteurs de transcription de la famille E2F, ce qui augmente l'expression des protéines de phase S (Hebner and Laimins, 2006). L'expression de la protéine E7 entraîne une instabilité génomique, qui se manifeste entre autres, par des dédoublements des centrosomes (Hebner and Laimins, 2006).

Dans de nombreux types de cancers, la protéine p53 est mutée et ne permet plus de déclencher l'apoptose en cas de dommages à l'ADN ou de dérèglements du cycle cellulaire (Muller et al., 2006). Cependant, dans le cas des cancers provoqués par les VPH, la protéine p53 n'est généralement pas mutée mais elle est plutôt dégradée par l'action de la protéine virale E6 (Thomas et al., 1999b). En absence de p53, la cellule perd son point de contrôle au niveau de la transition de la phase G1 à la phase S et de la phase G2 à la phase M, ce qui entraîne de l'instabilité génétique de la cellule épithéliale (Filatov et al., 1998). La protéine E6 permet

également de maintenir les cellules viables en activant la transcription des télomérases cellulaires qui ajoutent des séquences répétitives aux télomères des chromosomes (Hebner and Laimins, 2006).

2.4.2. Facteurs influençant la progression des infections génitales au VPH

Le cancer du col de l'utérus est le deuxième cancer le plus fréquent chez les femmes (Parkin and Bray, 2006). Afin de déterminer quels individus doivent être pris en charge lors des programmes de dépistage du cancer, il est important de bien comprendre quels sont les facteurs qui mènent à la progression de l'infection (Woodman et al., 2007). Cette section expose les principaux facteurs qui favorisent la progression des infections au VPH.

2.4.2.1. Persistance de l'infection

La majorité des infections au VPH sont transitoires et sont éradiquées sur une période d'environ 12 mois (Handisurya et al., 2009). En effet, dans de nombreuses études, seule une faible proportion des femmes ayant un test positif pour un type donné présente le même résultat lors de la visite suivante (Trottier and Franco, 2006a). La persistance d'une infection avec un HR-VPH est un facteur de risque important pour la progression de l'infection vers le cancer (Kjaer et al., 2002).

La persistance est difficile à confirmer en laboratoire puisqu'il est complexe de discerner une infection persistante d'une infection résolue suivi d'une réinfection par le même type (Schlecht et al., 2001a). Afin de distinguer les deux possibilités, il est possible de séquencer les VPH pour vérifier si ce sont les mêmes variantes qui sont présentes lors des différentes visites (Schlecht et al., 2001a). Dans les cas de VPH16 et VPH18, ce sont souvent les mêmes variantes de ces types qui sont détectées lors d'infection persistantes (Villa et al., 2000). La détection de variantes différentes confirmerait qu'il s'agit d'une réinfection.

2.4.2.2. Charge virale de l'infection

De manière générale, la détection d'anomalies cytologiques augmente lorsque la charge virale d'une infection par un HR-VPH est élevée (Woodman et al., 2007). L'augmentation de la charge virale est associée à la progression des lésions dans le cas de VPH16, mais cette association n'est pas observée pour tous les types (Swan et al., 1999a). Inversement, de plus hautes charges virales ont également été détectées dans des lésions de bas-grade

comparativement aux lésions de haut-grade (Woodman et al., 2007). Ceci pourrait être expliqué par la présence d'intégration du génome des VPH dans les lésions de haut-grade, ce qui entraîne généralement une diminution de la charge virale (Woodman et al., 2007). Aussi, les infections par un HR-VPH avec une charge virale élevée augmentent les probabilités d'intégration du génome viral dans les chromosomes de l'hôte (Peitsaro et al., 2002).

L'utilisation de la charge virale comme marqueur de progression n'est pas encore reconnue fermement (Wang and Hildesheim, 2003). Une charge virale élevée peut représenter une infection productive transitoire, qui peut se résoudre spontanément, ou alors une infection productive persistante (Wang and Hildesheim, 2003). Toutefois, dans le cas de VPH16, les charges virales associées à la progression semblent être significativement plus élevées que celle observées en absence de lésion, soit de 30 fois et de 60 fois plus élevées pour les lésions de bas-grade et les lésions de haut-grade, respectivement, en comparaison aux infections ne causant pas d'anomalies cellulaires (Swan et al., 1999a). De plus, la charge virale peut varier en cas de co-infection, comme pour le VPH16 pour qui la charge virale est souvent plus élevée lorsque ce type est en présence d'autres types dans les lésions de haut-grade que lorsque détecté seul (Denis et al., 2008).

2.4.2.3. Intégration du génome viral

Suite à la persistance d'une infection par un HR-VPH, le génome viral peut s'intégrer dans les chromosomes de la cellule-hôte (Woodman et al., 2007). L'intégration du génome viral ne se produit pas à des sites préférentiels dans le génome humain mais elle se déroule majoritairement au voisinage de zones fragiles communes, qui sont plus instables et sujettes aux bris de la séquence d'ADN (Thorland et al., 2003). Cependant, dans une tumeur, le génome est intégré au même endroit dans toutes les cellules puisque la tumeur provient d'une expansion clonale d'une seule cellule transformée (Vinokurova et al., 2005). Au niveau du virus, l'intégration se produit le plus fréquemment dans le gène E2 et cause l'interruption de ce gène (Munger et al., 2004). Sans E2, les taux d'expression des oncoprotéines E6 et E7 ne sont plus régulés et leur expression augmente (Tungteakkhun and Duerksen-Hughes, 2008). L'intégration entraîne un avantage de croissance des cellules infectées par un HR-VPH, car les niveaux d'expression d'ARNm précoces produits par une seule copie de VPH intégrée correspondent aux niveaux que peuvent produire plusieurs milliers de VPH sous forme épisomale (Peitsaro et al., 2002). De plus, l'intégration de l'ADN de VPH16 dans le génome de la cellule-hôte permet d'augmenter la stabilité des ARNm des oncoprotéines E6 et E7 (Jeon and Lambert, 1995). Dans les épithéliums infectés par un HR-VPH et qui ne présentent pas d'anomalies, le génome viral est le plus souvent retrouvé sous forme d'épisome (Jeon et al., 1995). Cependant, dans la majorité des lésions de

haut-grade, le génome viral des HR-VPH peut être retrouvé sous forme intégrée et sous forme épisomale (Peitsaro et al., 2002). Plus les infections progressent vers des lésions de haut-grade, plus la fréquence d'intégration du génome viral augmente (Woodman et al., 2007). Cependant, dans le cas de VPH16, il est possible de développer un cancer invasif alors que le génome se retrouve encore sous forme d'épisome tandis que pour VPH18, seule la forme intégrée du génome peut mener au cancer (Woodman et al., 2007). Certains β -VPH présentent également cette caractéristique (Handisurya et al., 2009). Ainsi, les mécanismes d'oncogénèse des types associés à EV (Epidermodysplasia verruciformis) ne nécessitent pas l'intégration du génome viral dans l'ADN hôte et l'intégration n'est observée que très rarement (Handisurya et al., 2009).

2.4.2.4. Types et variantes

Ce ne sont pas tous les types de VPH qui sont associés au développement des cancer (de Villiers et al., 2004). Au niveau de la région anogénitale, seulement douze types sont considérés officiellement oncogènes (Bouvard et al., 2009). Le type le plus fréquent dans les cancers est le VPH16 qui est responsable d'environ 50% des cancers du col de l'utérus (Lichtig et al., 2006). Cependant, les tumeurs causées par le VPH18, qui n'est responsable que de 20% des cas, sont plus agressives que celles causées par VPH16 (Welters et al., 2006). Le VPH16 a la capacité de persister plus longtemps que les autres types de VPH (Castle, 2004). Ces observations suggèrent que le VPH16 utilise une stratégie différente pour s'évader de la surveillance immunitaire (Castle, 2004). En général, les autres types de VPH oncogéniques ne persistent pas plus longtemps que les types de VPH non-oncogéniques (Castle, 2004).

En plus des différences entre les différents types de VPH, le degré d'oncogénicité des VPH peut différer en fonction des variantes (Denis et al., 2008). Certaines mutations, dans différents gènes ou encore dans la région régulatrice, peuvent favoriser l'oncogénicité des HR-VPH (Denis et al., 2008). Ainsi, les variantes non-européennes du VPH16 tendent à persister sur une plus longue période que les variantes européennes (Veldhuijzen et al., 2010a). Les risques de développer des lésions de haut-grade et un cancer sont de deux à neuf fois plus élevés lors d'une infection par une variante non-européenne de VPH16 (Lichtig et al., 2006).

2.4.2.5. Co-infection avec d'autres types de VPH

La co-infection par plus d'un type de VPH est retrouvée dans environ 20% des infections et la majorité des co-infections comporte uniquement deux types de VPH (Rousseau et al., 2001). En cas de co-infection avec d'autres types, l'infection au VPH16 se prolonge sur une plus longue

période que s'il est le seul type détecté (Woodman et al., 2001). La co-infection par plus d'un type de VPH est associée à la persistance de l'infection (Perrons et al., 2005). Cependant, un autre groupe a montré que dans le cas d'une co-infection avec VPH16, la fréquence de la persistance des autres types n'est pas augmentée (Liaw et al., 2001). De plus, la fréquence de co-infections est plus élevée chez les femmes présentant des lésions de bas-grade au niveau du col de l'utérus que chez les femmes ne présentant aucune lésion (Rousseau et al., 2003b). Cependant, les co-infections sont retrouvées plus fréquemment dans les lésions de bas-grade que dans les lésions de haut-grade et les cancers (Sasagawa et al., 2001). Cette différence est expliquée par la diminution de la présence des LR-VPH dans les co-infections dans les lésions de haut-grade (Sasagawa et al., 2001). Dans une étude menée au Japon, environ 60% des co-infections dans les lésions de bas-grade comprenaient un HR-VPH comparativement à 95% et à 100%, respectivement, dans les lésions de haut-grade et les cancers (Sasagawa et al., 2001).

2.4.2.6. Nombre de grossesses

Le nombre de grossesses à terme est depuis longtemps associé à un risque élevé de cancer du col de l'utérus (Munoz et al., 2002), plus spécialement pour les femmes déjà infectées par un HR-VPH (Liao et al., 2012). Cet effet s'amplifie avec l'augmentation du nombre de grossesses (Munoz et al., 2002). De plus, un jeune âge lors de la première grossesse semble être un facteur favorisant l'apparition d'un cancer du col de l'utérus, ainsi qu'un intervalle court entre la première grossesse et le début de l'activité sexuelle (Louie et al., 2009). De courts intervalles entre les grossesses augmentent également le risque de développement d'un cancer (Munoz et al., 2002). Une relation synergique est probable entre le nombre de grossesses menées à terme et l'utilisation, sur une longue période, des contraceptifs oraux comme co-facteurs au cancer du col de l'utérus (Munoz et al., 2002). Les associations précédentes sont présentes uniquement dans les cas de grossesses menées à terme et non dans les cas d'avortements (Jensen et al., 2013). Les niveaux élevés d'hormones atteints lors du troisième trimestre de la grossesse pourraient expliquer cet effet puisque ces hormones favorisent l'ectopie au niveau du col utérin (Munoz et al., 2002). Cette augmentation du risque de cancer pourrait être expliquée par des traumatismes au col de l'utérus et au vagin au moment de l'accouchement (Williams et al., 2011). Les femmes ayant eu une césarienne étaient en effet moins affectées par le cancer que les femmes ayant accouché naturellement (Munoz et al., 2002). Une grande proportion des lésions de haut-grade régressent de manière spontanée en période postpartum, plus particulièrement pour les femmes ayant accouché naturellement (Ahdoot et al., 1998). La résolution des infections au VPH pourrait être favorisée par le processus de réparation des dommages au col de l'utérus et au vagin produits durant l'accouchement (Yost et al., 1999), suite

à l'augmentation localisée de l'activité immunitaire au niveau du col de l'utérus accompagnant le processus de réparation (Ahdoot et al., 1998).

2.4.2.7. Utilisation des contraceptifs oraux

L'utilisation à long terme de contraceptifs oraux a été associée à un risque plus élevé de cancer du col de l'utérus (Moreno et al., 2002). Les contraceptifs oraux contiennent de la progestérone, une hormone stéroïdienne impliquée dans le cycle menstruel et dans la grossesse (Pocock Gillian and Richards Christopher D, 2004). Le LCR contient des sites d'interactions avec les hormones stéroïdiennes (Piccini et al., 1997). Pour VPH16 et VPH18 ainsi que pour VPH11, la liaison de la progestérone au LCR entraîne une augmentation de la réplication du génome viral (Piccini et al., 1997). Ainsi, l'utilisation des contraceptifs oraux augmente la quantité de virus et augmente le risque de persistance de l'infection (Castle, 2004). De plus, la présence de ces hormones cause une augmentation de la transcription des oncoprotéines E6 et E7 (Mittal et al., 1993).

2.4.2.8. Système immunitaire de l'hôte

La capacité de contrôler une infection au VPH dépend en partie du système immunitaire de l'hôte (Carter et al., 2000). Les différents allèles des molécules de HLA (Human Leucocyte Antigen) permettent de générer une réponse immunitaire adaptative avec des avantages ou des inconvénients lors de la rencontre d'un antigène (Hildesheim and Wang, 2002). Certains allèles de molécules HLA de classe II (DRB1*13/DBQ1*0603) ont un effet protecteur contre le développement de lésions précancéreuses et de cancer (Hildesheim and Wang, 2002). Ces allèles favorisent une meilleure présentation des antigènes de VPH, ce qui permet ainsi au système immunitaire de plus efficacement éradiquer l'infection (Castle, 2004). Inversement, un autre allèle (HLAA*3101) semble favoriser le développement des lésions de haut-grade, mais sans nécessairement favoriser la progression des lésions de haut-grade vers le cancer (Wang et al., 2002).

En plus des molécules de HLA, des polymorphismes au niveau d'autres gènes peuvent entraîner une susceptibilité différente à la progression des infections au VPH (Denis et al., 2008). Certains allèles des gènes TAP, qui sont impliqués dans l'apprêtement des antigènes, ainsi que les récepteurs KIR (killer-cell immunoglobulin-like receptor), qui permettent la reconnaissance des molécules de CMH à la surface cellulaire, prédisposent au développement de lésions cervicales (Denis et al., 2008).

2.4.2.9. Présence d'infections transmises sexuellement autre que les VPH

2.4.2.9.1. *Chlamydia trachomatis*

La co-infection par *Chlamydia trachomatis* (CT) et HR-VPH double les risques de développement d'un cancer du col utérin (Smith et al., 2002b). En plus de causer un environnement inflammatoire chronique, des protéines encodées par CT rendent les cellules épithéliales infectées résistantes à l'apoptose (Fan et al., 1998). L'inflammation chronique entraîne également une conversion de la réponse de type cellulaire (Th1) (lymphocytes T helper 1) à une réponse de type humorale (Th2) (O'Byrne and Dalgleish, 2001). L'immunité à médiation cellulaire est nécessaire pour contrôler les infections par des parasites intracellulaires comme le VPH (Stanley, 2009). Également, l'état d'inflammation chronique induit par les cytokines pro-inflammatoires augmente la quantité de radicaux libres de l'oxygène qui affaiblissent l'immunité à médiation cellulaire au niveau des muqueuses (Castle and Giuliano, 2003). L'inflammation chronique crée un environnement favorable à la persistance de l'infection par les HR-VPH (Silins et al., 2005). De plus, la fréquence de la persistance des infections au VPH est jusqu'à quatre fois plus importante lors de co-infection avec CT (Smith et al., 2004b).

2.4.2.9.2. Virus herpès de type II

L'infection par HSV II (herpès simplex virus type II) a été associée à une augmentation de la fréquence du cancer du col de l'utérus par certains (Smith et al., 2002a), mais pas par tous (Tran-Thanh et al., 2002). Parmi les femmes infectées par un HR-VPH, le risque de développement d'un cancer est environ doublé lors de co-infection avec HSV-II (Castellsague et al., 2002). De plus, l'infection au HSV-II cause un environnement inflammatoire diminuant l'activité des lymphocytes T auxiliaires, ce qui inhibe l'activation de l'immunité à médiation cellulaire (Smith et al., 2002a).

2.4.2.9.3. Virus de l'immunodéficience humaine

Certains types de cancers sont majoritairement retrouvés chez des patients en état d'immunosuppression (zur Hausen, 2009). Par exemple, le sarcome de Kaposi, fréquemment rencontrés chez les patients séropositifs au VIH (virus de l'immunodéficience humaine), est causé par la réactivation du virus herpès de type 8, qui est permise par la chute de l'immunité

spécifique contre ce virus (zur Hausen, 2009). Les femmes infectées par le VIH sont également à risque de développer un cancer du col de l'utérus lors d'une infection par un HR-VPH (Strickler et al., 2005).

La persistance des infections au HR-VPH est plus fréquente chez les femmes infectées par le VIH (Stanley, 2009). Plus l'immunosuppression est importante, plus le risque de persistance du VPH est élevé (Ahdieh et al., 2001). La régression des lésions précancéreuses causées par les VPH est moins fréquente lors de co-infection avec le VIH, surtout lorsque la charge virale du VIH est élevée (Schuman et al., 2003). Ainsi, la baisse de l'immunité provoquée par le VIH augmente les risques de progression en favorisant la persistance de l'infection et en accélérant la transition vers les lésions précancéreuses (Schuman et al., 2003).

3. Maladies causées par les papillomavirus

La classification actuelle de la famille des PV comporte plus de 200 types (Kovanda et al., 2011). Environ 150 types de PV sont spécifiques à l'humain et parmi ce nombre, environ une quarantaine de types peuvent infecter le tractus génital (Kovanda et al., 2011). Les maladies causées par les VPH sont souvent classifiées selon leur tropisme, soit cutané ou muqueux, ou encore selon leurs manifestations cliniques (Cardoso and Calonje, 2011). Cependant, la classification selon le tropisme ne correspond pas vraiment à la réalité. Bien que les types muqueux aient une préférence pour l'infection des muqueuses, ces types peuvent être retrouvés dans des épithéliums cutanés et inversement pour les types classés comme étant cutanés (Bernard, 2005). Les principales pathologies causées par les VPH seront abordées sommairement dans cette section.

3.1. Verrues cutanées

Plusieurs types de VPH peuvent causer des verrues à différents sites anatomiques. Les verrues cutanées sont les plus fréquentes chez les enfants d'âge scolaire (van Haalen et al., 2009). De plus, la fréquence et la ténacité des verrues cutanées sont plus élevées chez les individus immunosupprimés et elles peuvent être causées par des types de VPH inhabituels (Cardoso and Calonje, 2011). Les verrues communes (*verrucae vulgaris*) sont causées majoritairement par VPH1, VPH2 et VPH4 (Cardoso and Calonje, 2011). Les verrues communes sont le plus souvent rencontrées au niveau des mains, particulièrement sur les doigts, et sur les pieds (van Haalen et al., 2009). Cependant, elles peuvent également se retrouver au niveau des coudes, des genoux ou du visage (Cardoso and Calonje, 2011). Les verrues communes peuvent

rarement évoluer en carcinome sur la peau chez des individus immunosupprimés (Leigh and Glover, 1995). Chez des patients avec une greffe du rein, les VPH agissent en synergie avec l'exposition au soleil en tant que cofacteurs carcinogéniques (Leigh and Glover, 1995).

Les bouchers ont une haute prévalence de verrues sur les doigts causées majoritairement par VPH7 (Matsukura et al., 2010). Cette prévalence accrue serait expliquée par les petites blessures fréquentes au niveau des mains dans ce métier et par la manipulation de la viande qui favorise la transmission du virus entre les travailleurs (Keefe et al., 1994).

Les verrues plantaires sont causées majoritairement par le VPH1 (Handisurya et al., 2009). Parfois d'autres types, comme VPH4, peuvent en être responsables (Cardoso and Calonje, 2011). Les verrues plantaires sont localisées aux points de contact avec le sol, ce qui les rend souvent douloureuses (Handisurya et al., 2009). La résolution spontanée des verrues plantaires nécessite une longue période de temps allant de plusieurs mois à plusieurs années (Handisurya et al., 2009). Ces verrues restent normalement bénignes mais extrêmement rarement, elles sont associées à des carcinomes (Cardoso and Calonje, 2011).

Les verrues planes sont dues principalement aux VPH3 et VPH10 et plus rarement aux VPH26, VPH29 et VPH41 (Cardoso and Calonje, 2011). Elles se situent souvent au niveau du visage, des mains et des avant-bras (Handisurya et al., 2009). Les verrues planes régressent normalement d'elles-mêmes mais laissent souvent des halos dépigmentés sur la peau après la guérison (Cardoso and Calonje, 2011).

3.2. Papillomatose respiratoire récurrente

La papillomatose respiratoire récurrente est une pathologie peu fréquente et elle est observée chez les jeunes enfants et chez les adultes (Trottier and Burchell, 2009). La papillomatose respiratoire récurrente est causée par VPH6 et VPH11 (Handisurya et al., 2009). L'infection par VPH11 occasionne des symptômes plus sévères (Handisurya et al., 2009). L'infection produit des papillomes au niveau du larynx qui peuvent être dangereux si trop nombreux, car ils pourraient obstruer les voies respiratoires (Trottier and Burchell, 2009). Le mode de transmission chez l'enfant se fait au moment de l'accouchement lors de l'expulsion du bébé (Venkatesan et al., 2012). Lorsque la mère présente une infection génitale par VPH6 ou VPH11, le risque d'acquisition d'une papillomatose respiratoire récurrente est de 231 fois plus élevé qu'en absence d'infection chez la mère (Handisurya et al., 2009). De plus, la transmission se fait de manière plus efficace lorsque la mère est nouvellement infectée par un de ces types de VPH plutôt que lors d'une infection chronique (Venkatesan et al., 2012). L'infection chez l'adulte se transmet probablement via les relations orales-génitales (Handisurya et al., 2009). L'infection est généralement récurrente au traitement et l'excision des papillomes doit être faite à de nombreuses reprises (Trottier and Burchell, 2009).

3.3. Conjonctivites à papillomavirus

Les papillomes conjonctivaux peuvent être causés par une infection par des LR-VPH comme VPH6 ou VPH11, ou encore par des HR-VPH comme VPH16 ou VPH33 (Trottier and Burchell, 2009). VPH6 et VPH11 sont les types les plus souvent retrouvés au niveau des yeux (Sjo et al., 2007). Ces lésions sont retrouvées majoritairement chez les hommes (Kalogeropoulos et al., 2012). L'infection des tissus conjonctifs se produit par auto-inoculation à partir des doigts contaminés aux yeux (Kalogeropoulos et al., 2012). Dans la majorité des cas, les papillomes au niveau des conjonctives sont des tumeurs bénignes (Sjo et al., 2007). Les papillomes peuvent disparaître spontanément mais la récurrence des conjonctivites causées par des VPH est un phénomène fréquent (Kalogeropoulos et al., 2012).

3.4. Epidermodysplasia verruciformis

L'EV est une maladie héréditaire récessive très rare (Cardoso and Calonje, 2011). Cette maladie entraîne une susceptibilité accrue aux β -VPH sans augmenter la susceptibilité envers d'autre pathogènes (Cardoso and Calonje, 2011). Des mutations entraîneraient un changement de cadre de lecture au niveau des gènes TMC6 ou TMC8 situés sur le chromosome 17 (Lazarczyk et al., 2009). Ces gènes codent pour des protéines transmembranaires du réticulum endoplasmique qui permettent de contrôler le transporteur de zinc et ainsi, de gérer le niveau cellulaire en zinc libre (Cardoso and Calonje, 2011). La perte de contrôle des niveaux de zinc libre cellulaire causerait l'hypersensibilité aux β -VPH en facilitant l'accès au zinc par les protéines virales (Lazarczyk et al., 2009). VPH5 et VPH8 sont les types les plus fréquents causant l'EV mais de nombreux autres types de VPH cutanées peuvent être impliqués (Cardoso and Calonje, 2011). Les patients avec EV présentent un risque accru de 30 à 50% de développer un carcinome sur les régions de la peau qui sont exposées au soleil (Cardoso and Calonje, 2011). La carcinogénèse des VPH dans le cas de l'EV ne nécessite pas l'intégration de l'ADN viral dans le génome de la cellule-hôte (Handisurya et al., 2009).

3.5. Verrues génitales

Certains LR-VPH muqueux causent des affections bénignes génitales. Les verrues génitales peuvent être planes, en forme de dôme, être lisses ou raboteuses (Trottier and Burchell, 2009). Les VPH6 et VPH11 sont responsables à eux seuls d'environ 90% des verrues génitales, appelées condylomata acuminata (Lowy and Schiller, 2006). Aux États-Unis, il est estimé qu'environ 1% des adultes actifs sexuellement présenteraient des verrues génitales causées par

le VPH (Trottier and Franco, 2006a). De plus, elles récidivent fréquemment suite aux traitements (Peh et al., 2002). Les verrues génitales sont particulièrement fréquentes chez les jeunes puisque jusqu'à 74% des infections incidentes sont parmi les 15 à 24 ans (Handisurya et al., 2009). La prévalence des verrues génitales a augmenté avec les années autant chez les adultes que chez les enfants (Trottier and Burchell, 2009).

3.6. Cancers

Il est estimé qu'environ 20% des cancers humains seraient causés par des agents infectieux et que 20 à 30% de ces cancers seraient dus à des infections par des VPH (zur Hausen, 2009). De plus, parmi les cancers d'origine infectieuse pour les femmes, 50% sont causés par le VPH, tandis que pour les hommes, seulement 4,3% de ces cancers découlent d'une infection au VPH (zur Hausen, 2009). Il est maintenant établi que l'infection par un HR-VPH est une cause nécessaire mais non suffisante pour le développement d'un cancer du col de l'utérus (Trottier and Franco, 2006a). Cependant, les HR-VPH sont en partie responsables du développement de nombreux autres cancers au niveau de la région anogénitale (pénis, vagin, vulve, anus, région périnéale) (Bravo et al., 2010). De plus, les VPH sont impliqués dans le développement de cancer au niveau du système oropharyngé (bouche, larynx, pharynx) (Badulescu et al., 2010). Cependant, alors que virtuellement 100% des cancers du col de l'utérus sont causés par le VPH, la relation de causalité entre le VPH et les autres types de cancers n'est pas aussi fermement établie. Les VPH peuvent causer jusqu'à 85% pour les cancers de l'anus et 10% des cancers du larynx (Trottier and Franco, 2006a). De plus, la présence de VPH a été détectée au niveau de cancers à d'autres sites anatomiques, dont les conjonctives, la vessie, l'urètre, et les poumons (Trottier and Burchell, 2009). À nouveau, la causalité du VPH pour ces cancers n'est pas aussi puissante que dans le cas du cancer du col de l'utérus (Trottier and Burchell, 2009). Aussi, des VPH cutanés sont présents dans environ 30% des cancers de la peau autre que le mélanome et ce pourcentage augmente à 80% chez les patients immunosupprimés (Harwood et al., 2004).

Les types oncogéniques sont majoritairement regroupés dans les familles $\alpha 9$ et $\alpha 7$ qui comprennent respectivement les types VPH16 et VPH18 (Schiffman et al., 2005). Ces familles se distinguent par leur taux de progression plus élevé suivant la persistance de l'infection (Schiffman et al., 2005). Le type VPH16 est le plus fréquemment retrouvé dans tous les cancers causés par les VPH et jusqu'à 50% des cancers du col de l'utérus sont causés par ce type (Burk et al., 2009). Comme les HR-VPH, les LR-VPH peuvent causer des lésions génitales persistantes mais ces lésions ne progressent pas vers le cancer (Schiffman et al., 2005).

4. Réponse immunitaire à l'infection au VPH

L'épidémiologie des VPH génitaux est caractérisée par un haut taux d'acquisition dans la population sexuellement active (Trottier and Franco, 2006a). La durée moyenne d'une infection au VPH, bien qu'elle varie selon les types, est d'environ 12 mois pour les femmes (Handisurya et al., 2009). Les infections par le VPH se résolvent plus rapidement chez les hommes, soit sur une période d'environ six mois (Burchell et al., 2010a). Après deux ans, environ 90% des infections ne sont plus détectables, autant chez les femmes que chez les hommes, ce qui suggère que le système immunitaire prend en charge l'infection et bâtit une réponse appropriée pour défendre l'organisme (Veldhuijzen et al., 2010a). La prévalence des infections au VPH varie selon l'âge chez la femme, avec une diminution chez les adultes de 30 ans et plus en comparaison aux adolescentes et aux jeunes adultes (Sellors et al., 2003). Cette diminution de la prévalence des infections par les VPH n'est pas reliée à des changements au niveau des comportements sexuels mais elle est plutôt expliquée par une réponse immunitaire contre les différents types de VPH (Trottier and Franco, 2006a). L'immunité innée et l'immunité adaptative sont impliquées dans la résolution des infections par les VPH (Moscicki, 2008).

La co-évolution des VPH avec leur hôte remonte à l'origine de l'espèce humaine (Ong et al., 1993). Les VPH ont développé de nombreuses stratégies afin d'échapper au système immunitaire humain (Denis et al., 2008). Le col de l'utérus est l'une des régions anatomiques de prédilection pour les infections au VPH tel qu'expliqué précédemment (Louie et al., 2009). De manière générale, la réaction immunitaire au niveau du col de l'utérus est faible afin de prévenir le développement de l'immunité contre le sperme, considéré comme étant étranger (Castle, 2004). Cette section expose quelques interactions entre les VPH et le système immunitaire inné et adaptatif humain.

4.1. Immunité innée

Les VPH contournent les mécanismes de l'immunité innée par plusieurs mécanismes (Moscicki, 2008). Une des premières lignes de défense de l'organisme est la sécrétion d'interféron par les cellules infectées afin de stimuler leur propre réponse immunitaire ainsi que celle des cellules avoisinantes (Terenzi et al., 2008). Cependant, dans le cas de l'infection par un VPH, la sécrétion d'interféron est grandement diminuée, ce qui leur permet de s'évader de la réponse immunitaire médiée par l'interféron (Tindle, 2002). Normalement, suite à la sécrétion d'interféron, une panoplie de protéines cellulaires sont exprimées (Tindle, 2002). Parmi ces protéines, la protéine p56 influence l'infection au VPH en se fixant à la protéine virale E1 et en inhibant son activité hélicase (Terenzi et al., 2008). La protéine E1 étant nécessaire pour la

réplication viral, l'inhibition de la sécrétion d'interféron permet d'empêcher la restriction de l'amplification virale par la protéine p56 (Terenzi et al., 2008).

Aussi, l'absence d'inflammation lors des infections au VPH permet de prévenir les signaux de dangers qui déclenchent l'activation du système immunitaire inné (Stanley, 2009). En effet, au cours du cycle de réplication du virus, très peu de cytokines inflammatoires sont sécrétées au site d'infection (Stanley, 2009). L'expression de TNF- α (tumor necrosis factor α) est grandement diminuée lors de l'infection au VPH (Goncalves and Donadi, 2004). Les cellules de Langerhans sont les CPA (cellules présentatrices d'antigène) les plus fréquentes des muqueuses génitales et elles présentent normalement les antigènes aux lymphocytes T auxiliaires au niveau des ganglions lymphatiques (Hibma, 2012). Cependant, lors de l'infection au VPH, la quantité de cellules de Langerhans est réduite par l'action de la protéine E6 qui interfère avec l'expression des molécules cellulaires d'adhésion (Kanodia et al., 2007). De plus, en absence de TNF- α , l'activation des CPA par les cellules de Langerhans est grandement réduite (Mota et al., 1999). De plus, lors de l'infection par un VPH, la protéine virale E5 réprime l'expression des molécules du CMH à la surface cellulaire, ce qui diminue la présentation antigénique (Venuti et al., 2011). De plus, la protéine virale E7 réduit la transcription des gènes TAP1 et LMP2, qui sont des protéines nécessaires à l'apprêtement et à la présentation des antigènes (Hibma, 2012). L'endocytose des VPH dans leurs cellules cibles ne déclenche pas l'activation des cellules de Langerhans (Tindle, 2002). Toutefois, les cellules NK (natural killer) détectent les cellules n'exprimant pas de molécules du CMH en surface et les dégradent par la sécrétion de perforines et de granzymes qui lysent les cellules infectées (Stanley, 2009). Les infections au VPH causant des papillomatoses respiratoires chez des enfants sont plus fréquentes et récurrentes lorsque les décomptes de cellules NK sont faibles (Stern et al., 2007).

Les VPH présents dans les cellules de la couche basale de l'épithélium se répliquent à un très faible taux afin d'éviter la reconnaissance par le système immunitaire (Doorbar, 2005). Les protéines virales impliquées dans la réplication de l'ADN sont exprimées en faible quantité et se retrouvent majoritairement au niveau du noyau de la cellule infectée, ce qui les rend inaccessibles pour la présentation par les molécules du CMH (Tindle, 2002). Les VPH ne sont pas des virus lytiques et la production des virions se produit uniquement dans les couches superficielles de l'épithélium (Bryan and Brown, 2000). Ceci assure que les protéines immunogéniques de la capsid virale ne soient présentées et qu'elles activent l'immunité adaptative au niveau de la couche basale (Moscicki, 2008).

4.2. Immunité adaptative, réponse à médiation cellulaire

La réponse immunitaire à médiation cellulaire est essentielle afin de permettre la résolution des infections par les VPH (Castle, 2004). Les CPA activent les lymphocytes T CD₄ auxiliaires (Tindle, 2002). Ces cellules T auxiliaires permettent la stimulation des CTL via leur réponse Th1 (Welters et al., 2006). Les réponses des CTL envers les protéines virales E2 et E6 sont déterminantes dans les infections par les HR-VPH (Stanley, 2009). De plus, la production de CTL dirigé contre certains épitopes de la protéine E7 est fortement associée à la régression de l'infection (Kadish et al., 2002). Aussi, la protéine E7 a la capacité d'induire la tolérance du système immunitaire en causant l'anergie des CTL dirigé contre E7 (Tindle, 2002). Les VPH détournent ainsi la réponse immunitaire en stimulant la réponse Th2 plutôt que la réponse Th1 (Kanodia et al., 2007). Puisque les cytokines produites lors de la différenciation en Th2 sont inhibitrices pour le développement de la réponse Th1, les VPH évitent la production des CTL nécessaires à la résolution de l'infection (Kanodia et al., 2007). En effet, dans les cas de cancers, les profils de cytokines correspondent davantage à la réponse Th2 (Kanodia et al., 2007).

4.3. Immunité adaptative, réponse humorale

Suite à une infection au VPH, des anticorps type-spécifiques contre la protéine L1 des VPH peuvent être détectés dans le sérum et au niveau des muqueuses infectées (Garcia-Chacon et al., 2009). L'infection naturelle au VPH n'entraîne pas la production d'anticorps contre la protéine L2 (Stanley, 2009). La réponse humorale aux infections au VPH se développe lentement et elle reste généralement faible (Castle, 2004). De plus, la séroconversion se produit seulement chez environ 60% des femmes et elle est plus rare chez les hommes (Veldhuijzen et al., 2010a). Les anticorps produits lors de l'infection initiale ne permettent pas la résolution de l'infection déjà acquise (Carter et al., 2000). En plus, ces anticorps ne protègent pas totalement contre une réinfection par le même type, en raison des faibles titres d'anticorps produits (Viscidi et al., 2005).

En fonction des types de VPH, des variations dans la réponse humorale sont observées (Castle, 2004). Premièrement, le temps de réaction du système immunitaire face aux infections au VPH varie selon le type rencontré (Ji et al., 2012). Il est possible de détecter des anticorps anti-VPH6 au même moment que la détection de l'ADN viral, ce qui suggère une réponse rapide du système immunitaire envers ce type (Carter et al., 2000). Cependant, dans le cas de VPH16 et de VPH18, la séroconversion n'est détectée que de 6 à 12 mois après la première détection d'ADN viral (Carter et al., 2000). Deuxièmement, des différences sont également observées au niveau de la persistance de la réponse humorale selon les différents types de VPH (Ji et al.,

2012). Les anticorps dirigés contre VPH6 semblent disparaître suite à la résolution de l'infection, tandis que les anticorps spécifiques contre VPH16 et VPH18 restent détectables lors des visites de suivi malgré l'absence de détection d'ADN viral (Carter et al., 2000). Cependant, les VPH ont la capacité de rester latent dans la couche basale de l'épithélium et de se réactiver (Doorbar, 2005). Les anticorps créés lors de l'infection initiale ne peuvent pas agir dans le cas d'une infection réactivée (Stanley, 2009).

Ces caractéristiques de l'immunité humorale s'appliquent dans le cadre de l'infection naturelle au VPH (Moscicki, 2008). Lors de la vaccination en prophylaxie contre les VPH, les anticorps produits sont présents en grande quantité et ils perdurent longtemps, pour tous les types de VPH inclus dans les vaccins (Moscicki, 2008).

5. Vaccination contre le VPH

Afin de réduire la fréquence de cancer du col de l'utérus, des vaccins contre certains types de VPH ont été développés. La compagnie Merck a mis au point le vaccin Gardasil™, permettant le développement d'une protection contre VPH16 et VPH18, qui causent 70% des cas de cancers du col de l'utérus, ainsi que contre VPH6 et VPH11 qui sont responsable d'environ 90% des verrues génitales (Etter et al., 2012). Par la suite, la compagnie GlaxoSmithKline a commercialisé le vaccin Cervarix™, protégeant contre VPH16 et VPH18 (Etter et al., 2012).

Les vaccins actuels contre le VPH doivent être administrés en prophylaxie puisqu'ils ne traitent pas les infections déjà établies (Castle et al., 2009). Les risques de transmission des VPH sont très élevés lors de l'acquisition d'un premier partenaire sexuel (Winer et al., 2008). La vaccination doit donc se faire avant le début de l'activité sexuelle pour atteindre son maximum d'efficacité. Au niveau mondial, les vaccins actuels sont autorisés dans plus d'une centaine de pays (Frazer, 2009).

Au Québec, la vaccination contre le VPH est gratuite pour les jeunes filles de 9 à 17 ans (Ministère de la santé et des services sociaux du Québec, 2013). La campagne de vaccination établie dans les écoles se fait au niveau de la quatrième année du primaire (environ 10 ans) pour les deux premières doses ainsi qu'au niveau de la troisième année du secondaire (environ 13 ans) pour la dernière dose (Ministère de la santé et des services sociaux du Québec, 2013). La vaccination gratuite contre le VPH est également offerte aux femmes de 18 à 26 ans ayant une atteinte de leur système immunitaire ou qui sont infectées par le VIH (Ministère de la santé et des services sociaux du Québec, 2013). Le vaccin est également recommandé pour les femmes de 14 à 26 ans ayant eu une infection antérieure au VPH ou présentant un test Pap anormal (Santé Canada and Agence de santé publique du Canada, 2010).

Comme le vaccin Gardasil™ vise également VPH6 et VPH11, il protège aussi les jeunes garçons contre les verrues génitales (Palefsky, 2010). De plus, la vaccination des garçons pourrait les protéger contre certains cancers, comme les cancers anaux et les cancers pénien, bien que ceux-ci soient plus rares que les cancers du col utérin (Palefsky, 2010). Au Québec, les garçons ne sont présentement pas inclus dans le programme gratuit de vaccination.

Les parents québécois semblent accepter la vaccination contre le VPH pour leurs filles. En 2007, 77.5% des parents prévoient faire vacciner leurs filles (Institut national de santé publique du Québec, 2012). La couverture vaccinale des jeunes filles au Québec est de plus de 75% (Institut national de santé publique du Québec, 2012). Ce pourcentage offrirait ainsi une protection indirecte aux garçons contre les types contenus dans les vaccins par réduction de l'incidence de ces types chez leurs partenaires (Institut national de santé publique du Québec, 2012). Cependant, ces observations sont effectuées seulement chez les hommes hétérosexuels. La vaccination des femmes ne permettrait pas de protéger les hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes (Palefsky, 2010). La vaccination des adultes est également cause de débat. Les vaccins actuels, agissant en prophylaxie, ne sont pas aussi efficaces pour des femmes plus âgées qui sont plus à risques d'avoir déjà rencontré les types de VPH couverts par les vaccins (Castle et al., 2009).

La vaccination contre le VPH n'abolit pas la nécessité des tests Pap de dépistage. En effet, les vaccins permettent uniquement une protection contre les types à haut-risque 16 et 18. Bien que ces deux types soient les plus fréquents, plusieurs autres types à haut-risque pourraient causer un cancer (Moscicki, 2008). Les intervenants doivent donc rester vigilants, car l'utilisation des vaccins en prophylaxie pourrait entraîner un faux sentiment de sécurité chez les jeunes femmes (Castle et al., 2009). Se sentant protégées, certaines femmes pourraient décider de ne pas poursuivre les tests de dépistage annuels recommandés (Castle et al., 2009). Une diminution de la participation au programme de dépistage pourrait anéantir les effets positifs de la vaccination (Goldhaber-Fiebert et al., 2008)

Le vaccin vise à produire une immunité envers la protéine L1 de la capsid virale. Les protéines L1 recombinantes sont produites dans des cellules de levures ou encore dans des cellules d'insectes (Moscicki, 2008). La protéine L1 a la capacité de s'auto-assembler de façon spontanée, formant ainsi des VLP (Moscicki, 2008). Les VLP produits ne sont pas infectieux puisqu'ils ne contiennent pas d'ADN viral et ils sont hautement immunogéniques (Govan, 2008). Des VLP des différents types sont donc combinés afin de former les vaccins. La réponse immunitaire envers les VLP contenus dans le vaccin produit une grande quantité d'anticorps neutralisants (Govan, 2008). Les niveaux d'anticorps produits par la vaccination peuvent atteindre plus de 60 fois ceux atteints lors de l'infection naturelle à VPH (Moscicki, 2008). La fixation des anticorps sur les virus permet de bloquer les changements conformationnels de la capsid virale qui sont nécessaires pour permettre l'internalisation du virus dans la cellule hôte

(Frazer, 2009). Les vaccins produisent des anticorps neutralisants qui peuvent persister jusqu'à 10 ans (Franco et al., 2009). De plus, des réactions croisées ont été observées avec l'utilisation du vaccin Cervarix™ envers les types VPH-31 et VPH-45 (Harper et al., 2006).

Les vaccins actuels, bien que très efficaces, peuvent encore être améliorés. Afin de créer des vaccins dirigés contre un plus grand nombre de types, des études sont menées sur l'utilisation de la protéine mineure L2 de la capsid. Les anticorps anti-L2 semblent entraîner de plus nombreuses réactions croisées que les anticorps anti-L1, augmentant ainsi le spectre d'activité du vaccin (Roden et al., 2000). Les anticorps dirigés contre la protéine L2 causent un encombrement stérique qui force le virion à se décrocher de la cellule-cible et empêche ainsi la liaison au deuxième récepteur (Day et al., 2008a).

L'injection intramusculaire ainsi que l'administration en trois doses des vaccins rend leur utilisation difficile dans les pays en voie de développement (Moscicki, 2008). Les coûts reliés au personnel qualifié pour l'administration du vaccin et au maintien de la chaîne de froid sont trop onéreux (Moscicki, 2008). Des vaccins lyophilisés, afin d'éviter la nécessité d'une chaîne de froid, pourraient aider à la distribution du vaccin au niveau mondial (Moscicki, 2008). Des vaccins oraux ou en vaporisateur nasal sont en cours d'étude. L'administration orale des VLP semble peu immunogénique et nécessiterait une trop grande quantité de VLP pour être efficace (Moscicki, 2008). Par contre, l'administration du vaccin via les voies nasales semble entraîner des niveaux d'anticorps similaires à l'injection intramusculaire (Nardelli-Haefliger et al., 2005)

6. Prévalence des infections génitales au papillomavirus dans la population

Les quarante types qui ont la capacité d'infecter les muqueuses anogénitales sont réparties dans 15 espèces des alpha-VPH (Castle et al., 2006). L'infection par le VPH est très courante dans la population générale et est considérée comme l'infection transmise sexuellement la plus fréquente (Schiffman et al., 2005). Environ 70% de la population sera infectée par le VPH à un moment de sa vie mais la majorité de ces infections vont se résoudre spontanément (Institut national de santé publique du Québec, 2012). Le dénombrement des infections au VPH est complexe à effectuer puisque la majorité des infections sont asymptomatiques et qu'elles ne sont pas incluses dans la liste des maladies à déclaration obligatoire (MADO) (Institut national de santé publique du Québec, 2012).

La prévalence des infections au VPH varie selon l'âge. Les adolescents et les jeunes adultes présentent un taux élevé d'infection au VPH (Burchell et al., 2006d). Au Canada, la prévalence d'infection la plus élevée se retrouve chez les femmes de moins de 20 ans (Tricco et al., 2011). Dans une étude ontarienne, la prévalence des infections par des HR-VPH variaient de 3.4 à 24.0 % selon les groupes d'âge (Sellors et al., 2000). Aussi, 24% des femmes de 20 à 24

ans étaient infectées par un HR-VPH (Sellors et al., 2000). Aux États-Unis, la prévalence des infections par les LR-VPH causant les verrues génitales, les VPH6 et VPH11, est d'environ 1% pour les adultes sexuellement actifs (Trottier and Franco, 2006a). Un taux élevé d'infection s'explique par de fréquents changements de partenaires et de relations concurrentes chez les jeunes (Curtis and Sutherland, 2004). La prévalence de l'infection au VPH diminue avec l'âge, suite possiblement à l'acquisition d'une immunité spécifique (Trottier and Franco, 2006a). De plus, avec l'âge, la diminution du nombre de nouveaux partenaires réduit l'exposition au virus (Trottier et al., 2010). Cependant, chez les femmes, une augmentation du taux de prévalence est observée autour de l'âge de 55 ans (Institut national de santé publique du Québec, 2012). Cette hausse pourrait être expliquée par l'affaiblissement du système immunitaire et par une perte de l'immunité spécifique contre certains types de VPH, qui permettrait la réactivation d'infection latente acquise antérieurement (Trottier et al., 2010). Cette augmentation de prévalence pourrait également s'expliquer par l'acquisition de nouveaux partenaires sexuels (Burchell et al., 2006d). Un autre groupe a constaté que la prévalence des HR-VPH augmentait autour de la ménopause alors que la prévalence des LR-VPH continuait à diminuer avec l'âge (Munoz et al., 2004a). Ces observations pourraient être dues à des différences de la réponse immunitaire contre les LR-VPH et les HR-VPH (Munoz et al., 2004a).

Chez les hommes, la prévalence des infections à VPH ne diminue pas avec l'âge et reste constante (Institut national de santé publique du Québec, 2012). Les hommes ayant des relations sexuelles avec des hommes ont une incidence plus élevée d'infection au VPH que les hommes ayant des relations sexuelles avec des femmes (Institut de la statistique du Québec, 2010). De plus, la prévalence d'infection au VPH est plus élevée pour les hommes ayant des relations bisexuelles que pour les hommes ayant des relations sexuelles exclusivement avec des femmes ou avec des hommes (Institut national de santé publique du Québec, 2012).

L'incidence des infections au VPH est plus fréquente chez les couples récemment formés que chez les couples monogames depuis une longue période (Burchell et al., 2010a). Lors d'une étude sur des couples hétérosexuels récemment formés, la concordance d'infection pour au moins un type de VPH a été retrouvée chez 41% des couples, ce qui est largement supérieur aux taux attendus par hasard (Burchell et al., 2010a). En effet, les risques d'infection sont plus importants lors de relations sexuelles avec un nouveau partenaire (Winer et al., 2003a). De manière générale, les types HR-VPH semblent avoir un taux d'incidence plus élevé que les types LR-VPH (Trottier and Franco, 2006a).

7. Transmission des papillomavirus

En 1971, le groupe d'Oriel a publié un article portant sur la transmission des verrues génitales. Ce travail a démontré que 64% des partenaires d'individus avec des verrues génitales manifestaient par la suite des verrues similaires après une période d'incubation de 2.8 mois (Oriel, 1971). Plus tard, des modèles stochastiques ont démontré que la probabilité de transmission du VPH par acte coïtal chez des couples nouvellement formés variait de 5 à 100% avec une médiane de 40% (Burchell et al., 2006a). Un autre groupe a estimé le taux de transmission dans leurs modèles mathématiques à 60% afin que les valeurs prédictives ressemblent aux valeurs de séroprévalence observées dans la population en Finlande (Barnabas et al., 2006). Ce taux de transmission estimé est comparable à celui identifié en 1971 pour la transmission des verrues génitales (Oriel, 1971). Ces statistiques montrent que le VPH a un taux de transmission très élevé, qui peut être de plusieurs fois supérieur aux infections virales transmises sexuellement comme le VIH ou HSV de type 2 (Burchell et al., 2006a). Ce taux de transmission s'apparente davantage à celui des infections bactériennes transmises sexuellement (Burchell et al., 2006d)

La majorité des études sur la transmission du VPH ont porté sur la concordance de l'infection selon les types chez les deux partenaires (Veldhuijzen et al., 2010a). Les taux de concordance par type étaient plus élevés dans les couples que ce qui pourrait être attendu statistiquement selon les taux de prévalence par type dans la population générale (Bleeker et al., 2005c).

7.1. Mode de transmission des VPH

7.1.1. Transmission sexuelle

Le mode de transmission principal des VPH anogénitaux se fait par relations sexuelles avec pénétration (Veldhuijzen et al., 2010a). La transmission se produit autant par les rapports sexuels vaginaux que anaux (Burchell et al., 2006d). Les α -VPH se propagent de manière efficace lors de relations sexuelles via des microabrasions sur les muqueuses qui permettent l'établissement de l'infection dans la couche basale de l'épithélium (Schiffman et al., 2007). Cependant, la transmission des VPH peut également se faire lors de contacts sexuels sans pénétration, quoique de façon moins efficace (Winer et al., 2003a). Dans une étude prospective sur la transmission, il a été observé que la transmission des VPH était plus efficace de la femme à l'homme que de l'homme à la femme (Hernandez et al., 2008b). La transmission de l'homme vers la femme s'effectue plus efficacement en présence de lésions planes au niveau du pénis,

même quand elles sont invisibles (Veldhuijzen et al., 2010a). Plusieurs événements de transmission de VPH peuvent se produire entre deux partenaires sexuels (Hernandez et al., 2008b). Les sites d'infection principaux pour les VPH chez la femme sont le col de l'utérus et l'anus tandis que pour l'homme le gland du pénis est le site privilégié (Hernandez et al., 2008b). L'infection vaginale à VPH semble précéder l'infection du col de l'utérus et il a été suggéré que le vagin agisse à titre de réservoir pour les infections du col de l'utérus (Castle, 2004). Aussi, il semblerait y avoir des différences de tropisme entre les LR-VPH qui viseraient majoritairement les muqueuses du vagin et les HR-VPH qui infecteraient davantage le col de l'utérus (Castle et al., 2006).

Les VPH anogénitaux peuvent se transmettre des organes génitaux d'un partenaire à ses propres mains et également aux mains du partenaire (Hernandez et al., 2008b). Aussi, ils peuvent se transmettre lors de relations orales-génitales. Les relations sexuelles orales non protégées ont été associées avec la détection de types de VPH anogénitaux au niveau de la bouche (Coutlee et al., 1997). De plus, des infections à VPH ont été détectées au niveau des mamelons et des auréoles, bien que l'origine de ces infections reste à démontrer (Yoshida et al., 2011).

7.1.2. Transmission mère-enfant

Outre la transmission sexuelle des VPH muqueux, d'autres voies de transmission sont possibles. Une méta-analyse regroupant de nombreuses études a suggéré qu'il pouvait y avoir transmission de VPH de la mère à l'enfant (Merckx et al., 2012). Cette transmission verticale pourrait se produire durant la grossesse via le cordon ombilical ou le liquide amniotique, ou encore durant l'accouchement lors du passage du bébé par le col de l'utérus et le vagin (Rombaldi et al., 2008). La transmission pourrait également avoir lieu lors des soins apportés à l'enfant par sa mère après la naissance (Merckx et al., 2012). Les données sur la transmission des VPH aux bébés sont contradictoires. Un groupe a montré que les infections orales à VPH des deux parents ne se transmettaient pas au bébé (Smith et al., 2004a). Cependant, une autre équipe a montré que jusqu'à 29% des bébés sont infectés par le VPH lorsque les parents sont également infectés dans l'un des prélèvements, soit oral ou génital (Rintala et al., 2005). Une méta-analyse a conclu que le risque d'infection du bébé augmente de 33% lorsque la mère est infectée par le VPH et cette augmentation du risque atteint 45% lorsque l'analyse est restreinte aux types à haut risque (Merckx et al., 2012). Toutefois, cette étude comprenait des participantes qui étaient particulièrement à risque d'être infectées par le VPH, ce qui pourrait surévaluer la transmission au nouveau-né (Merckx et al., 2012). Aussi, il est possible que l'ADN de VPH

détecté chez les bébés ne soit que des inoculations temporaires plutôt que de réelles transmissions verticales (Park et al., 2012).

La transmission verticale pourrait survenir lors de l'allaitement. Cependant, malgré que de l'ADN de VPH ait été détecté dans des échantillons de lait maternel, il semblerait que ce risque soit extrêmement faible (Yoshida et al., 2011). De plus, l'origine de la présence de VPH dans le lait maternel n'est pas encore clarifiée (Yoshida et al., 2011).

L'infection au VPH chez l'enfant peut causer certaines pathologies, dont les verrues communes qui sont sans danger, mais également la papillomatose respiratoire récurrente qui peut mettre l'enfant en péril en obstruant les voies respiratoires (Syrjanen and Puranen, 2000). La prévalence de l'infection au VPH chez les bébés diminue dans les premiers mois et augmente par la suite pour culminer au sixième mois (Rintala et al., 2005). Le sixième mois de vie est en outre caractérisé par la prise en charge de l'immunité par l'enfant qui n'est plus protégé par les anticorps maternels (Yoshida et al., 2011).

7.1.3. Autres modes de transmission

Les VPH cutanés nécessitent généralement une microlésion afin d'infecter la peau (Cardoso and Calonje, 2011). La transmission des VPH cutanés causant les verrues communes et les verrues plantaires peut se faire soit par contact direct entre deux personnes d'un épithélium infecté et un épithélium sain blessé ou encore par transmission indirecte par des surfaces ou des objets contaminés (Syrjanen and Puranen, 2000). De plus, la transmission peut se faire par auto-inoculation d'un site infecté à un site non-infecté sur une même personne (Syrjanen and Puranen, 2000).

Les VPH anogénitaux peuvent également être transmis par des fomites. Par exemple, les infections par les types de VPH responsables des verrues génitales peuvent se propager au niveau du col de l'utérus lors de l'utilisation des tampons (Moscicki et al., 2001).

7.2. Facteurs influençant la transmission des infections génitales au VPH

La compréhension des facteurs influençant la transmission des infections génitales à VPH facilitera la mise en place de programme de prévention des infections. Dans cette section seront exposés les principaux facteurs humains, comportementaux et génétiques, qui influent sur l'exposition des individus aux VPH ainsi que sur les facteurs viraux qui influencent la dynamique de transmission des VPH.

7.2.1.Facteurs comportementaux et génétiques influençant l'exposition au VPH

7.2.1.1. L'acquisition de nouveaux partenaires sexuels, le nombre de partenaires sexuels et les caractéristiques des partenaires sexuels.

La présence d'un nouveau partenaire sexuel semble être le facteur de risque d'acquisition d'une infection au VPH le plus important (Moscicki et al., 2001). Les risques d'acquisition d'un nouveau type de VPH sont plus élevés lors d'activités sexuelles avec un nouveau partenaire qu'avec un partenaire régulier (Winer et al., 2003a). L'acquisition de nouveaux partenaires augmente la fréquence d'exposition aux VPH, comme aux autres ITS (Burchell et al., 2006d). Une association a été démontrée entre le risque d'acquisition d'une infection incidente à VPH par les jeunes femmes et le nombre de nouveaux partenaires sexuels (Burk et al., 1996). L'association est d'autant plus forte que le nombre de partenaires augmente (Burk et al., 1996). De plus, chez les femmes, les relations sexuelles avec leur premier partenaire masculin entraînent un risque élevé d'acquisition de VPH (Winer et al., 2008). L'association entre la prévalence des infections à VPH et le nombre total de partenaires sexuels semble être plus marquée chez les femmes que chez les hommes (Burchell et al., 2006d).

Les caractéristiques des partenaires sexuels influencent le risque d'acquisition de VPH, surtout pour les femmes (Burchell et al., 2006d). La prévalence des infections au VPH est plus élevée lorsque les femmes rapportent que leur partenaire a eu un nombre élevé de partenaires sexuels ou lorsque ce nombre était inconnu (Winer et al., 2003a). De plus, le risque de transmission du VPH de l'homme à la femme semble être dû majoritairement aux expériences sexuelles précédentes de l'homme plutôt qu'à son âge (Winer et al., 2008).

Selon des études de population, la fréquence d'acquisition de nouveaux partenaires serait plus élevée chez les jeunes et chez les hommes (Curtis and Sutherland, 2004). Cependant, il existe une grande variabilité dans la population mondiale des patrons de fréquentation en fonction des groupes d'âges, des croyances religieuses et des différentes ethnies (Doherty et al., 2005). Cette variabilité peut expliquer les différences de prévalence du VPH dans les divers groupes de population selon les régions du monde étudiées (Burchell et al., 2006d).

7.2.1.2. Relations concurrentes et relations monogames rapprochées

Lorsque des relations avec des partenaires sexuels différents s'entrecoupent dans le temps, elles sont qualifiées de concurrentes (Doherty et al., 2005). Les relations concurrentes semblent être plutôt fréquentes. Aux États-Unis, il a été estimé qu'entre 32 à 54% des adolescents et entre 12 à 40% des adultes présentent ce type de comportement sexuel

(Drumright et al., 2004). De plus, les activités sexuelles d'un partenaire ne sont pas nécessairement connues. Or, un plus haut taux d'acquisition d'ITS est associé à l'absence de connaissance du comportement sexuel de son partenaire (Drumright et al., 2004). Le fait d'avoir un partenaire sexuel qui, sur une même période de temps, présente des activités sexuelles avec d'autres partenaires augmente les risques d'acquisition d'ITS, dont les infections au VPH (Burchell et al., 2006d).

En plus des relations concurrentes, avoir des partenaires sexuels consécutivement à intervalles rapprochés mais sans chevauchement dans le temps augmente également le risque de transmission du VPH (Burchell et al., 2006d). La majorité des infections au VPH sont éliminées par l'hôte sur une période de dix-huit mois (Bulkmans et al., 2007). Il a été évalué aux États-Unis que la durée moyenne entre la fin d'une relation et l'acquisition d'un nouveau partenaire est de 8 mois chez les adolescentes de 15 à 19 ans, de 11 mois chez les femmes dans la vingtaine et de 18 mois pour les femmes de 30 à 44 ans (Kraut-Becher and Aral, 2003). Ces délais ne permettent donc pas l'éradication de toutes les infections au VPH acquises avec le partenaire précédent et permettant ainsi la transmission de l'infection au nouveau partenaire (Burchell et al., 2006d).

7.2.1.3. Utilisation du condom

L'utilisation du condom entraîne une protection très efficace contre de nombreuses ITS. Cependant, son efficacité n'est pas absolue. Par exemple, dans le cas du VIH, son utilisation permet de réduire d'environ 87% la transmission du virus pour les couples hétérosexuels sérodiscordants lorsque le condom est utilisé lors de toutes les relations sexuelles (Davis and Weller, 1999). Dans le cas du virus herpès simplex type 2, le port du condom permettrait de réduire les risques d'infection pour la femme lorsqu'il est utilisé pour au moins 25% des actes sexuels, tandis qu'aucun effet n'a été observé pour l'homme (Wald et al., 2001).

Dans le cas des VPH, le condom semble protéger contre l'acquisition de nouveaux types. Une étude américaine avait pour but principal de déterminer l'effet de l'utilisation du condom chez des couples récemment formés sur la transmission des VPH de l'homme à la femme dans une population de femmes d'âge universitaire (Winer et al., 2006). Comparativement à l'utilisation du condom lors de moins de 5% des relations sexuelles, son utilisation 100% du temps réduit de 70% les probabilités d'acquisition de nouveaux types de VPH, tandis que son utilisation 50% du temps réduit de 50% les risques d'acquisition de VPH pour la femme (Winer et al., 2006). Aussi, les couples pour lesquels il y a transmission de VPH ont tendance à utiliser davantage des méthodes contraceptives sans barrière comparativement aux couples sans événement de transmission (Hernandez et al., 2008b). Un autre groupe a montré que la fréquence de résolution

des infections au VPH est largement supérieure lorsque le couple utilise le condom, soit de 23% en comparaison à 4% sans son utilisation (Hogewoning et al., 2003). Il a également été démontré que l'utilisation du condom en tout temps permettait de réduire les risques d'acquisition de verrues génitales pour les deux sexes (Wen et al., 1999).

Malgré le port du condom, les VPH peuvent être transmis de régions génitales qui ne sont pas couvertes par le condom ou encore par le sexe oral ou par la présence de VPH sur les doigts et les ongles (Burchell et al., 2006d). En raison de la plus grande surface génitale protégée chez l'homme que chez la femme, l'utilisation du condom semble offrir une protection plus efficace pour l'homme (Manhart and Koutsky, 2002).

De plus, certaines études ont étudié l'efficacité du condom sur la régression et la résolution des infections au VPH. Dans une étude, les lésions planes au niveau du pénis ont régressé plus rapidement lorsque les hommes utilisaient le condom pour les couples concordants, pour les types responsables des lésions, tandis que cet effet n'était pas observé pour les couples discordants (Bleeker et al., 2005a). La période de résolution plus longue en cas d'absence d'utilisation du condom pourrait être due à la réinfection régulière du pénis par les VPH de leur partenaire; le condom bloquerait la transmission des VPH et empêcherait la formation de nouvelles lésions au niveau du pénis (Bleeker et al., 2005a).

Certaines études ont montré étonnement que l'utilisation du condom entraînerait une augmentation des risques d'acquisition des VPH (Kjaer et al., 1997). Les motivations ayant justifié à l'utilisation du condom peuvent expliquer ces résultats, selon que l'utilisation vise la contraception ou la protection contre les ITS (Richardson et al., 2000). Dans ces études, le port du condom était plus fréquent lors d'une relation sexuelle avec un partenaire considéré risqué, comme un nouveau partenaire, ou lorsque l'historique d'ITS du partenaire était inconnue, que lors de relations avec un partenaire régulier monogame (Aral and Peterman, 2002). L'association entre l'utilisation du condom et les relations sexuelles plus à risque de transmettre le VPH peut expliquer ces données contradictoires (Manhart and Koutsky, 2002).

Le port du condom offre une protection partielle seulement contre la transmission des VPH en diminuant la surface de contact des muqueuses. Ceci pourrait entraîner une réduction de la quantité de virus transmis ainsi qu'une diminution du nombre de sites infectés (Manhart and Koutsky, 2002). Le port du condom favoriserait également la résolution des infections déjà acquises (Bleeker et al., 2005a). Malgré une protection partielle apportée contre les VPH, l'utilisation du condom reste très efficace contre de nombreuses ITS, entre autre le VIH, et son utilisation doit être encouragée surtout lors de relations sexuelles avec de nouveaux partenaires.

7.2.1.4. Âge lors du début de l'activité sexuelle et intervalle entre les premières relations sexuelles et les premières menstruations

Plusieurs études ont porté sur l'âge des jeunes femmes lors de leur première relation sexuelle, ou encore sur l'intervalle entre les premières menstruations et le début de l'activité sexuelle par rapport à la prévalence des infections au VPH. Selon ces études, le début précoce des relations sexuelles augmente la prévalence des infections au VPH (Kahn et al., 2002b). Cependant, les explications de ce phénomène ne sont pas unanimes. Cette augmentation pourrait être expliquée par des facteurs biologiques, des facteurs comportementaux ou une combinaison des deux (Kahn et al., 2002a). Cette prévalence élevée pourrait être due au manque de maturité des organes génitaux des adolescentes et des jeunes femmes pour lesquelles la zone de transformation du col utérin se situe alors au niveau de l'exocol, ce qui la rend plus vulnérable car plus exposée (Kahn et al., 2002b). De plus, il est courant qu'à l'adolescence, les premiers cycles menstruels soient anovulants (Pocock Gillian and Richards Christopher D, 2004). Environ de six à huit mois après les premières menstruations, les premiers cycles ovulatoires sont présents (Pocock Gillian and Richards Christopher D, 2004). Ces cycles sont caractérisés par l'absence de sécrétion de progestérone cyclique par le corps jaune, qui se forme uniquement en cas d'ovulation (Pocock Gillian and Richards Christopher D, 2004). En absence de la progestérone, les cellules sécrétrices du col de l'utérus produisent moins de mucus qui agit normalement à titre de barrière afin de bloquer l'accès du VPH à la muqueuse (Pocock Gillian and Richards Christopher D, 2004).

Les jeunes femmes dont l'activité sexuelle a débuté tôt après leur première menstruation seraient plus enclines à avoir des comportements sexuels risqués et de fréquenter des partenaires qui présentent plus de risque de leur transmettre des ITS (Kahn et al., 2002a). Aussi, les adolescentes ayant débuté les relations sexuelles tôt auraient tendance à changer plus fréquemment de partenaires et à avoir un plus grand nombre total de partenaires sexuels (Trottier and Franco, 2006a). Cependant, une autre étude a suggéré à l'inverse que les risques d'infection au VPH soient plus élevés lorsque la période entre la première relation sexuelle et la première menstruation augmente (Collins et al., 2005). Ceci serait expliqué par le fait que les femmes plus âgées fréquentent habituellement des hommes plus âgés qui ont davantage de risques d'être infectés par le VPH, car plus expérimentés (Collins et al., 2005).

7.2.1.5. Circoncision

La circoncision permet de réduire les risques d'acquisition de certaines ITS chez les hommes, notamment le VIH, mais également contre les différents types de VPH génitaux

(Tobian et al., 2009). Les hommes circoncis présentent une prévalence d'infection par les HR-VPH d'environ 35% inférieure aux hommes non-circoncis (Tobian et al., 2009). Également, les hommes non-circoncis sont plus à risque d'acquérir un HR-VPH au niveau de la couronne du gland ainsi que d'être infecté par de multiples types de VPH que les hommes circoncis (Hernandez et al., 2008a). La circoncision du partenaire permettrait de diminuer la prévalence d'infection par les HR-VPH et par les LR-VPH d'environ 28% chez les femmes (Wawer et al., 2011). De plus, la résolution des infections au HR-VPH était plus fréquente pour ces femmes, suite à la réduction de l'exposition du pénis au VPH, ce qui diminue les chances de réinfection par le même type (Wawer et al., 2011). Cependant la résolution plus fréquente des infections à HR-VPH n'est pas confirmée par toutes les études (Albero et al., 2012). Les hommes circoncis, ayant une prévalence plus faible d'infection par les HR-VPH, diminuent l'exposition de leurs partenaires sexuelles (Auvert et al., 2009).

7.2.1.6. Nombre de grossesses

Une augmentation de la prévalence des VPH a été observée pour les femmes enceintes (Munoz et al., 2004a). Lors de la grossesse, la zone de transformation du col de l'utérus est exposée, ce qui le rend plus susceptible aux infections à VPH (Castle, 2004). Cette augmentation de prévalence pourrait aussi être due à une augmentation de la charge virale en réponse aux changements hormonaux lors de la grossesse (Munoz et al., 2004a). Le système immunitaire est affecté lors de la grossesse afin de permettre la tolérance du fœtus (Tilburgs and Strominger, 2013). Ces modifications du système immunitaire rendent les femmes enceintes plus susceptibles aux infections virales et bactériennes (Sethi et al., 1998). Les taux d'anticorps contre VPH16 sont plus élevés pour les femmes qui ne sont pas enceintes (Sethi et al., 1998). Cependant, certains rapportent que les femmes n'ayant pas eu d'enfants sont plus à risque d'infection au VPH que les femmes ayant eu des enfants (Vaccarella et al., 2006). Ceci pourrait être expliqué par le fait que les femmes sans enfant, dans cette étude, étaient significativement plus jeunes et étaient plus actives sexuellement que les femmes ayant eu des enfants, ce qui augmenterait leur probabilité d'infection au VPH (Vaccarella et al., 2006). Le nombre de grossesse a cependant été associé à une protection contre les infections par les LR-VPH (Munoz et al., 2004a). De plus, une augmentation de la résolution des infections a été observée après l'accouchement (Nobbenhuis et al., 2002). Par ailleurs, l'âge lors de la première grossesse ne semble pas être relié à une prévalence d'infection plus élevée (Munoz et al., 2002).

7.2.1.7. Contraceptifs oraux

La relation entre la prise de contraceptifs oraux et les risques d'acquisition de nouveaux types de VPH n'est pas encore clarifiée. Il a été proposé qu'ils soient un facteur de risque d'infection (Winer et al., 2003a), qu'aucune relation causale ne soit présente (Green et al., 2003) ou encore que l'utilisation des contraceptifs oraux offre un effet protecteur (Moscicki et al., 2001). Cependant, l'utilisation des contraceptifs oraux est associée à des facteurs qui peuvent être confondants tels que l'âge, le nombre de partenaires sexuels ou les comportements sexuels risqués (Veldhuijzen et al., 2010a).

L'utilisation des contraceptifs oraux est fréquente chez les adolescentes et les jeunes femmes en raison de leur efficacité contre les grossesses non-désirées (Fédération du Québec pour le planning des naissances, 2005). Aux États-Unis, il est estimé que seulement la moitié des jeunes femmes de 18 à 29 ans ne prévoyant pas être enceintes prochainement utilisent ce mode de contraception (Frost et al., 2012). Toutefois, la prise de contraceptifs hormonaux semble entraîner une diminution de l'utilisation du condom dans les couples (Goldstein et al., 2013). Cette diminution entraîne une susceptibilité accrue aux ITS, dont les VPH, puisque les adolescents et les jeunes adultes semblent en général sous-estimer leur risque réel d'acquisition d'ITS (Goldstein et al., 2013)

D'un point de vue biologique, l'utilisation de contraceptifs oraux favorise l'ectopie au niveau du col de l'utérus, ce qui expose les cellules de la jonction pavimento-cylindrique de la zone de transformation à l'infection par les VPH (Green et al., 2003). De plus, l'ectopie semblerait être plus fréquente lorsque les contraceptifs oraux sont utilisés sur une longue période (Critchlow et al., 1995).

7.2.1.8. Tabagisme, consommation d'alcool et de drogues

Le tabagisme a été associé à l'acquisition de nouveaux types de VPH et entraînerait une baisse de l'immunité innée et adaptative (Veldhuijzen et al., 2010a). En effet, le tabagisme entraîne une diminution du nombre des cellules de Langerhans (Castellsague and Munoz, 2003). Cet affaiblissement du système immunitaire entraîne une susceptibilité accrue à l'infection au VPH ainsi qu'à la réactivation des infections non-résolues (Sopori, 2002). Cependant, le tabagisme est également associé avec des comportements sexuels risqués tel le début des relations sexuelles avant l'âge de 16 ans, le plus grand nombre de partenaires et un plus grand nombre de grossesses (Critchlow et al., 1995). Pourtant, une étude a obtenu une association positive entre le tabagisme et l'acquisition d'infection au VPH, après avoir contrôlé pour les comportements sexuels à risques (Winer et al., 2003a).

La consommation d'alcool a également été associée à une augmentation des taux d'incidence des infections à VPH (Veldhuijzen et al., 2010a). Cette association est par contre probablement reliée aux activités sexuelles risquées (Veldhuijzen et al., 2010a). Les relations sexuelles non-protégées sont plus fréquentes chez les individus consommant régulièrement de l'alcool (Veldhuijzen et al., 2010a). Une association significative entre la consommation de marijuana et l'augmentation des risques d'acquisition de VPH a été démontrée en analyse univariée pour les facteurs de risques d'infection incidente à VPH (Moscicki et al., 2001). Cependant, cette association ne perdurait pas après l'analyse multivariée contrôlant pour tous les facteurs de risques (Moscicki et al., 2001).

7.2.1.9. Présence d'infections transmises sexuellement autre que les VPH

Il est difficile à démontrer que les ITS autres que les VPH agissent comme des co-facteurs de la transmission du VPH, puisque les voies de transmission sexuelle sont très semblables. Il est alors nécessaire de déterminer si ces associations sont expliquées par des causes biologiques ou si elles reflètent seulement des comportements sexuels à risque (Verhoeven et al., 2004). Les co-infections par d'autres ITS peuvent également causer des lésions au niveau des muqueuses et ainsi permettre l'accès au VPH à la couche basale de l'épithélium (Veldhuijzen et al., 2010a).

7.2.1.9.1. *Chlamydia trachomatis*

Chlamydia trachomatis (CT) est l'ITS bactérienne la plus fréquente au Canada (Santé Canada, 2004), ainsi que mondialement (Deluca et al., 2011). Cette infection est considérée comme silencieuse, puisque les infections sont asymptomatiques dans plus de 50% des cas chez les hommes et jusqu'à 70% des cas chez les femmes (Santé Canada, 2004). CT peut infecter les cellules épithéliales des muqueuses ainsi que les macrophages (Simonetti et al., 2009). Chez la femme, l'infection génitale à CT provoque une atteinte inflammatoire pelvienne lorsque l'infection n'est pas traitée (Santé Canada, 2004). En réponse à l'infection à CT, la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires dont IL-1, IL-8 et les facteurs de croissance de colonies des macrophages et des granulocytes se produit au niveau des muqueuses génitales, favorisant l'inflammation (Silins et al., 2005). La prévalence des infections à CT est plus élevée chez les femmes infectées par le VPH (Deluca et al., 2011). La prévalence des infections au VPH est environ 160% plus élevée chez les femmes ayant une infection à CT (Verhoeven et al., 2004).

Les infections à CT ainsi qu'au VPH sont cependant des marqueurs de comportements sexuels à risque (Verhoeven et al., 2004).

7.2.1.9.2. Virus herpès de type II

Les virus herpès de type 2 (HSV-II) se propagent principalement lors de relations sexuelles (Johnston et al., 2011). Il est estimé dans la population générale que la prévalence des infections à HSV-II varie de 12 à 15% (Novak and Peng, 2005). Cependant, dans certaines régions du monde, la prévalence des infections à HSV-II peut atteindre 80% (Johnston et al., 2011). De plus, la séroprévalence des infections à HSV-II est deux fois plus élevée pour les femmes que pour les hommes (Johnston et al., 2011). HSV-II a la capacité de causer une infection récurrente en se créant des réservoirs au niveau des cellules neuronales et de réactiver l'infection productive périodiquement, ce qui lui permet de persister malgré la réponse immunitaire (Novak and Peng, 2005).

L'infection par HSV-II augmente les risques d'infection des muqueuses anogénitales aux infections à VPH chez les femmes (Moscicki et al., 2001). HSV-II, comme les VPH, infecte les cellules épithéliales des muqueuses anogénitales, dont les cellules de la jonction pavimentocylindrique au niveau de la zone de transformation (Smith et al., 2002a). Les lésions ulcéreuses causées périodiquement par HSV-II permettent l'accès à la membrane basale de l'épithélium facilitant ainsi les infections par les VPH (Castle and Giuliano, 2003). De plus, l'infection à HSV-II cause également de l'inflammation au niveau des muqueuses lors de l'apparition des lésions (Smith et al., 2002a).

7.2.1.9.3. Vaginose bactérienne

La vaginose bactérienne est un déséquilibre de la flore normale du vagin (Watts et al., 2005). Les niveaux de lactobacilles sont anormalement bas ce qui permet une extension des bactéries anaérobiques (Allsworth et al., 2008). Les lactobacilles produisent normalement du peroxyde d'hydrogène, qui permet de maintenir un pH vaginal faible (Allsworth et al., 2008). Ce déséquilibre est associé à des risques plus élevés d'acquisition d'ITS puisque le peroxyde d'hydrogène procure normalement un environnement hostile aux pathogènes (Watts et al., 2005). Après ajustement pour les comportements sexuels à risques, la prévalence des HR-VPH serait plus élevée lors de vaginoses bactériennes (Lippman et al., 2010). La relation temporelle entre ces deux infections reste à être clarifiée puisqu'un groupe a trouvé inversement que l'infection à VPH précédait l'apparition de la vaginose bactérienne (Mao et al., 2003).

7.2.1.9.4. Virus de l'immunodéficience humaine

L'incidence des infections à VPH est plus fréquente chez les femmes VIH séropositives que chez les femmes VIH séronégatives (Ahdieh et al., 2001). Les SIL (squamous intraepithelial lesions) causées par l'infection par des VPH sont parmi les manifestations opportunistes les plus courantes chez les femmes atteintes du VIH qui présentent jusqu'à cinq fois plus de risque de les développer (Ellerbrock et al., 2000). L'état d'immunosuppression entraîné par l'infection au VIH cause également une hausse de la prévalence des infections à VPH (Ahdieh et al., 2001). Cette hausse de prévalence est observée autant pour les LR-VPH que pour les HR-VPH (Palefsky, 2003). Cependant, la prévalence du VPH16 semblerait être moins corrélée avec l'état d'immunosuppression que pour les autres types (Palefsky, 2003). Environ la moitié des femmes atteintes par le VIH présenteraient des infections à HR-VPH (Hankins et al., 1999). Dans la population générale, les infections à HR-VPH sont présentes chez moins du quart des femmes (Sellors et al., 2000). Un groupe a déterminé qu'un décompte de leucocytes CD₄ inférieur à $0,2 \times 10^9/L$ était un facteur de risques d'infection par les VPH puisque le trois quart des femmes atteintes du VIH ayant ce décompte était infectées par le VPH (Hankins et al., 1999). La quantité d'ARN de VIH au niveau du plasma serait également reliée à l'augmentation des taux d'incidence des infections à VPH (Strickler et al., 2005). Cependant, il a été suggéré que la hausse de prévalence des VPH lors d'infection à VIH soit due à la réactivation d'infection latente plutôt que par de nouvelles acquisitions (Schuman et al., 2003). L'augmentation de la prévalence des VPH chez des femmes VIH positive n'était pas uniquement due à des activités sexuelles récentes, car l'augmentation de prévalence était également observée chez les femmes non-actives sexuellement (Strickler et al., 2005).

7.2.2. Facteurs viraux influençant la transmission des VPH

7.2.2.1. Types et variantes

Certains types de VPH sont plus fréquemment détectés dans la population générale (Institut national de santé publique du Québec, 2012). Aussi, le VPH16 est le plus fréquent dans la majorité des populations étudiées (Institut national de santé publique du Québec, 2012). De manière générale, le taux d'acquisition d'une nouvelle infection est plus élevé lorsqu'il s'agit des types HR-VPH comparativement aux types LR-VPH (Trottier and Franco, 2006a). De plus, le temps de résolution de l'infection diffère entre les types, la durée de l'infection par les HR-VPH étant plus élevée que celle des LR-VPH (Trottier and Franco, 2006a). Parmi les HR-VPH, VPH16 est celui qui présente la période d'infection la plus longue (Woodman et al., 2001). Les types

phylogénétiquement proches de VPH16 (VPH31, -33, -35, -52, -58, -67) présentent une durée d'infection intermédiaire (Molano et al., 2003). Cette plus longue durée d'infection productive augmenterait la période d'exposition des partenaires aux HR-VPH, ce qui pourrait expliquer l'incidence et la prévalence plus élevée des HR-VPH dans la population (Orlando et al., 2012).

Une étude a montré que les infections causées par le VPH18 étaient plus rares chez les jeunes femmes de moins de vingt ans que chez les femmes plus âgées (Munoz et al., 2004a). Cette différence de prévalence pourrait être expliquée par l'évolution de l'épithélium qui comprendrait moins de récepteurs spécifiques pour le VPH18 en jeune âge (Munoz et al., 2004a).

Chaque type présente un certain nombre de variantes qui circulent dans les populations (Bernard, 2005). Certaines de ces variantes sont plus fréquentes que d'autres selon les populations ou les groupes ethniques (Ong et al., 1993). Certaines variantes sont plus pathogènes que d'autres mais elles ne semblent pas influencer le niveau de la transmission du type (Veldhuijzen et al., 2010a).

7.2.2.2. Co-infection et infections subséquentes par plusieurs types de VPH

La co-infection par plus d'un type de VPH est fréquente, étant détectée dans environ 21% des cas, ce qui est supérieur aux probabilités d'être infecté par plus d'un type par hasard (Mendez et al., 2005). Ceci peut être expliqué entre autre par le fait que les différents types de VPH partagent la même route de transmission et que plus d'un événement de transmission peut se produire lors d'une relation sexuelle (Schiffman et al., 2007). Les facteurs influençant la co-infection par plus d'un type de VPH sont relativement les mêmes que ceux qui influencent la transmission d'une infection à VPH, soit un jeune âge, de nombreux partenaires sexuels et un jeune âge lors des premières relations sexuelles (Rousseau et al., 2003a). Une infection prévalente au VPH16 est associée à un risque accru d'acquisition d'une infection par un autre type de VPH (Liaw et al., 2001). De plus, la co-infection par plusieurs types est plus fréquente chez les femmes présentant une cytologie anormale (Rousseau et al., 2003b).

Les infections prévalentes à VPH favorisent l'acquisition subséquente de nouvelles infections (Thomas et al., 2000). De plus le risque d'acquisition d'un nouveau type n'est pas réduit lors d'une infection prévalente par un type qui lui est phylogénétiquement relié (Thomas et al., 2000). Par contre, le risque d'infection par le VPH31 est de 11 à 18 fois plus élevé en présence d'une infection prévalente au VPH18 (Mendez et al., 2005). Aussi, lors d'une infection au VPH16 ou au VPH18, une patiente est plus à risque d'acquérir le VPH58 (Mendez et al., 2005). La réponse immunitaire envers les infections précédemment acquises pourrait influencer les risques d'acquisition des différents types de VPH (Thomas et al., 2000). Une réaction croisée des anticorps dirigés contre le VPH16 a été observé *in vitro* avec les types VPH31 et VPH33

(Combita et al., 2002). Cette réaction croisée ne s'applique pas au type VPH58, ce qui pourrait expliquer pourquoi les risques d'acquisition de ce type augmentent en présence d'une infection par le VPH16 par rapport aux autres types (Combita et al., 2002).

Les types VPH16 et VPH58 utilisent le même mécanisme afin de pénétrer par endocytose dans les cellules épithéliales, ce qui pourrait faciliter la co-infection par ces deux types (Bousarghin et al., 2003). Aussi, les fréquences élevées d'infections concurrentes ou subséquentes pourraient être dues à des susceptibilités du système immunitaire chez certains individus envers les VPH en général plutôt qu'à des mécanismes viraux favorisant la co-infection (Thomas et al., 2000).

7.2.2.3. Charge virale de l'infection

Une étude portée sur l'influence de la charge virale sur la transmission des VPH entre partenaires sexuels (Bleeker et al., 2005c). Dans cette recherche, une forte concordance des différents types de VPH dans les couples était observée et cette concordance était largement supérieure aux probabilités d'infections des deux partenaires par le même type par hasard (Bleeker et al., 2005c). De plus, lorsque la charge virale était plus élevée, la concordance des infections entre les partenaires était plus fréquente (Bleeker et al., 2005c). Cependant, cette étude recrutait des femmes présentant des lésions au niveau du col de l'utérus, pouvant être des lésions de bas-grade ou également des lésions plus avancées (Bleeker et al., 2002). De plus, la charge virale des infections péniennes est plus élevée lorsque les partenaires présentent une infection par le même type de VPH, ainsi que des lésions visibles au niveau du col de l'utérus (Bleeker et al., 2005e). Il existe donc très peu de données sur l'influence de la charge virale sur la transmission des VPH dans les couples hétérosexuels.

Projet de recherche

Déclaration de l'étudiante

J'ai effectué les techniques de quantification de la charge virale sur les spécimens génitaux pour les types 18, 42 et 51 en plus de compléter les techniques débutées par une collègue au laboratoire pour les types 16 et 31. J'ai également réalisé les techniques de clonages pour l'obtention de certains plasmides nécessaires à la quantification. J'ai aussi développé et optimisé des tests de PCR en temps réel des types 42 et 51 en plus de concevoir certaines amorces et sondes. J'ai traité les spécimens cliniques de cette cohorte et procédé à la détection des VPH par PCR consensus. J'ai constitué la base de données des charges virales. Enfin, j'ai participé à l'interprétation des résultats et à la rédaction de l'article.

Hypothèses et objectifs

Notre étude porte sur la transmission des VPH entre les partenaires sexuels. Les spécimens utilisés dans cette étude proviennent de la cohorte HITCH (HPV Infection and Transmission among Couples through Heterosexual activity) qui est composée de jeunes couples hétérosexuels ayant débuté récemment leurs activités sexuelles. Plusieurs études ont rapporté que la transmission des VPH chez les couples hétérosexuels était fréquente et qu'elle se produisait rapidement suite à l'initiation de l'activité sexuelle (Abalos et al., 2012a; Burchell et al., 2011a; Burchell et al., 2010a; Widdice et al., 2013a; Nyitray et al., 2012a). Notre laboratoire a précédemment rapporté une haute prévalence et une concordance spécifique de type élevée parmi les jeunes couples hétérosexuels de la cohorte HITCH. Ce projet est en continuité avec l'augmentation des connaissances sur la transmission des VPH en investiguant si la charge virale des infections favorise la transmission entre partenaires.

Cette étude est divisée en deux objectifs principaux. Le premier était de mesurer la charge virale de tous les spécimens génitaux (vagin, pénis et scrotum) de la cohorte HITCH, pour les HR-VPH 16, 18, 31, 51 ainsi que pour le LR-VPH 42. Pour ce faire, des techniques de qPCR ont été développées et effectuées pour déterminer le nombre de copies virales par cellule contenues dans les échantillons. Le second objectif était d'analyser si la charge virale de ces types de VPH influence la transmission dans les couples hétérosexuels de notre cohorte. Nous avons émis l'hypothèse qu'une charge virale élevée augmenterait la fréquence de transmission des VPH entre les partenaires sexuels, mesurée par le taux de concordance spécifique de type entre partenaires.

Article

Cet article sera soumis pour évaluation et publication au Journal of infectious disease.

Human papillomavirus (HPV) viral load and type-specific concordance in recently-formed heterosexual couples.

Running title: HPV viral load in heterosexual couples.

Karolina Louvanto¹, Emilie Comète^{2,3}, Ann N. Burchell¹, Venkata Ramana Agnihotram¹, Pierre-Paul Tellier⁴, James Hanley⁵, François Coutlée^{1,2,3}, Eduardo L. Franco^{1*}.

1- Division of Cancer Epidemiology, McGill University, Montreal, Que., Canada.

2- Département de Microbiologie et Immunologie, Université de Montréal, Montréal, Qué., Canada.

3- Centre de Recherche et Département de Microbiologie Médicale et Infectiologie, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), Université de Montréal, Qué., Canada.

4- Department of Family Medicine, McGill University, Montreal, Que., Canada.

5- Department of Epidemiology, Biostatistics and Occupational Health, McGill University, Montreal, Que., Canada.

Karolina Louvanto and Emilie Comète share first authorship of this publication.

Address correspondence to: Eduardo L. Franco, Department of Oncology, McGill University, 546 Pine Avenue West, Montreal, Quebec, Canada H2W 1S6. Phone: 514-398-8014; Fax: 613-398-5002.

Abstract word count: 100

Article word count: 3,339

Table and figure count: online 3, in article 2.

Key words: HPV, couple, transmission, heterosexual, viral load.

ABSTRACT

The association between human papillomavirus (HPV) loads in genital swabs and type-specific concordance of prevalent HPV infection was assessed in 250 heterosexual recently-formed couples to study HPV transmission. Viral loads of HPV16 ($r=0.30$), HPV18 ($r=0.50$) and HPV51 ($r=0.19$) were significantly correlated ($p<0.05$) between partners in opposite to HPV31 ($r=0.08$) and HPV42 ($r=-0.10$). A higher HPV load increased significantly the rate of detection of HPV16, 31 and 51 in sexual partners (age-adjusted odds ratios from 1.64 to 7.71). In recently-formed heterosexual couples, higher HPV16, 31 or 51 load is associated with increased detection of the same HPV type in sexual partners.

Brief description.

A higher HPV load in genital specimens from men and women involved in a new sexual relationship increased significantly the rate of detection in sexual partners of HPV16, 31 and 51.

Introduction

Human papillomavirus (HPV) is the most common sexually transmitted infection (STI) worldwide (Trottier and Franco, 2006b). HPV causes virtually all cases of cancer of the uterine cervix in women and anogenital warts in men and women. It is estimated that nearly 80 percent of sexually active adults will be infected by genital HPV types at least once in their lifetime (Trottier and Franco, 2006b). The risk for genital HPV infection increases with the number of sexual partners (Munoz et al., 2004b). Moreover, the cumulative incidence of genital HPV infection is greater in young women engaging in vaginal intercourse than in those remaining virgins (Winer et al., 2003b). The sexual behavior of male partner (s) is also an important factor of the women's risk for HPV-induced disease (Thomas et al., 0 AD). Sexual intercourse is considered as the most efficient route of transmission of HPV between heterosexual partners (Burchell et al., 2006c; Hernandez et al., 2008c; Veldhuijzen et al., 2010b).

A better knowledge of risk and dynamics of HPV transmission in heterosexual partners is essential to optimize HPV prevention and control strategies through vaccination and contraceptive measures. Moreover, this knowledge is instrumental to studies modelling the effect of prevention strategies in a population. Several groups have recently reported that in heterosexual couples, transmission of HPV is common and occurs early in the relationship (Burchell et al., 2010b; Burchell et al., 2011b; Burchell et al., 2006b; Nyitray et al., 2012b; Widdice et al., 2013b; Abalos et al., 2012b). We previously reported a high HPV prevalence as well as a high level of HPV type-specific concordance among recently-formed young adult heterosexual couples enrolled in Montreal, Canada (Burchell et al., 2010c; Burchell et al., 2010b).

HPV transmission is modulated by transmissibility of HPV that depends on viral factors, susceptibility of sexual partner and sexual behavior of the couple that defines the intensity and rate of exposure (Veldhuijzen et al., 2010b). Considering that HPV load

reflects the productivity of DNA replication in the viral life cycle, its level may be one of the viral factors that influences the rate of transmission in heterosexual couples (Veldhuijzen et al., 2010b).

To gain a better understanding of factors associated with type-specific concordance among couples, we examined the association between HPV load and concordance of HPV type infection in recently-formed heterosexual couples. We tested the hypothesis that a higher quantity of virus shed from the genital tract, measured as the HPV load, would be associated with a higher rate of detection of the same HPV type in sexual partners. We also compared HPV viral loads in genital specimens collected at 4 months interval in men and women to assess if HPV load is associated with infection in the sexual partner prospectively.

Materials and methods

In the present analysis, we analyzed samples and data obtained at enrollment and at the first 4 month visit from 250 recently-formed heterosexual couples participating in the HITCH Cohort Study (HPV Infection and Transmission among Couples through Heterosexual Activity) for whom at least one partner tested positive for HPV16, 18, 31, 42 or 51. As described elsewhere, 467 young women (aged 18-24) attending university or junior college in Montreal, Canada, and their male partners were enrolled in HITCH from 2005 to 2011 (Burchell et al., 2010c; Burchell et al., 2010b; Burchell et al., 2011b). Women were eligible if they had a current male sexual partner for whom the relationship duration was no more than six months, had an intact uterus and no history of cervical lesion/cancer, and were not pregnant or planning to become pregnant in the next 24 months. Eligible male partners were aged 18 and older. Presence of genital warts or vaccination for HPV was not exclusion criteria. Women were followed for two years while men were followed for at least 4 months (Burchell et

al., 2010b). All provided written informed consent. Study procedures and documents were approved by the ethical review committees at McGill University, Concordia University, and Université de Montréal.

At each study visit at the student health services clinic, participants self-completed computerized questionnaires which covered demographics, smoking and reproductive histories, sexual behavior, contraceptive use, and history of sexually transmitted infections. Participants were asked to abstain from oral, vaginal or anal sex for 24 hours prior to collection of genital samples. As described previously, clinicians obtained samples of the epithelium from the penis and scrotum of men and women self-collected vaginal swabs (Burchell et al., 2010c; Burchell et al., 2010b; Burchell et al., 2011b).

Genital specimens were tested by a polymerase chain reaction protocol based on amplification of a 450 bp segment in the L1 HPV gene using the Linear Array HPV genotyping assay (LA-HPV) (Roche Molecular Systems, Laval, Canada) which detects 36 mucosal HPV genotypes (Coutlee et al., 2006). Co-amplification of a β -globin DNA sequence permitted determining whether the specimens had adequate cellularity (Burchell et al., 2010b). A majority of samples were adequate for PCR analysis as reported previously (Burchell et al., 2010b). Samples reactive in the linear array with the cross-reactive probe for HPV52 were further tested with a validated HPV-52-specific real-time PCR assay (Coutlee et al., 2007).

Viral load of HPV types 16, 18, 31, 42 and 51 was measured with type-specific real-time PCR assays on purified samples positive for these types that were amongst the most frequent in the cohort. HPV-positive samples were first screened for the presence of inhibitors by amplification of an internal control, as described previously (Alvarez et al., 2010). The presence of PCR inhibitors was suspected when 1000 copies

per reaction of the internal control generated a signal corresponding to less than 700 copies per reaction. Samples containing inhibitory activity were diluted ten-fold and further tested. Samples and diluted samples free of inhibition were then tested in duplicate in a Light Cycler PCR and detection system (Roche Molecular Systems, Laval, Quebec) for quantification of one of the HPV types above and of β -globin DNA to estimate the cell content of samples. The real-time PCR assay for β -globin quantitation was done as described previously (Azizi et al., 2008). All specimens tested positive for the presence of β -globin. Cycling conditions, primer sequences and $MgCl_2$ content for each HPV type-specific assay are provided in online Table 1. For each of the five genotypes analyzed, cycle thresholds obtained for each sample were compared to those of a titration curve obtained by serial ten-fold dilutions of HPV-16, 18, 31, 42 or 51 plasmids in a fixed amount of 75 ng of human genomic DNA (Roche Diagnostics) in 10 mM Tris-HCl [pH 8.2]. The viral load was normalized to the input amount of cellular DNA, expressed as number of HPV DNA copies per cell, and then log₁₀-transformed. Ten HPV DNA copies were consistently detected with these assays (data not shown). The highest HPV viral load of samples from the penis and scrotum was selected for each male participant for the following analyses.

Geometric means with 95% confidence intervals (CI) were calculated to compare HPV loads between types and between visits. Scatter diagrams plotting mean HPV DNA loads of duplicates for each sample were generated. Correlation analysis of HPV loads between visits was done with logarithm-transformed HPV DNA loads. The strength of the correlation among log-transformed viral load measurements at entry and follow-up visit for all five HPV types was measured using a Pearson correlation coefficient (r). The magnitude of the association between HPV DNA load and HPV positivity in the sexual partner was assessed by calculating odds ratios (OR) and respective 95% (CI) by

unconditional multiple logistic regression while controlling for age. Age is associated with incidence, prevalence and viral load of HPV infection (Veldhuijzen et al., 2010b; Ramanakumar et al., 2010b). All statistical tests were two-sided and considered being statistically significant at $p < 0.05$.

Results

The characteristics of participants to the HITCH cohort have been described elsewhere (Burchell et al., 2011b). Overall, 1,052 participants (503 women, 549 men) representing 503 newly-recruited couples participated in the study. All couples engaged in vaginal intercourse. This report is on a subset of 250 of these couples for whom one or both partners tested positive by consensus PCR for one of the five genotypes evaluated. At accrual, 213 men and 87 women were HPV16-positive, 47 men and 20 women were HPV18-positive, 52 men and 24 women were HPV31-positive, 117 men and 39 women were HPV42-positive and 162 men and 49 women were HPV51-positive.

HPV loads for each genotype obtained at the first two study visits are depicted on Online Figure 1 for women and men. Geometric means of HPV loads are provided in tables underlying the Figure. Considering the women's first visit, HPV42 and 51 viral loads were higher than those obtained with the other genotypes. This difference was also demonstrated at the second visit. The geometric means of HPV42 and HPV51 loads were also higher than those measured for HPV16, 18 and 31 in men at the first visit, but the difference was smaller than in women. However, HPV loads for all types except HPV16 were different between the two visits attended by men, with geometric means being lower at the second visit for types 31, 42 and 51 while it was higher for HPV18. The range of HPV load values was however similar for men between visits. A higher HPV load was measured in genital specimens obtained from men compared to

women for all genotypes at accrual. However, HPV loads measured in men were similar to those measured in women at the second visit for HPV31, 42 and 51.

We then investigated if HPV loads measured for each type in the same participants at two visits attended 4 months apart were correlated. Scatter plots of viral loads obtained at visit 1 and 2 in men and women are shown on Online Figure 2. Coefficients of correlation that reached statistical significance are listed in the Figure legends. There was no correlation between HPV18 loads measured at both visits in men, but the number of HPV18-positive pairs was small compared to other types. HPV42 was the only type with a negative correlation of viral loads between visits in women while a positive correlation was obtained in men. The coefficient of correlation between visits of HPV16 loads was greater for men than women while they were similar for HPV31 and HPV51.

The level of correlation between HPV loads for each type measured in genital specimens from couples at the same visit was then assessed. Considering results obtained at accrual, HPV16 ($r=0.30$), HPV18 ($r=0.50$) and HPV51 ($r=0.19$) loads were significantly positively correlated between men and women ($p<0.05$), while those for HPV31 ($r=0.08$) and HPV42 ($r=-0.10$) were not. Table 1 provides for each HPV type the rate of HPV-positivity in sexual partners for each tertile (trt) of HPV loads in the index partner. The lowest rate of detection of a HPV genotype in sexual partners was obtained with men and women having undetected HPV DNA of that genotype. The rate of HPV positivity in women was not increased with higher levels of HPV loads classified into tertiles in male sexual partners for all types (Table 1). In contrast to these results, the rate of HPV positivity in men increased with HPV loads measured in their female sexual partners for all types. The highest rate of detection of each HPV type in men was obtained with the third tertile comprising the highest viral loads.

The age of sexually active individuals is associated with HPV load and prevalence (Ramanakumar et al., 2010b; Veldhuijzen et al., 2010b). We thus further investigated the association between HPV load in genital specimens and HPV infection status with the same type in sexual partners by multivariate analysis controlling for age (Table 2). In that analysis, ORs of the partner HPV-positivity at visit one and at visit two were calculated by classifying HPV load measured in the first visit of the index individual into tertiles. A higher HPV load in men increased the OR from 2 to 5 times of detecting HPV16, 31 or 51 in vaginal swabs from female partners collected at the same visit. The analysis could not be conducted for HPV18 and HPV42 because of the low number of participants infected. The third tertile of HPV load was consistently associated with HPV-positivity in female partners with increased OR of 1.6 to 4.4 for types 16, 31 and 51. A high HPV load at the first visit in males was also significantly associated with infection in female partners four months later for HPV16 but not for HPV51. In opposite to these results, higher HPV loads for types 31 and 42 at the first visit decreased the likelihood of infection with these types in female partners at the visit four months later.

Similar results were obtained for women in whom higher HPV loads increased significantly the likelihood of HPV-positivity for types 16, 31 and 51 in male sexual partners at the first visit for the same type. As shown in table 2, ORs of HPV-positivity in male partners ranged from 2.35 to 7.71 for the second and third tertile of HPV load in females. This increased rate of HPV-positivity in male partners was not demonstrated for HPV42. As for men, HPV18 load could not be evaluated by multivariate analysis. HPV16 and 51 loads in women was also associated significantly with HPV-positivity in male partners four months later, the strongest effect being demonstrated with the third tertile of HPV load. Prediction of HPV16 infection in male partner at the second visit by high women's HPV16 loads was consistent and stronger than for HPV42 and 51 and also stronger than prediction of HPV16-positivity in females by HPV16 load in males. As

found in men, higher HPV31 load at the first visit was associated with a lower rate of detection of HPV31 in sexual partners at the second visit four months later (Table 2).

DISCUSSION

Although the natural history of HPV infection and HPV-induced lesion is well characterized in women, transmission of HPV between sexual partners is still poorly understood. Our results support a role for HPV load in the transmission of HPV in recently-formed heterosexual couples. HPV load when controlling for age was associated with concordance of HPV status between sexual partners for several types. These results suggest that a higher viral load could increase the likelihood of transmission or that it is the reflection of a recent transmission. Moreover, the level of correlation of HPV viral load between sexual partners was similar to the level of correlation of viral loads obtained at two visits four months apart in men and women.

This is the first report on HPV transmission and HPV load in heterosexual couples who recently initiated a sexual relationship. The only other study on this topic also reported that HPV-type-specific concordance in heterosexual couples was associated with higher HPV loads (Bleeker et al., 2005d). In contrast to our study, women had been involved in a sexual relationship for a longer period of time, were older women and had cervical dysplasia. Since most HPV infection are transient and last less than 2 years after initial infection, HPV transmission may be underestimated in long-standing couples (Trottier and Franco, 2006b). Targeting couples who recently initiated a sexual relationship allowed us to study transmission of HPV irrespective of the outcome of infection in the sexual partner (transient versus persistent infections). The strong associations found in the HITCH cohort between HPV infection status in partners is suggestive of recent transmission (Burchell et al., 2010c). HPV16 DNA load has been

independently associated with high-grade cervical intraepithelial neoplasia and invasive cancer (Ylitalo et al., 2000b; Veldhuijzen et al., 2010b; Schlecht et al., 2001b). Since concordance rates of HPV infection are higher in older couples in which one of the partner has HPV-induced lesions (Bleeker et al., 2005d; Bleeker et al., 2005b), the impact of HPV load in HPV transmission could be different in the absence of lesion in the index partner.

Using cross-sectional data, we found that measured HPV loads were different between types in men and women. Thus, HPV42 and 51 loads were higher than those obtained with other types. A difference in the level of HPV load measured between types had also been reported in other studies (Bleeker et al., 2005d; Swan et al., 1999b; Weissenborn et al., 2003b). We also found that there was no correlation between sexual partners of the viral load of HPV31 and HPV42 in opposite to other genotypes. For most HPV genotypes, HPV loads measured in samples from the same individuals at two visits were correlated, except for HPV42. We had previously shown in another cohort of young women attending college that consistent measurements for HPV-16, 18, and 31 were obtained for the five visits with evidence of correlation between loads among visits within subjects, whenever statistical precision was sufficiently high (Ramanakumar et al., 2010b).

A significantly higher viral load was measured in genital specimens obtained from men compared to women. One study did not report higher HPV loads in men compared to their female sexual partners, but included only penile samples while we also tested specimens obtained from the scrotum (Veldhuijzen et al., 2010b).

Our results confirm that for each HPV type, in men and women, the lowest rates of type-specific HPV DNA positivity was obtained with an unmeasured HPV load in the sexual partner. Two sets of analyses suggested that HPV load is a significant factor in facilitating HPV transmission between sexual partners. First, HPV load of several genital

types was significantly correlated between sexual partners at the same visit. Secondly, the crude analysis of rate of detection of HPV infection considering each type individually in function of the partner's HPV load showed that higher rates of HPV infection were detected in men with female partners having higher HPV loads. However, the rate of type-specific HPV-positivity in women was not influenced by HPV load in male partners. This crude analysis did not control for age of participants. Age is associated with HPV viral load and HPV prevalence (Trottier and Franco, 2006b; Veldhuijzen et al., 2010b; Burchell et al., 2006c; Ramanakumar et al., 2010b). Controlling for age, a higher HPV load in men increased the rate of detection of HPV infection in the female partner for HPV16, 31 and 51, and the same association was found between HPV load in women and rate of detection of HPV DNA of the same type in their male partners. This association was also demonstrated at the second visit 4 months after enrollment especially for HPV16, possibly due to the longer duration of HPV16 infection compared to other genotypes (Veldhuijzen et al., 2010b). HPV load was a better predictor in women of HPV-positivity in male sexual partners at the second visit four months later than it was in men to predict HPV-positivity in female partners. It is not clear why HPV31 load in men and women had a protective effect on HPV31-positivity of the sexual partner at the second visit. It could be that higher HPV load stimulates more effectively the immune system to mount a response against HPV31. Serological testing of banked serum specimens from HITCH participants may help investigate this hypothesis.

Since the biological behavior of HPV types differ, as discussed above, the predictive value for transmission of HPV DNA load may also vary between types. The association between HPV viral load and detection rate of the same HPV type in sexual partners was not uniform across genotypes tested. Some have reported that HPV16 is the most readily transmitted HPV type (Hernandez et al., 2008c). One group suggested that there was selective transmission of HPV types favoring HPV16 (Veldhuijzen et al.,

2010b). In the analysis of cross-sectional data from HITCH, we had reported previously that transmission was relatively homogeneous across HPV types (Burchell et al., 2011b) but that HPV16 transmission rate was higher than HPV18 rate, although not statistically significant. HPV16 or 18 infections are cleared more slowly than infections caused by other high-risk types (Veldhuijzen et al., 2010b; Trottier et al., 2008a). There are also differences in the predictive value of HPV viral load and persistence between HPV types (Ramanakumar et al., 2010b). We had reported that in HITCH, the highest transmission rate was observed when the index partner had persistent HPV infection. Persistence of infection combined with HPV load are probably relevant interacting factors for HPV transmission.

The inclusion of couples who had already engaged in a sexual relationship is a limitation of the current analysis. HPV viral transmission may have occurred before study accrual and HPV load at recruitment may not reflect the viral load of the index partner when the virus was transmitted. Use of cross-sectional data of concordance of HPV types in heterosexual couples as a proxy for HPV transmission is only an approximate estimation, as HPV-positivity may reflect recent transmission as well as transmission from previous relationships or persistent infection lasting for years. HPV infection may also have been acquired through sexual exposure with another partner not included in this study. Hands may also serve as reservoirs of infection for transmission. We had previously found in the HITCH cohort that there was little difference between male-to-female and female-to-male transmission rates (Burchell et al., 2011b). Some have found that HPV is transmitted more efficiently from women to men (Hernandez et al., 2008c; Widdice et al., 2013b). Due to our cross-sectional analysis of the first visit in the study, we have also included prevalent and incident HPV infections. Since men may acquire transient infections more frequently than women, we may have missed some transmission events from women to men that occurred before accrual (Giuliano et al.,

2011a; Morales et al., 2012a). We thus could have under evaluated the rate of transmission of women to men. In HITCH the effect of time between the study visit and number of days since last vaginal sex influenced strongly the incidence of transmission for female-to-male but not male-to-female transmission (Burchell et al., 2011b), which may be related to the more frequent transient incident infections in male partners.

The prospective nature of HITCH will help to better define factors involved in transmission by targeting specifically incident infections. Prospective studies should also investigate if HPV load is associated with transmission because of the quantity of virus shed during exposure or because higher HPV loads are a predictor of persistent HPV infection that may result in an increased duration of exposure (Ferenczy and Franco, 2002b; Schlecht et al., 2003a; Villa et al., 1996; Veldhuijzen et al., 2010b).

Frequent condom use may be protective against HPV infection in men, although findings have been inconsistent, as discussed in references (Burchell et al., 2010c; Morales et al., 2012a; Hernandez et al., 2008c). These differences between studies may be related to the difficulty of measuring the frequency and adequate use of condom, the nature and sites of samples. Recent data from a large prospective study in men suggest that consistent condom use may reduce the risk of acquiring HPV infection and decrease the duration of infections, but only in non-monogamous men (Pierce Campbell et al., 2013a). In HITCH, condom use was found to be protective against prevalent HPV infection among males but this association did not reach statistical significance in women whose current partner was infected (Burchell et al., 2010c). The use of condoms should be included in future analyses of prospective data from the cohort.

In this report, HPV load was associated with type-specific concordance between sexual partners involved in a recent relationship. Participants recruited in HITCH were not immunosuppressed or infected by HIV, factors that are likely to increase the ease of transmission of HPV infection (Bleeker et al., 2005d; Burchell et al., 2011b). HPV

transmission may be different in a population of immunosuppressed individuals. A better understanding of HPV transmission will emerge from future analyses of our cohort taking into account transmission patterns in a prospective fashion, by considering the potential impact on viral load of the use of condoms and by taking into account other means of transmission of HPV. Prospective assessment of heterosexual couples, especially of incident infections, will allow establishing the temporality of events: a higher viral load could increase transmission to a naïve host or may reflect a greater susceptibility of one host after transmission occurred. Viral load of additional low-risk types should be tested as HPV42 load was not clearly associated with transmission as high-risk types.

Acknowledgement.

This study was supported by The Canadian Institutes for Health Research and the National Institutes of Health USA. Optimization of HPV42 viral load was supported by the Réseau FRSQ SIDA-MI and by a Team Grant on HPV by the Canadian Institutes for Health Research.

The authors do not declare any conflict of interest related to the topic of this article. Eduardo Franco has provided occasional advisory board service to GSK, Merck Sharp Dome, Roche and Gen-Probe. Francois Coutlée has received grants through his institution from Merck and Roche, as well as honoraria from Merck and Roche for lectures on HPV.

Table 1. Type-specific HPV viral load and HPV status of sexual partners in recently-formed heterosexual couples at enrollment.

Index genital HPV Loads	no of partners	Partner HPV positivity (%)
<u>Male as index case</u>		
HPV16		
Negative	102	18 (17.6)
Trt1	21	19 (90.5)
Trt2	22	14 (63.6)
Trt3	21	20 (95.2)
HPV18		
Negative	15	8 (5.2)
Trt1	4	3 (75.0)
Trt2	3	3 (100.0)
Trt3	4	0 (0.0)
HPV31		
Negative	152	13 (8.6)
Trt1	4	2 (50.0)
Trt2	7	7 (100.0)
Trt3	6	4 (66.7)
HPV42		
Negative	138	14 (10.1)
Trt1	8	8 (100.0)
Trt2	12	8 (66.7)
Trt3	15	10 (66.7)
HPV51		
Negative	118	10 (8.5)
Trt1	13	9 (69.2)
Trt2	14	11 (78.6)
Trt3	16	11 (68.8)

Female as index case

HPV16

Negative	69	8 (11.6)
Trt1	29	13 (44.8)
Trt2	23	15 (65.2)
Trt3	27	25 (92.6)

HPV18

Negative	134	3 (2.2)
Trt1	2	2 (0.0)
Trt2	11	3 (27.3)
Trt3	7	3 (42.9)

HPV31

Negative	125	3 (2.4)
Trt1	14	2 (14.3)
Trt2	13	3 (23.1)
Trt3	17	8 (47.1)

HPV42

Negative	114	6 (5.3)
Trt1	14	14 (64.3)
Trt2	19	19 (47.4)
Trt3	10	10 (80.0)

HPV51

Negative	102	102 (6.9)
Trt1	13	6 (46.2)
Trt2	25	11 (44.0)
Trt3	18	14 (77.8)

HPV viral loads were classified into tertiles (Trt), tertile 3 being the highest viral load values.

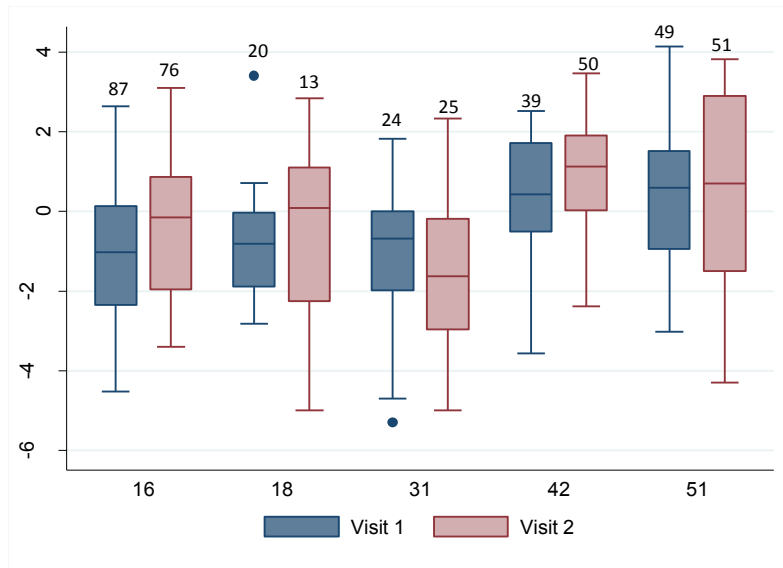
Table 2. HPV viral load predicting the partners HPV positivity for five genital HPV types in 250 heterosexual couples.

HPV viral load direction of prediction	Temporality	VL tertile	OR of partner HPV positivity OR (95%CI)				
			16	18	31	42	51
Male → Female	1 → 1	1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
		2	0.33(0.21-0.50)	ne	ne	ne	4.98(2.72-9.11)
		3	2.05(1.13-3.72)	ne	4.36(2.02-9.39)	ne	1.64(1.03-2.62)
	1 → 2	1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
		2	1.28(0.90-1.81)	ne	0.72(0.37-1.38)	0.82(0.47-1.44)	0.82(0.50-1.32)
		3	2.00(1.34-2.94)	ne	0.31(0.15-0.65)	0.35(0.21-0.61)	0.83(0.52-1.33)
Female → Male	1 → 1	1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
		2	2.35(1.50-3.69)	ne	1.41(0.72-2.75)	0.65(0.36-1.18)	1.02(0.61-1.73)
		3	ne	ne	7.71(4.22-14.10)	ne	3.68(2.01-6.73)
	1 → 2	1	1.0	1.0	1.0	1.0	1.0
		2	2.60(1.77-3.83)	0.78(0.32-1.85)	0.94(0.40-2.24)	22.1(8.49-57.6)	ne
		3	4.19(2.87-6.12)	ne	0.40(0.19-0.84)	1.05(0.52-2.14)	1.78(1.03-3.08)

OR is for Odds ratio. CI is for confidence interval. Temporality refers to the visit number. OR and 95% CI in bold are significant ($p < 0.05$). The logistic regression analysis was adjusted for age.

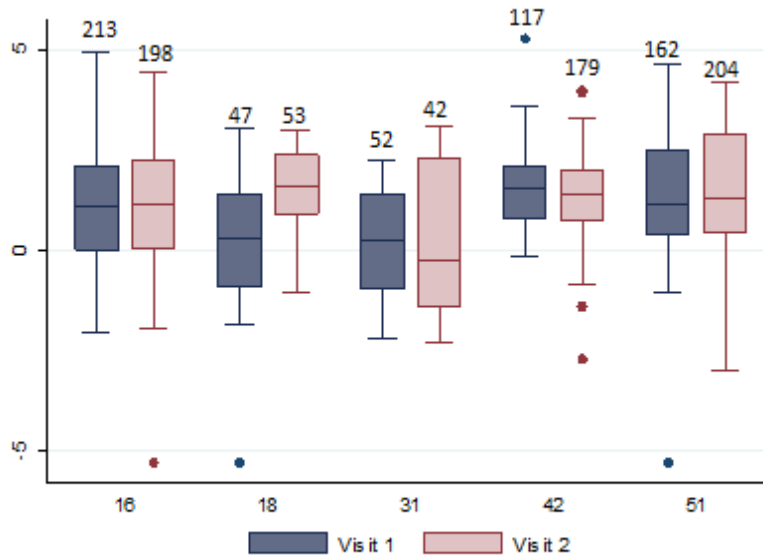
Online Figure 1. Genital HPV load by gender, visit and HPV type.

1a. HPV viral load in women



HPV type	geometric mean, visit 1 (95% CI)		geometric mean, visit 2 (95% CI)	
16	0.1	(0.05 – 0.2)	0.4	(0.2 – 1.1)
18	0.2	(0.03 - 0.8)	0.3	(0.01 – 7.5)
31	0.1	(0.02 – 0.6)	0.04	(0.01 - 0.2)
42	2.5	(0.9 – 7.4)	6.0	(2.2 – 16.3)
51	2.3	(0.7 – 7.1)	2.7	(0.6 - 11.1)

1b. HPV viral loads in men

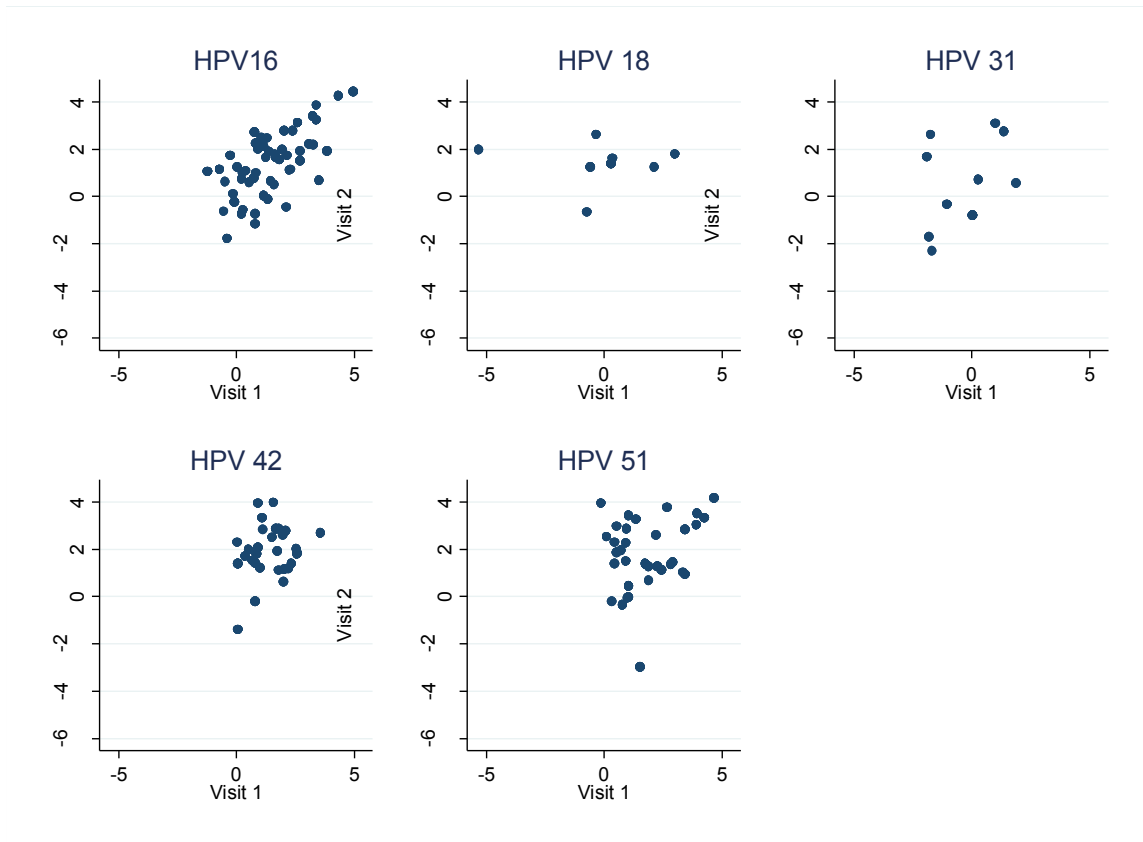


HPV type	geometric mean, visit 1 (95% CI)	geometric mean, visit 2 (95% CI)
16	11.7 (7.1 - 19.2)	13.8 (8.3 - 23.0)
18	1.3 (0.4 - 4.3)	24.1 (10.8 - 53.9)
31	2.5 (0.7 - 8.7)	0.1 (0.02 - 0.6)
42	20.6 (13.8 - 30.8)	2.5 (0.9 - 7.4)
51	22.0 (13.2 - 36.6)	2.3 (0.7 - 7.1)

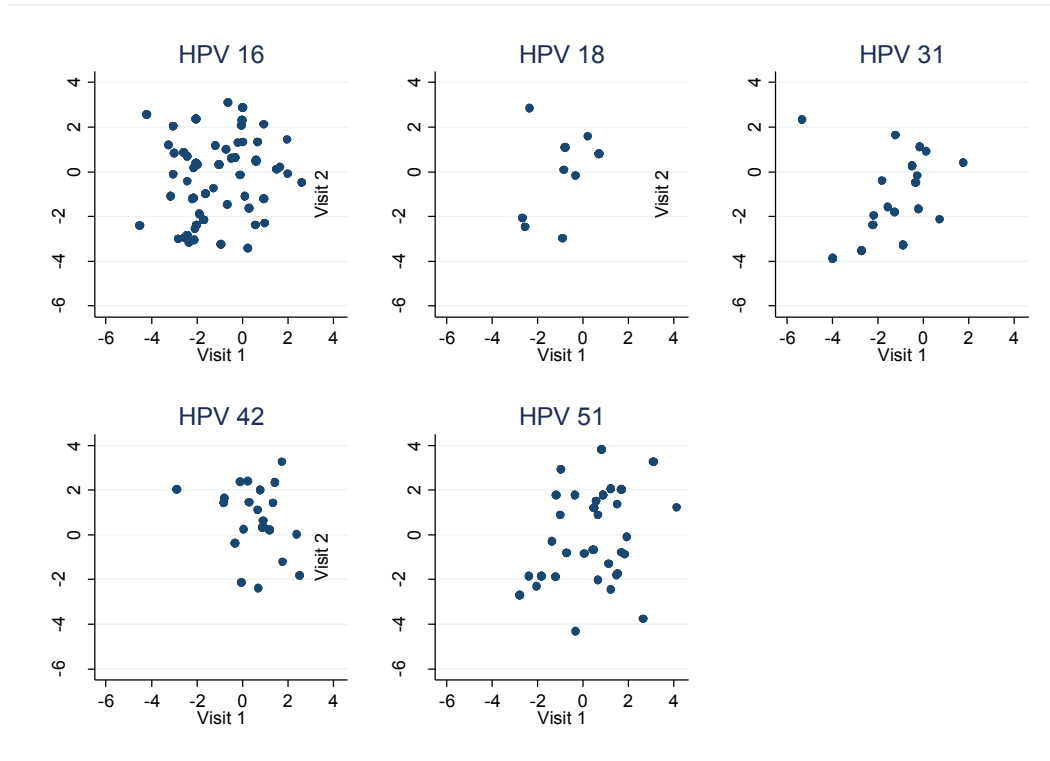
Figure Legend. HPV loads are expressed as number of HPV copy per cell. Numbers above the bars represent the amount of samples tested for each type and visit. The length of each box corresponds to the interquartile range, with the top boundary of the box representing 75th and bottom boundary the 25th percentile. The horizontal line in the box indicates the median value. Outlier values are shown in circles outside the boxes.

Online Figure 2. Correlation of HPV viral loads measured at visit 1 and 2

2a) In men



2b) in women



Correlation of HPV viral load between visit 1 and 2 is shown for men and women for each HPV type. Pearson coefficient of correlation for pairs of viral loads was significant in men for HPV16 ($r=0.65$), HPV31 ($r=0.37$), HPV42 ($r=0.28$), and HPV51 ($r=0.28$), and in women for HPV16 ($r=0.18$), HPV18 ($r=0.55$), HPV31 ($r=0.48$), HPV42 (-0.25) and HPV51 (0.351).

Online Table 1. Primer sequences and cycling parameters for the type-specific real-time PCR assays.

	Forward Primer	Probe	Reverse primer	Fragment (pb)	Cycling parameters ^a
HPV16	PG16-F (pb: 231 to 250) ATG ACT TTG CTT TTC GGG AT	PG16-TM (pb: 365 to 389) ACG GTT TGT TGT ATT GCT GTT CTA A	PG16-R (pb: 434 to 453) CTT TGC TTT TCT TCA GGA CA	223	15 sec at 95C°, 30 sec at 55C°
HPV18	PG18-F (pb: 667 to 685) ATG TCA CGA GCA ATT AAG C	Pg18-TM (pb: 725 to 744) CGG GCT GGT AAA TGT TGA TG	PG-18-R (pb: 782 to 803) TTC TGG CTT CAC ACT TAC AACA	137	15 sec at 95C°, 30 sec at 55C°
HPV31	W31-F (pb: 6500 to 6519) GCT CAG GGA CAC AAT AAT GG	W31-TM (pb: 6574 to 6596) TTG CAG CAC AAA CAG ACA TAT TG	W31-R (pb: 6748 to 6767) CAA AAT TCC AAT CTT CCA AA	268	15 sec at 95C°, 30 sec at 58C°
HPV42	42E6-F (pb: 140 to 157) GCC ACG CAC ATT ATA CCA	42E6-TM (pb: 265 to 286) TCC TTC CTC CAC ACC ACT ACC A	42E6-R (pb: 340 to 358) CTT TCG TAG TGT CGA GTG	219	15 sec at 95C°, 30 sec at 62C°
HPV51	358F (pb: 438 to 458) AAA GCA AAA ATT GGT GGA CGA	392-probe (pb: 472 to 495) CAT GAA ATA GCG GGA CGT TGG ACG	438R (pb: 499 to 519) TTG CCA GCA ATT AGC GCA TT	80	15 sec at 95C°, 30 sec at 58C°

Fragment is the size of the amplicon in base pair. a : all assays included an initial step for 10 min at 95C°, amplification was done for 50 cycles that were followed by an additional step at 40C° for 30 sec. In all assays the MgCl₂ concentration was 3.0 mM except for the HPV42 assay that used 2 mM.

Reference List

1. Abalos AT, Harris RB, Nyitray AG et al. Human papillomavirus type distribution among heterosexual couples. *J Low Genit Tract Dis* 2012; 16:10-5.
2. Alvarez J, de Pokomandy A, Rouleau D et al. Episomal and integrated Human papillomavirus type 16 loads and anal intraepithelial neoplasia in HIV-seropositive men. *AIDS* 2010; 24:2355-63.
3. Azizi N, Brazete J, Hankins C et al. Influence of HPV-16 E2 polymorphism on quantitation of HPV-16 episomal and integrated DNA in cervicovaginal lavages from women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Gen Virol* 2008; 89:1716-28.
4. Bleeker MC, Berkhof J, Hogewoning CJ et al. HPV type concordance in sexual couples determines the effect of condoms on regression of flat penile lesions. *Br J Cancer* 2005; 92:1388-92.
5. Bleeker MC, Hogewoning CJ, Berkhof J et al. Concordance of specific human papillomavirus types in sex partners is more prevalent than would be expected by chance and is associated with increased viral loads. *Clin Infect Dis* 2005; 41:612-20.
6. Burchell AN, Coutlee F, Tellier PP, Hanley J, and Franco EL. Genital transmission of human papillomavirus in recently formed heterosexual couples. *J Infect Dis* 2011; 204:1723-9.
7. Burchell AN, Richardson H, Mahmud SM et al. Modeling the sexual transmissibility of human papillomavirus infection using stochastic computer simulation and empirical data from a cohort study of young women in Montreal, Canada. *Am J Epidemiol* 2006; 163:534-43.
8. Burchell AN, Tellier PP, Hanley J, Coutlee F, and Franco EL. Human papillomavirus infections among couples in new sexual relationships. *Epidemiology* 2010; 21:31-7.
9. Burchell AN, Tellier PP, Hanley J, Coutlee F, and Franco EL. Influence of partner's infection status on prevalent human papillomavirus among persons with a new sex partner. *Sex Transm Dis* 2010; 37:34-40.
10. Burchell AN, Winer RL, de Sanjose S, and Franco EL. Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine* 2006; 24:S3-52-S3/61.
11. Coutlee F, Rouleau D, Ghattas G et al. Confirmatory real-time PCR assay for human papillomavirus (HPV) type 52 infection in anogenital specimens screened for HPV infection with the linear array HPV genotyping test. *J Clin Microbiol* 2007; 45:3821-3.

12. Coutlee F, Rouleau D, Petignat P et al. Enhanced Detection and typing of Human Papillomavirus DNA in Anogenital Samples with PGMY primers and the LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test. *J Clin Microbiol* 2006; 44:1998-2006.
13. Ferenczy A and Franco EL. Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *Lancet Oncology* 2002; 3:11-6.
14. Giuliano AR, Lee JH, Fulp W et al. Incidence and clearance of genital human papillomavirus infection in men (HIM): a cohort study. *Lancet* 2011; 377:932-40.
15. Hernandez BY, Wilkens LR, Zhu X et al. Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emerg Infect Dis* 2008; 14:888-94.
16. Morales R, Parada R, Giuliano AR et al. HPV in female partners increases risk of incident HPV infection acquisition in heterosexual men in rural central Mexico. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2012; 21:1956-65.
17. Munoz N, Mendez F, Posso H et al. Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results. *J Infect Dis* 2004; 190:2077-87.
18. Nyitray AG, Menezes L, Lu B et al. Genital human papillomavirus (HPV) concordance in heterosexual couples. *J Infect Dis* 2012; 206:202-11.
19. Pierce Campbell CM, Lin HY, Fulp W et al. Consistent Condom Use Reduces the Genital Human Papillomavirus Burden Among High-Risk Men: The HPV Infection in Men Study. *J Infect Dis* 2013.
20. Ramanakumar R, Goncalves O, Richardson H et al. Human Papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV-16 integrations in persistent and transient infections in young women. *BMC Infectious Diseases* 2010; 10:326-38.
21. Schlecht NF, Kulaga S, Robitaille J et al. Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 2001; 286:3106-14.
22. Schlecht NF, Trevisan A, Duarte-Franco E et al. Viral load as a predictor of the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 2003; 103:519-24.
23. Swan DC, Tucker RA, Tortolero-Luna G et al. Human papillomavirus (HPV) DNA copy number is dependent on grade of cervical disease and HPV type. *J Clin Microbiol* 1999; 37:1030-4.
24. Thomas DB, Ray RM, Kuypers J et al. Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. III. The role of husbands and commercial sex workers. *Am J Epidemiol* 1981; 113:740-8.
25. Trottier H and Franco EL. The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* 2006; 24:S1-15.

26. Trottier H, Mahmud S, Prado JC et al. Type-specific duration of human papillomavirus infection: implications for human papillomavirus screening and vaccination. *J Infect Dis* 2008; 197:1436-47.
27. Veldhuijzen NJ, Snijders PJ, Reiss P, Meijer CJ, and van de Wijgert JH. Factors affecting transmission of mucosal human papillomavirus. *Lancet Infect Dis* 2010; 10:862-74.
28. Villa LL, Franco EL, Caballero OL, Rahal P, Ferenczy A, and Rohan T. Viral load, persistent cervical HPV infection, and cumulative risk of cervical intraepithelial neoplasia in a high risk area. *Gold Coast. Vol Australia*. 1996.
29. Weissenborn SJ, Funke AM, Hellmich M et al. Oncogenic Human papillomavirus DNA loads in human immunodeficiency virus-positive women with High-grade cervical lesions are strongly elevated. *J Clin Microbiol* 2003; 41:2763-7.
30. Widdice L, Ma Y, Jonte J et al. Concordance and transmission of human papillomavirus within heterosexual couples observed over short intervals. *J Infect Dis* 2013; 207:1286-94.
31. Winer RL, Lee SK, Hughes JP, Adam DE, Kiviat NB, and Koutsky LA. Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 2003; 157:218-26.
32. Ylitalo N, Sorensen P, Josefsson AM et al. Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet* 2000; 355:2194-8.

Discussion

L'histoire naturelle et la progression des infections au VPH sont bien décrites chez les femmes. Cependant, la dynamique de transmission des VPH entre partenaires sexuels reste peu comprise. Les résultats que nous avons obtenus dans cette étude supportent un rôle de la charge virale dans la transmission des VPH entre les partenaires pour les couples hétérosexuels récemment formés. En contrôlant pour l'âge, la charge virale des VPH était associée avec la concordance spécifique de type entre les partenaires sexuels, ce qui suggère soit qu'une charge virale élevée augmente les probabilités de transmission des VPH, et donc la concordance des types entre partenaires, ou soit qu'une charge élevée reflète une infection aiguë récemment acquise. De plus, la charge virale était corrélée entre les partenaires à un niveau similaire à celui observé lors des visites consécutives autant chez les hommes que chez les femmes.

L'objectif général de la cohorte HITCH, qui est l'objet de cette étude, est d'accroître nos connaissances sur la transmission des VPH dans les couples hétérosexuels récemment formés. Pour ce faire, plusieurs sous-objectifs ont été décrits, dont l'étude de la prévalence et de la concordance spécifique de type dans les couples hétérosexuels, l'étude des facteurs de risques de transmission et l'estimation des taux de transmission entre les partenaires. Dans cette visée, la présente étude porte sur le rôle de la charge virale des VPH en tant que facteur de risque pour la transmission des VPH entre partenaires sexuels.

Tout d'abord, une autre équipe avait rapporté que la concordance spécifique de type dans les couples hétérosexuels était associée à une charge virale élevée, dans une cohorte dont les femmes étaient âgées en moyenne de 34 ans (Bleeker et al., 2005c). Notre étude se distingue de l'étude de Bleeker et al. de plusieurs façons. Dans l'étude de Bleeker et al; les couples étaient formés et avaient des relations sexuelles depuis plus longtemps que les participants de notre cohorte. Puisque la majorité des infections au VPH sont transitoires, elles ne sont plus détectables après un à deux ans suite à l'infection initiale (Trottier and Franco, 2006a). De par ce fait, la transmission des VPH pourrait être sous-estimée lors d'analyse de concordance spécifique de type si les couples sont formés depuis une longue période comparativement aux couples récemment formés. Le recrutement de couples récemment formés de la cohorte HITCH nous a permis d'étudier la transmission des VPH entre les partenaires sexuels de façon indépendante de l'issue de l'infection, soit une infection transitoire ou persistante. Les participantes de la cohorte HITCH sont âgées de 18 à 24 ans, un groupe d'âge où les infections incidentes au VPH sont très fréquentes (Sellors et al., 2000). De plus, l'acquisition d'un nouveau partenaire sexuel est un facteur de risque important dans l'incidence des infections au VPH, autant pour les hommes que pour les femmes (Burchell et al., 2010d). Les couples de la cohorte HITCH étaient formés depuis un maximum de six

mois au moment du recrutement, ce qui diminue le risque de sous-estimer le nombre d'événements de transmission qui auraient causé une infection transitoire pour un des partenaires. Dans la cohorte HITCH, nous avons trouvé une concordance élevée d'infection par les différents types de VPH entre les deux partenaires, ce qui suggère des événements récents de transmission (Burchell et al., 2010d). Dans l'étude réalisée par Bleeker et ses collègues, les femmes recrutées présentaient une dysplasie au niveau du col de l'utérus (Bleeker et al., 2005c). La charge virale de VPH16 a été indépendamment associée avec la présence de lésion cervicale de haut-grade et de cancer invasif par plusieurs groupes (Schlecht et al., 2001a; Veldhuijzen et al., 2010a; Ylitalo et al., 2000a). L'impact de la charge virale sur la transmission des VPH pourrait être différent en l'absence de lésion au col de l'utérus. D'ailleurs, le taux de concordance spécifique de type des VPH est supérieur pour les couples plus âgés pour lesquels un des partenaires présente des lésions induites par les VPH (Bleeker et al., 2005a; Bleeker et al., 2005c).

En utilisant des données transversales obtenues au début de notre étude, nous avons démontré que les charges virales mesurées étaient différentes entre les types étudiés, autant chez les hommes que chez les femmes. Ainsi, les charges virales mesurées des types 42 et 51 étaient plus élevées que celles des autres types. Une différence du niveau des charges virales selon les types a également été observée dans d'autres études (Bleeker et al., 2005c; Swan et al., 1999a; Weissenborn et al., 2003a). L'évolution des VPH est guidée par deux phénomènes qui sont en opposition, soit la nécessité de produire une grande quantité de virions et la persistance de l'infection (Orlando et al., 2012). Cette pression a permis la formation de deux phénotypes généraux. Les LR-VPH produisent en général plus de virions que les types oncogéniques, ce qui augmente la probabilité de transmission par relation sexuelle, mais qui les expose davantage face au système immunitaire (Orlando et al., 2012). En effet, les infections par les LR-VPH sont éliminées en moyenne plus rapidement que les infections par les HR-VPH (Trottier and Franco, 2006a). Inversement, les infections causées par les HR-VPH produisent une quantité plus faible de virions mais ces types ont tendance à persister sur une plus longue période, ce qui augmente la fréquence de contact du virus entre les partenaires à long terme (Orlando et al., 2012). Dans notre étude, les types 42 et 51 présentaient des charges virales plus élevées que les autres types étudiés. Le VPH42 étant un type non-oncogénique, il n'est pas inattendu que sa charge virale soit plus élevée que celle des types oncogéniques. Cependant, VPH51 est classifié parmi les types oncogéniques, bien qu'il soit parmi les quatre types les plus rarement retrouvés dans les cas de cancer, avec les types 39, 56 et 59 (Bouvard et al., 2009). Le VPH51 n'appartient pas aux deux espèces oncogènes des VPH les plus représentées, soit α -9, qui comprend VPH16 et VPH31, et α -7 qui comprend VPH18 (Burk et al., 2009). Le VPH51 appartient à l'espèce α -5, avec les types 26, 69 et 82, qui sont tous les trois qualifiés de "possiblement cancérigènes" (Bouvard et al., 2009). Le VPH51 est le second type oncogénique le plus prévalent dans la cohorte HITCH lors de la visite de recrutement, suite au VPH16 (Burchell et al., 2010d). Ce type semble fréquent dans la population mais cause

rarement le cancer. De plus, dans notre cohorte, VPH51 présente une charge virale plus élevée que les autres HR-VPH, ce qui pourrait correspondre à un phénotype intermédiaire. L'analyse des charges virales d'autres types classifiés comme étant cancérigènes mais rarement retrouvés dans les cancers ou encore comme "possiblement cancérigènes", pourrait permettre de vérifier si la charge virale des types de VPH qui sont moins fortement associés au cancer est plus élevée que celle des types oncogéniques.

Pour les génotypes 16, 18 et 51, les charges virales des partenaires d'un couple étaient corrélées, c'est-à-dire qu'une charge virale élevée chez l'un des partenaires était associée à une charge virale élevée chez l'autre partenaire. Inversement, pour les génotypes 31 et 42, aucune corrélation n'a été observée entre les charges virales des deux partenaires. Pour la majorité des types, les charges virales mesurées lors des deux visites de nos participants étaient corrélées. Autrement dit, une charge virale élevée lors de la première visite prédisait une charge virale élevée au moment de la deuxième visite. Notre équipe a précédemment démontré dans une autre cohorte de jeunes femmes, que des valeurs constantes pour les charges virales des types 16, 18 et 31 étaient observées entre cinq visites de suivi (Ramanakumar et al., 2010a). De plus, dans cette étude, les charges virales des différentes visites d'une participante étaient corrélées lorsque la précision statistique était suffisamment élevée (Ramanakumar et al., 2010a). Pour les hommes de la cohorte HITCH, les charges virales des deux visites consécutives étaient corrélées pour les types 16, 31, 42 et 51. Pour VPH18, le nombre d'hommes infectés par ce type aux deux visites était trop faible. Pour les femmes de la cohorte HITCH, une corrélation entre les charges virales lors des deux premières visites a également été observée pour les types 16, 18, 31 et 51. Cependant, pour VPH42, une corrélation négative a été observée entre les deux visites. Dans ce cas, une charge virale élevée pour VPH42 lors de la première visite prédisait une plus faible charge virale lors de la deuxième visite. Cette observation concorde avec la période de résolution plus rapide des infections causées par les LR-VPH (Trottier and Franco, 2006a), comparativement au HR-VPH pour qui la charge virale élevée restait plus constante entre les deux visites. Cependant, cette corrélation négative est retrouvée uniquement chez les femmes. Les infections au VPH auraient tendance à se résoudre plus rapidement chez les hommes que chez les femmes, soit sur une période de six mois chez les hommes comparativement à douze mois chez les femmes (Burchell et al., 2010a). Nous ne pouvons expliquer à ce stade, pourquoi nous n'avons pas démontré une corrélation négative des charges virales de VPH42 entre les visites pour les hommes. Puisque le comportement biologique des différents types de VPH diffère, l'utilisation de la charge virale comme valeur prédictive de la transmission des VPH pourrait varier en fonction des types. De plus, le VPH42 est le seul type à bas-risque inclus dans notre étude. Le comportement des LR-VPH pourrait être comparé à celui des HR-VPH, en ajoutant aux analyses les charges virales mesurées pour d'autres LR-VPH.

Une charge virale significativement plus élevée a été mesurée dans les spécimens génitaux des hommes comparativement aux spécimens génitaux des femmes, même après l'ajustement de

la quantité de cellules contenues dans l'échantillon. Une autre étude n'a pas rapporté de charge virale plus élevée dans les spécimens génitaux masculins (Veldhuijzen et al., 2010a). Cependant, dans cette étude, seuls des prélèvements au niveau du pénis étaient effectués (Veldhuijzen et al., 2010a). Dans la cohorte HITCH, les spécimens provenant du pénis et du scrotum étaient analysés. Les charges virales mesurées de VPH16 au niveau du pénis semblent être généralement plus élevées que celles mesurées au niveau du scrotum (Flores et al., 2008). De plus, la charge virale de VPH16 provenant de sites anatomiques rapprochés, comme pour le pénis et le scrotum, était corrélée (Flores et al., 2008). L'ajustement de la charge virale par cellule se fait en fonction du nombre total de cellules contenues dans l'échantillon. Dans une étude portant sur la charge virale dans des spécimens provenant de patientes avec un cancer du col de l'utérus, le pourcentage de cellules tumorales contenues dans les échantillons variait entre 2 et 80%, avec une moyenne autour de 30% (de Boer et al., 2007). En ce sens, le pourcentage de cellules infectées par le VPH dans les prélèvements de la cohorte HITCH n'est pas connu. Il nous est impossible de déterminer si la charge virale mesurée par PCR en temps réel correspond en réalité à une infection de quelques cellules ou de plusieurs cellules épithéliales. Une technique d'hybridation *in situ* permettrait de préciser le nombre de cellules infectées. Cependant, cette technique n'était pas applicable sur nos échantillons et manque de sensibilité comparativement aux méthodes de PCR en temps réel.

Nous avons déjà trouvé, dans la cohorte HITCH, qu'il y avait peu de différence entre le taux de transmission des VPH de l'homme à la femme et celui de la femme à l'homme (Burchell et al., 2011a). Quelques auteurs ont trouvé que la transmission s'effectuait plus efficacement de la femme à l'homme (Hernandez et al., 2008b; Widdice et al., 2013a). Les charges virales mesurées dans notre étude ne suggèrent pas que la transmission est plus efficace de la femme à l'homme. En raison de nos analyses transversales, autant les infections prévalentes que les infections incidentes ont été considérées. Puisque les hommes peuvent acquérir des infections transitoires plus fréquemment que les femmes, il est possible que nous ayons manqué certains événements de transmission de la femme à l'homme qui se seraient produits avant le recrutement (Giuliano et al., 2011b; Morales et al., 2012b). Dans ce cas, il est possible que nous ayons sous-évalué le taux de transmission des VPH de la femme à l'homme, ce qui pourrait moduler le niveau d'association entre la charge virale mesurée chez la femme et la concordance spécifique de type entre partenaires d'un même couple. Dans la cohorte HITCH, l'intervalle entre les différentes visites ainsi que le nombre de jours séparant la dernière relation sexuelle vaginale et les prélèvements influençaient fortement l'incidence de la transmission des VPH de la femme à l'homme. Cependant, cette association n'était pas observée pour la transmission de l'homme à la femme (Burchell et al., 2011a). Ainsi, la grande majorité des couples de notre cohorte ont respecté la période d'abstinence demandée, soit de 24 heures avant les prélèvements, ce qui nous a permis d'éviter qu'une contamination par des cellules épithéliales infectées du partenaire ne soient interprétées comme des événements de transmission (Burchell et al., 2010d).

Autant chez les hommes que chez les femmes, les charges virales les plus faibles sont mesurées chez l'individu-index lorsque le partenaire n'est pas infecté par le type observé. Deux analyses suggèrent que la charge virale des VPH est un facteur significatif qui facilite la transmission des VPH entre les partenaires sexuels. Premièrement, la charge virale de plusieurs types génitaux était significativement corrélée entre les partenaires sexuels lors de la même visite. Deuxièmement, en considérant chacun des types individuellement, la transmission de la femme à l'homme était plus fréquente lorsque la femme présentait une charge virale plus élevée. Par contre, le taux de positivité spécifique de type chez les femmes n'était pas influencé par une plus haute charge virale de leur partenaire. Notre hypothèse stipulait que des charges virales élevées faciliteraient la transmission des VPH au partenaire non-infecté. Le devis transversal de l'étude actuelle ne permet pas de différencier entre la possibilité qu'une charge virale élevée augmente la transmission des VPH ou qu'elle soit le reflet d'une transmission récente. Dans cette deuxième hypothèse, la transmission proviendrait du partenaire ayant précédemment une plus faible charge virale, et suite à cette transmission récente, l'infection aigue entraînerait une plus forte production de virions, donc une charge virale plus élevée pour le partenaire nouvellement infecté. Des études prospectives pourraient permettre de distinguer entre ces deux hypothèses. Ainsi, une charge virale élevée serait le reflet d'une transmission récente résultant en une infection aigüe. Inversement, si la charge virale facilite la transmission, elle sera élevée chez le partenaire index, précédant l'événement de transmission. La cohorte HITCH permettra donc l'étude prospective des partenaires avec un intervalle de quatre mois entre les visites. Des prélèvements plus rapprochés pourraient permettre de mieux suivre l'évolution de la charge virale suite à la transmission. Afin de discerner entre les deux options, il est nécessaire de savoir dans quelle direction s'est dirigée la transmission en connaissant quel est le partenaire qui était tout d'abord infecté par le type étudié. Dans notre étude, les hommes sont présents uniquement aux deux premières visites. L'analyse de la charge virale lors de la transmission de la femme vers l'homme ne pourrait être analysée que si la transmission se déroule entre les deux premières visites. À l'inverse, la transmission de l'homme à la femme pourrait être analysée aux deuxième et troisième visites. Si la transmission se déroule ultérieurement, le suivi des deux partenaires sur une plus longue période pourrait aider aux analyses. Par contre, les événements de transmission sont susceptibles de se dérouler tôt après l'initiation de l'activité sexuelle. De plus, il est fréquent que les deux partenaires soient déjà infectés par le même type au moment des prélèvements initiaux. Dans ces cas, il n'est pas possible de savoir dans quel sens s'est produite la transmission. Ainsi, des intervalles plus courts entre les prélèvements, des prélèvements effectués plus tôt dans la relation de couple et la poursuite des prélèvements pour les deux partenaires pourraient permettre de meilleures analyses de transmission.

L'âge est associé avec l'incidence des infections au VPH ainsi qu'avec la charge virale de ces infections (Burchell et al., 2006d; Ramanakumar et al., 2010a; Trottier and Franco, 2006a;

Veldhuijzen et al., 2010a). C'est pourquoi nous avons utilisé des analyses multivariées pour contrôler pour l'âge pour évaluer l'association entre la charge virale des VPH et la positivité par le même type chez le ou la partenaire. En contrôlant pour l'âge, lorsque la charge virale était élevée chez les hommes, la fréquence de détection du VPH augmentait chez leurs partenaires féminines pour les génotypes 16, 31 et 51. La même association spécifique de type a été retrouvée entre la charge virale des femmes et le taux de détection des VPH chez leur partenaire masculin. De plus, cette association a également été démontrée, mais uniquement pour le VPH16, lors de la seconde visite, qui se situe environ quatre mois après la visite de recrutement. Cette observation pourrait être due au fait que l'infection au VPH16 dure généralement plus longtemps que les infections causées par les autres types (Veldhuijzen et al., 2010a). De manière générale, la charge virale élevée était un meilleur prédicteur de positivité du partenaire pour la femme que l'inverse. Cependant, une charge virale élevée pour le VPH31 lors de la première visite semble entraîner un effet protecteur pour le partenaire à la deuxième visite, autant chez les hommes que chez les femmes. Il est possible que des charges virales plus élevées stimulent davantage le système immunitaire, ce qui générerait une réponse immunologique plus efficace contre le VPH31. Afin de vérifier cette hypothèse, il serait possible d'utiliser les échantillons de sérums prélevés des participants à chacune de leurs visites de suivi, pour mesurer la présence d'anticorps anti-VPH31.

L'association entre la charge virale des VPH et le taux de détection de ce type chez le partenaire sexuel n'était pas uniforme parmi les différents types de VPH. Le VPH16 est le type le plus fréquemment transmis (Hernandez et al., 2008b; Veldhuijzen et al., 2010a). Quelques études ont suggéré que la transmission des VPH est sélective et que le VPH16 se transmet plus facilement que les autres types (Veldhuijzen et al., 2010a). Cette différence dans la facilité de transmission entre les types doit être explorée afin de déterminer si elle peut être expliquée par des différences au niveau de la charge virale, par le polymorphisme des types, ou encore par des différences au niveau tissulaire de l'hôte. Nous avons précédemment rapporté une transmission relativement homogène parmi les différents types de VPH dans la cohorte HITCH (Burchell et al., 2011a). Cependant, le taux de transmission de VPH16 était supérieur à celui de VPH18, bien que cette différence n'était pas statistiquement significative (Burchell et al., 2011a). De plus, les infections par les types 16 et 18 se résolvent plus lentement que les infections causées par les autres HR-VPH (Trottier et al., 2008b; Veldhuijzen et al., 2010a). Comme 11% des femmes de la cohorte HITCH ont rapporté avoir reçu un des vaccins prophylactiques contre les VPH (Burchell et al., 2010a), l'analyse de la transmission de l'homme vers la femme pourrait être sous-estimée pour les types 16 et 18, lorsque les femmes qui sont protégées contre ces types sont incluses dans les analyses. Ces données seront prises en considérations dans les analyses prospectives de la cohorte.

La valeur prédictive de la charge virale en relation avec la persistance de l'infection diffère selon les différents types de VPH (Ramanakumar et al., 2010a). Dans la cohorte HITCH, de plus haut taux de transmission ont été observés lorsque le partenaire index était toujours infecté par le

type étudié lors de la deuxième visite (Burchell et al., 2011a). Cette observation suggère que la transmission des VPH est influencée par la durée d'exposition. La persistance et la charge virale de l'infection pourraient être des facteurs importants dans la dynamique de transmission des VPH.

L'inclusion dans nos analyses de couples ayant déjà eu des relations sexuelles est un facteur limitant dans notre étude. La transmission des VPH pourrait déjà avoir eu lieu avant le début de l'étude. Il serait très difficile de ne recruter que des couples qui en sont à leur première expérience sexuelle. En moyenne, les couples de l'étude HITCH ont eu 63 relations sexuelles avant les premiers prélèvements, ce qui permettrait la transmission des VPH avant les prélèvements (Burchell et al., 2010a). Dans ce cas, la charge virale au moment de la visite de recrutement pourrait ne pas représenter la charge virale réelle au moment de la transmission. Dans nos analyses, nous avons considéré que la concordance spécifique de type pour un type donné dans un couple signifiait qu'un événement de transmission avait eu lieu. Cependant, il s'agit d'une estimation approximative de la transmission puisque la présence d'un type peut représenter soit une transmission récente, soit une infection acquise avec un partenaire précédent, ou encore une infection persistante. En effet, dans la cohorte HITCH, seul 14% des femmes et 13% des hommes ont rapportés que leur partenaire de l'étude était leur premier partenaire sexuel (Burchell et al., 2010a). La médiane du nombre total de partenaires sexuels parmi les autres participants était de cinq partenaires (Burchell et al., 2010a). Ainsi, les infections détectées lors de la première visite pourraient avoir été acquises avec des partenaires précédents. Puisque la majorité des infections se résolvent spontanément sur une période d'environ un an (Handisurya et al., 2009), il serait intéressant d'analyser le délai entre la fin de la relation précédente et le début de la relation actuelle en rapport avec la prévalence des infections lors de la première visite. Lorsque le délai entre les deux relations est court, les probabilités que l'infection prévalente soit due à un partenaire précédent sont plus élevées. Inversement, lorsque le délai entre les deux relations est plus long, la discordance dans un couple pour un type donné pourrait signifier que la transmission n'a pas encore eu lieu ou alors que l'infection est déjà résolue pour un des partenaires. D'autres limitations à notre étude étaient présentes, dont le fait que les infections au VPH pourraient avoir été acquises lors de l'exposition avec un autre partenaire non inclus dans cette étude. Cependant, la majorité des participants, soit 85% des femmes et 86% des hommes, ont rapporté que leur partenaire de l'étude était à ce moment leur seul partenaire sexuel (Burchell et al., 2010a).

La nature prospective de la cohorte HITCH pourrait aider à définir les facteurs impliqués dans la transmission des VPH en ciblant spécifiquement les infections incidentes. D'autres études prospectives sont nécessaires afin de déterminer si la relation entre la charge virale et la transmission des VPH est due à la quantité de virus au moment de l'exposition ou plutôt au fait qu'une haute charge virale est un marqueur de persistance de l'infection (Ferenczy and Franco, 2002a; Schlecht et al., 2003b; Veldhuijzen et al., 2010a), ce qui pourrait résulter en une plus longue durée d'exposition au virus pour le partenaire sexuel. Nous avons rapporté dans la cohorte HITCH,

que la transmission était plus fréquente lorsque le partenaire-index présentait une infection persistante au VPH.

Parmi les participants de notre cohorte qui sont infectés par le VPH, 3.4 types sont en moyenne retrouvés dans les spécimens (Burchell et al., 2011a). Le nombre de types en co-infection varie de 1 à 10 pour les femmes et de 1 à 11 pour les hommes (Burchell et al., 2010d). Cependant, malgré la fréquence élevée des co-infections, la grande majorité des événements de transmission dans les couples de l'étude HITCH ne comporte qu'un seul type de VPH (Burchell et al., 2011a). Rarement deux ou trois types sont transmis simultanément (Burchell et al., 2011a). Lorsque le VPH16 se retrouve en co-infection dans les lésions de haut-grade, sa charge virale est souvent plus élevée que lorsqu'il est retrouvé seul (Denis et al., 2008). Ce facteur n'est pas significatif pour les participantes de la cohorte HITCH car elles n'ont pas de lésion au niveau du col de l'utérus. Les charges virales que nous avons mesurées pourraient être analysées selon le nombre de type en co-infection afin de vérifier si l'amplitude de la charge virale de certains types de VPH est influencée par la co-infection. Une plus haute charge virale lors de co-infection augmenterait l'exposition du partenaire. Aussi, la durée de l'infection par le VPH16 est prolongée lors de co-infection avec d'autres types, comparativement à l'infection par VPH16 uniquement (Trottier et al., 2008b). L'implication de la co-infection par plus d'un type n'a pas été évaluée dans nos analyses et dans aucune étude sur la transmission des VPH. De plus, nous pourrions observer si la présence de certains types pourrait peut-être favoriser la transmission de certains autres types en particulier, soit des types de la même espèce virale, soit une transmission préférentielle des types à haut-risque par rapport aux types à bas-risque. L'incidence des infections par les HR-VPH est plus élevée que celle des LR-VPH (Trottier and Franco, 2006a), ce qui pourrait peut-être s'expliquer par une transmission préférentielle des HR-VPH.

Les VPH peuvent se transmettre autrement que par les relations sexuelles vaginales. Les mains peuvent également servir de réservoirs pour l'infection au VPH et être impliquées dans la transmission (Hernandez et al., 2008b). De plus, la transmission des VPH peut se produire par les relations orales-génitales (Coutlee et al., 1997). Dans notre cohorte, tous les participants ont rapporté pratiquer la masturbation mutuelle et presque tous, le sexe oral (Burchell et al., 2010a). Cependant, les analyses présentées dans cette étude n'impliquent pas ces modes de transmission. Il serait intéressant de poursuivre les analyses afin de vérifier si les infections au niveau des mains et de la bouche ont des durées de résolutions différentes de celles des infections génitales. Les infections des doigts et de la bouche pourraient permettre la réinfection fréquente des muqueuses génitales et la charge virale de ces infections pourrait influencer la dynamique de transmission en augmentant l'exposition au virus.

L'utilisation fréquente du condom pourrait avoir un effet protecteur contre l'infection au VPH chez les hommes. Cependant, des données contradictoires ont été rapportées à ce sujet dans différentes études (Burchell et al., 2010d; Morales et al., 2012b; Hernandez et al., 2008b). Ces

différences entre les études pourraient être reliées à la difficulté de mesurer la fréquence d'utilisation du condom ainsi que de son utilisation adéquate. De plus, la nature des spécimens et les sites de prélèvement pourraient expliquer en partie ces différences. Des données récentes provenant d'une large étude prospective chez les hommes a suggéré que l'utilisation constante du condom réduirait le risque d'acquisition d'une infection au VPH en plus de réduire la durée des infections, mais ceci uniquement pour les hommes non-monogames (Pierce Campbell et al., 2013b). Dans la cohorte HITCH, l'utilisation du condom a démontré un effet protecteur contre l'acquisition d'une infection au VPH chez les hommes. Cependant, cet effet protecteur n'était pas statistiquement significatif statistique pour les femmes dont le partenaire était infecté (Burchell et al., 2010d). Afin d'expliquer cette différence de protection par le condom entre les hommes et les femmes, plusieurs hypothèses sont possibles. Premièrement, cette observation pourrait être secondaire à une transmission plus efficace de l'homme à la femme dans notre cohorte, peu importe l'utilisation du condom. Aussi, une vitesse de résolution des infections au VPH plus rapide chez les hommes pourrait permettre une résolution de l'infection avant les premiers prélèvements. En effet, la régression des lésions péniennes se produit plus rapidement lorsque le condom est utilisé fréquemment, en limitant le taux de réinfection par le même type, chez des hommes dont les partenaires présentent des lésions cervicales (Bleeker et al., 2003). Il faut cependant réaliser que les premiers prélèvements sont faits en moyenne quatre mois après l'initiation de l'activité sexuelle du couple (Burchell et al., 2010a), ce qui ne permet pas la résolution de la majorité des infections. Finalement, en raison de la plus grande surface de muqueuses couvertes par le condom pour l'homme, le condom pourrait offrir une meilleure protection aux hommes qu'aux femmes (Manhart and Koutsky, 2002).

Bien que la cohorte HITCH soit d'une grande envergure et unique jusqu'à présent, il faut rester prudent avant de généraliser nos résultats. Les participants de notre cohorte pourraient ne pas représenter uniformément les jeunes couples hétérosexuels récemment formés. La participation à une étude sur la transmission d'une ITS dans un nouveau couple reste un sujet délicat sur lequel les individus plus timides pourraient ne pas discuter entièrement. En ce sens, la sélection des participants de la cohorte HITCH pourrait représenter une tranche de la population plus confortable au niveau de leur sexualité que la moyenne de la population totale. Ces considérations ne devraient pas biaiser les analyses de la charge virale comme facteur de risque de transmission des VPH dans des cohortes ressemblant à la cohorte HITCH (Burchell et al., 2010d).

Conclusion

Dans cette étude, la charge virale des VPH était associée à la concordance spécifique de type des VPH entre les partenaires hétérosexuels engagés dans une nouvelle relation. Les participants de la cohorte HITCH ne sont pas immunosupprimés, ni infectés par le VIH, ces facteurs étant susceptibles d'augmenter la transmission des VPH (Bleeker et al., 2005c; Burchell et al., 2011a). La dynamique de transmission des VPH pourrait être différente dans une population immunosupprimée. La poursuite des analyses sur la cohorte HITCH va permettre une meilleure compréhension de la transmission des VPH entre partenaires sexuels, en tenant compte des patrons de transmission de manière prospective, en considérant l'impact potentiel de l'utilisation du condom sur la charge virale et en considérant d'autres modes de transmission des VPH entre partenaires. Des évaluations prospectives portant sur des couples hétérosexuels, spécialement dans le cas d'infections incidentes, vont permettre d'établir la temporalité des événements de transmission. Une charge virale plus élevée pourrait augmenter la transmission à un hôte naïf ou encore elle pourrait être le reflet d'une plus grande susceptibilité d'un hôte suite à l'acquisition récente d'une infection. Les charges virales d'autres LR-VPH devraient être mesurées, puisque la charge virale de VPH42 n'était pas clairement associée à la transmission comme l'étaient les HR-VPH étudiés.

Bibliographie

- Abalos,A.T., Harris,R.B., Nyitray,A.G., Mitchell,A., Thompson,P.A., Giuliano,A.R., and Garcia,F. (2012a). Human papillomavirus type distribution among heterosexual couples. *J. Low Genit. Tract. Dis.* 16, 10-15.
- Abalos,A.T., Harris,R.B., Nyitray,A.G., Mitchell,A., Thompson,P.A., Giuliano,A.R., and Garcia,F. (2012b). Human papillomavirus type distribution among heterosexual couples. *J. Low Genit. Tract. Dis.* 16, 10-15.
- Ahdieh,L., Klein,R.S., Burk,R., Cu-Uvin,S., Schuman,P., Duerr,A., Safaeian,M., Astemborski,J., Daniel,R., and Shah,K. (2001). Prevalence, incidence, and type-specific persistence of human papillomavirus in human immunodeficiency virus (HIV)-positive and HIV-negative women. *J. Infect. Dis.* 184, 682-690.
- Ahdoot,D., Van Nostrand,K.M., Nguyen,N.J., Tewari,D.S., Kurasaki,T., Disaia,P.J., and Rose,G.S. (1998). The effect of route of delivery on regression of abnormal cervical cytologic findings in the postpartum period. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 178, 1116-1120.
- Albero,G., Castellsague,X., Giuliano,A.R., and Bosch,F.X. (2012). Male circumcision and genital human papillomavirus: a systematic review and meta-analysis. *Sex Transm. Dis.* 39, 104-113.
- Allsworth,J.E., Lewis,V.A., and Peipert,J.F. (2008). Viral sexually transmitted infections and bacterial vaginosis: 2001-2004 National Health and Nutrition Examination Survey data. *Sex Transm. Dis.* 35, 791-796.
- Alvarez,J., de Pokomandy,A., Rouleau,D., Ghattas,G., Vezina,S., Cote,P., Allaire,G., Hadjeres,R., Franco,E.L.F., and Coutlée,F. (2010). Episomal and integrated Human papillomavirus type 16 loads and anal intraepithelial neoplasia in HIV-seropositive men. *AIDS* 24, 2355-2363.
- Amin,A.A., Titolo,S., Pelletier,A., Fink,D., Cordingley,M.G., and Archambault,J. (2000). Identification of domains of the HPV11 E1 protein required for DNA replication in vitro. *Virology* 272, 137-150.
- Anis,E.A., O'Neill,S.H., Newkirk,K.M., Brahmhatt,R.A., Abd-Eldaim,M., Frank,L.A., and Kania,S.A. (2010). Molecular characterization of the L1 gene of papillomaviruses in epithelial lesions of cats and comparative analysis with corresponding gene sequences of human and feline papillomaviruses. *Am. J. Vet. Res.* 71, 1457-1461.
- Apt,D., Watts,R.M., Suske,G., and Bernard,H.U. (1996). High Sp1/Sp3 ratios in epithelial cells during epithelial differentiation and cellular transformation correlate with the activation of the HPV-16 promoter. *Virology* 224, 281-291.
- Aral,S.O. and Peterman,T.A. (2002). A stratified approach to untangling the behavioral/biomedical outcomes conundrum. *Sex Transm. Dis.* 29, 530-532.

Ashrafi,G.H., Brown,D.R., Fife,K.H., and Campo,M.S. (2006). Down-regulation of MHC class I is a property common to papillomavirus E5 proteins. *Virus Res.* 120, 208-211.

Ashrafi,G.H., Haghshenas,M.R., Marchetti,B., O'Brien,P.M., and Campo,M.S. (2005). E5 protein of human papillomavirus type 16 selectively downregulates surface HLA class I. *Int. J. Cancer* 113, 276-283.

Auvert,B., Sobngwi-Tambekou,J., Cutler,E., Nieuwoudt,M., Lissouba,P., Puren,A., and Taljaard,D. (2009). Effect of male circumcision on the prevalence of high-risk human papillomavirus in young men: results of a randomized controlled trial conducted in Orange Farm, South Africa. *J. Infect. Dis.* 199, 14-19.

Azizi,N., Brazete,J., Hankins,C., Money,D., Fontaine,J., Koushik,A., Rachlis,A., Pourreaux,K., Ferenczy,A., Franco,E., and Coutlee,F. (2008). Influence of HPV-16 E2 polymorphism on quantitation of HPV-16 episomal and integrated DNA in cervicovaginal lavages from women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Gen Virol* 89, 1716-1728.

Badulescu,F., Crisan,A., Badulescu,A., and Schenker,M. (2010). Recent data about the role of human papillomavirus (HPV) in oncogenesis of head and neck cancer. *Rom. J. Morphol. Embryol.* 51, 437-440.

Barnabas,R.V., Laukkanen,P., Koskela,P., Kontula,O., Lehtinen,M., and Garnett,G.P. (2006). Epidemiology of HPV 16 and cervical cancer in Finland and the potential impact of vaccination: mathematical modelling analyses. *PLoS. Med.* 3, e138.

Becker,K.A., Florin,L., Sapp,C., Maul,G.G., and Sapp,M. (2004). Nuclear localization but not PML protein is required for incorporation of the papillomavirus minor capsid protein L2 into virus-like particles. *J. Virol.* 78, 1121-1128.

Bernard,H.U. (2002). Gene expression of genital human papillomaviruses and considerations on potential antiviral approaches. *Antivir. Ther.* 7, 219-237.

Bernard,H.U. (2005). The clinical importance of the nomenclature, evolution and taxonomy of human papillomaviruses. *J. Clin. Virol.* 32 *Suppl* 1, S1-S6.

Bernard,H.U., Burk,R.D., Chen,Z., Van,D.K., Hausen,H., and de Villiers,E.M. (2010). Classification of papillomaviruses (PVs) based on 189 PV types and proposal of taxonomic amendments. *Virology* 401, 70-79.

Bernard,H.U., Calleja-Macias,I.E., and Dunn,S.T. (2006). Genome variation of human papillomavirus types: phylogenetic and medical implications. *Int. J. Cancer* 118, 1071-1076.

Blachon,S. and Demeret,C. (2003). The regulatory E2 proteins of human genital papillomaviruses are pro-apoptotic. *Biochimie* 85, 813-819.

Bleeker,M.C., Berkhof,J., Hogewoning,C.J., Voorhorst,F.J., van den Brule,A.J., Starink,T.M., Snijders,P.J., and Meijer,C.J. (2005a). HPV type concordance in sexual couples determines the effect of condoms on regression of flat penile lesions. *Br. J. Cancer* 92, 1388-1392.

Bleeker,M.C., Berkhof,J., Hogewoning,C.J., Voorhorst,F.J., van den Brule,A.J., Starink,T.M., Snijders,P.J., and Meijer,C.J. (2005b). HPV type concordance in sexual couples determines the effect of condoms on regression of flat penile lesions. *Br J Cancer* 92, 1388-1392.

Bleeker,M.C., Hogewoning,C.J., Berkhof,J., Voorhorst,F.J., Hesselink,A.T., van Diemen,P.M., van den Brule,A.J., Snijders,P.J., and Meijer,C.J. (2005c). Concordance of specific human papillomavirus types in sex partners is more prevalent than would be expected by chance and is associated with increased viral loads. *Clin. Infect. Dis.* 41, 612-620.

Bleeker,M.C., Hogewoning,C.J., Berkhof,J., Voorhorst,F.J., Hesselink,A.T., van-Diemen,P.M., van-den-Brule,A.J., Snijders,P.J., and Meijer,C.J. (2005d). Concordance of specific human papillomavirus types in sex partners is more prevalent than would be expected by chance and is associated with increased viral loads. *Clin Infect Dis* 41, 612-620.

Bleeker,M.C., Hogewoning,C.J., van den Brule,A.J., Voorhorst,F.J., van Andel,R.E., Risse,E.K., Starink,T.M., and Meijer,C.J. (2002). Penile lesions and human papillomavirus in male sexual partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *J. Am. Acad. Dermatol.* 47, 351-357.

Bleeker,M.C., Hogewoning,C.J., Voorhorst,F.J., van den Brule,A.J., Berkhof,J., Hesselink,A.T., Lettink,M., Starink,T.M., Stoof,T.J., Snijders,P.J., and Meijer,C.J. (2005e). HPV-associated flat penile lesions in men of a non-STD hospital population: less frequent and smaller in size than in male sexual partners of women with CIN. *Int. J. Cancer* 113, 36-41.

Bleeker,M.C., Hogewoning,C.J., Voorhorst,F.J., van den Brule,A.J., Snijders,P.J., Starink,T.M., Berkhof,J., and Meijer,C.J. (2003). Condom use promotes regression of human papillomavirus-associated penile lesions in male sexual partners of women with cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Cancer* 107, 804-810.

Bossis,I., Roden,R.B., Gambhira,R., Yang,R., Tagaya,M., Howley,P.M., and Meneses,P.I. (2005). Interaction of tSNARE syntaxin 18 with the papillomavirus minor capsid protein mediates infection. *J. Virol.* 79, 6723-6731.

Bousarghin,L., Touze,A., Sizaret,P.Y., and Coursaget,P. (2003). Human papillomavirus types 16, 31, and 58 use different endocytosis pathways to enter cells. *J. Virol.* 77, 3846-3850.

Bouvard,V., Baan,R., Straif,K., Grosse,Y., Secretan,B., El,G.F., Benbrahim-Tallaa,L., Guha,N., Freeman,C., Galichet,L., and Coglianov,V. (2009). A review of human carcinogens--Part B: biological agents. *Lancet Oncol.* 10, 321-322.

Bouvard,V., Matlashewski,G., Gu,Z.M., Storey,A., and Banks,L. (1994). The human papillomavirus type 16 E5 gene cooperates with the E7 gene to stimulate proliferation of primary cells and increases viral gene expression. *Virology* 203, 73-80.

Bravo,I.G., de,S.S., and Gottschling,M. (2010). The clinical importance of understanding the evolution of papillomaviruses. *Trends Microbiol.* 18, 432-438.

Brown,D.R. and Bryan,J.T. (2000). Abnormalities of cornified cell envelopes isolated from human papillomavirus type 11-infected genital epithelium. *Virology* 271, 65-70.

Bryan,J.T. and Brown,D.R. (2000). Association of the human papillomavirus type 11 E1(E4) protein with cornified cell envelopes derived from infected genital epithelium. *Virology* 277, 262-269.

Bryan,J.T. and Brown,D.R. (2001). Transmission of human papillomavirus type 11 infection by desquamated cornified cells. *Virology* 281, 35-42.

Buck,C.B., Cheng,N., Thompson,C.D., Lowy,D.R., Steven,A.C., Schiller,J.T., and Trus,B.L. (2008). Arrangement of L2 within the papillomavirus capsid. *J. Virol.* 82, 5190-5197.

Buck,C.B., Thompson,C.D., Pang,Y.Y., Lowy,D.R., and Schiller,J.T. (2005). Maturation of papillomavirus capsids. *J. Virol.* 79, 2839-2846.

Bulkmans,N.W., Berkhof,J., Bulk,S., Bleeker,M.C., van Kemenade,F.J., Rozendaal,L., Snijders,P.J., and Meijer,C.J. (2007). High-risk HPV type-specific clearance rates in cervical screening. *Br. J. Cancer* 96, 1419-1424.

Burchell,A.N., Coutlee,F., Tellier,P.P., Hanley,J., and Franco,E.L. (2011a). Genital transmission of human papillomavirus in recently formed heterosexual couples. *J. Infect. Dis.* 204, 1723-1729.

Burchell,A.N., Coutlee,F., Tellier,P.P., Hanley,J., and Franco,E.L. (2011b). Genital transmission of human papillomavirus in recently formed heterosexual couples. *J Infect Dis* 204, 1723-1729.

Burchell,A.N., Richardson,H., Mahmud,S.M., Trottier,H., Tellier,P.P., Hanley,J., Coutlee,F., and Franco,E.L. (2006a). Modeling the sexual transmissibility of human papillomavirus infection using stochastic computer simulation and empirical data from a cohort study of young women in Montreal, Canada. *Am. J. Epidemiol.* 163, 534-543.

Burchell,A.N., Richardson,H., Mahmud,S.M., Trottier,H., Tellier,P.P., Hanley,J., Coutlee,F., and Franco,E.L. (2006b). Modeling the sexual transmissibility of human papillomavirus infection using stochastic computer simulation and empirical data from a cohort study of young women in Montreal, Canada. *Am J Epidemiol* 163, 534-543.

Burchell,A.N., Tellier,P.P., Hanley,J., Coutlee,F., and Franco,E.L. (2010a). Human papillomavirus infections among couples in new sexual relationships. *Epidemiology* 21, 31-37.

Burchell,A.N., Tellier,P.P., Hanley,J., Coutlee,F., and Franco,E.L. (2010b). Human papillomavirus infections among couples in new sexual relationships. *Epidemiology* 21, 31-37.

Burchell,A.N., Tellier,P.P., Hanley,J., Coutlee,F., and Franco,E.L. (2010c). Influence of partner's infection status on prevalent human papillomavirus among persons with a new sex partner. *Sex Transm Dis* 37, 34-40.

Burchell,A.N., Tellier,P.P., Hanley,J., Coutlee,F., and Franco,E.L. (2010d). Influence of partner's infection status on prevalent human papillomavirus among persons with a new sex partner. *Sex Transm. Dis.* 37, 34-40.

Burchell,A.N., Winer,R.L., de Sanjose,S., and Franco,E.L. (2006c). Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine* 24, S3-52-S3/61.

Burchell,A.N., Winer,R.L., de,S.S., and Franco,E.L. (2006d). Chapter 6: Epidemiology and transmission dynamics of genital HPV infection. *Vaccine* 24 *Suppl* 3, S3-52-S3/61.

Burk,R.D., Chen,Z., and Van,D.K. (2009). Human papillomaviruses: genetic basis of carcinogenicity. *Public Health Genomics* 12, 281-290.

Burk,R.D., Ho,G.Y., Beardsley,L., Lempa,M., Peters,M., and Bierman,R. (1996). Sexual behavior and partner characteristics are the predominant risk factors for genital human papillomavirus infection in young women. *J. Infect. Dis.* 174, 679-689.

Campos,S.K. and Ozbun,M.A. (2009). Two highly conserved cysteine residues in HPV16 L2 form an intramolecular disulfide bond and are critical for infectivity in human keratinocytes. *PLoS. One.* 4, e4463.

Cardoso,J.C. and Calonje,E. (2011). Cutaneous manifestations of human papillomaviruses: a review. *Acta Dermatovenerol. Alp Panonica. Adriat.* 20, 145-154.

Carter,J.J., Koutsky,L.A., Hughes,J.P., Lee,S.K., Kuypers,J., Kiviat,N., and Galloway,D.A. (2000). Comparison of human papillomavirus types 16, 18, and 6 capsid antibody responses following incident infection. *J. Infect. Dis.* 181, 1911-1919.

Castellsague,X., Bosch,F.X., and Munoz,N. (2002). Environmental co-factors in HPV carcinogenesis. *Virus Res.* 89, 191-199.

Castellsague,X. and Munoz,N. (2003). Chapter 3: Cofactors in human papillomavirus carcinogenesis--role of parity, oral contraceptives, and tobacco smoking. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr* 20-28.

Castle,P.E. (2004). Beyond human papillomavirus: the cervix, exogenous secondary factors, and the development of cervical precancer and cancer. *J. Low Genit. Tract. Dis.* 8, 224-230.

Castle,P.E., Fetterman,B., Akhtar,I., Husain,M., Gold,M.A., Guido,R., Glass,A.G., and Kinney,W. (2009). Age-appropriate use of human papillomavirus vaccines in the U.S. *Gynecol. Oncol.* 114, 365-369.

Castle,P.E. and Giuliano,A.R. (2003). Chapter 4: Genital tract infections, cervical inflammation, and antioxidant nutrients--assessing their roles as human papillomavirus cofactors. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr* 29-34.

Castle,P.E., Jeronimo,J., Schiffman,M., Herrero,R., Rodriguez,A.C., Bratti,M.C., Hildesheim,A., Wacholder,S., Long,L.R., Neve,L., Pfeiffer,R., and Burk,R.D. (2006). Age-

related changes of the cervix influence human papillomavirus type distribution. *Cancer Res.* **66**, 1218-1224.

Chow,L.T., Broker,T.R., and Steinberg,B.M. (2010). The natural history of human papillomavirus infections of the mucosal epithelia. *APMIS* **118**, 422-449.

Clower,R.V., Fisk,J.C., and Melendy,T. (2006). Papillomavirus E1 protein binds to and stimulates human topoisomerase I. *J. Virol.* **80**, 1584-1587.

Collins,S.I., Mazloomzadeh,S., Winter,H., Rollason,T.P., Blomfield,P., Young,L.S., and Woodman,C.B. (2005). Proximity of first intercourse to menarche and the risk of human papillomavirus infection: a longitudinal study. *Int. J. Cancer* **114**, 498-500.

Combita,A.L., Touze,A., Bousarghin,L., Christensen,N.D., and Coursaget,P. (2002). Identification of two cross-neutralizing linear epitopes within the L1 major capsid protein of human papillomaviruses. *J. Virol.* **76**, 6480-6486.

Conway,M.J. and Meyers,C. (2009). Replication and assembly of human papillomaviruses. *J. Dent. Res.* **88**, 307-317.

Coutlee,F., Rouleau,D., Ghattas,G., Hankins,C., Vezina,S., Cote,P., Macleod,J., de Pokomandy,A., Money,D., Walmsley,S., Voyer,H., Brassard,P., and Franco,E. (2007). Confirmatory real-time PCR assay for human papillomavirus (HPV) type 52 infection in anogenital specimens screened for HPV infection with the linear array HPV genotyping test. *J. Clin. Microbiol.* **45**, 3821-3823.

Coutlee,F., Rouleau,D., Petignat,P., Ghattas,G., Kornegay,J., Schlagg,P., Boyle,S., Hankins,C., Vézina,D., Cote,P., Macleod,J., Voyer,H., Forest,P., Walmsley,S., and Franco,E.L. (2006). Enhanced Detection and typing of Human Papillomavirus DNA in Anogenital Samples with PGM primers and the LINEAR ARRAY HPV Genotyping Test. *J. Clin. Microbiol.* **44**, 1998-2006.

Coutlee,F., Trottier,A.M., Ghattas,G., Leduc,R., Toma,E., Sanche,G., Rodrigues,I., Turmel,B., Allaire,G., and Ghadirian,P. (1997). Risk factors for oral human papillomavirus in adults infected and not infected with human immunodeficiency virus. *Sex Transm. Dis.* **24**, 23-31.

Critchlow,C.W., Wolner-Hanssen,P., Eschenbach,D.A., Kiviat,N.B., Koutsky,L.A., Stevens,C.E., and Holmes,K.K. (1995). Determinants of cervical ectopia and of cervicitis: age, oral contraception, specific cervical infection, smoking, and douching. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **173**, 534-543.

Culp,T.D., Budgeon,L.R., Marinkovich,M.P., Meneguzzi,G., and Christensen,N.D. (2006). Keratinocyte-secreted laminin 5 can function as a transient receptor for human papillomaviruses by binding virions and transferring them to adjacent cells. *J. Virol.* **80**, 8940-8950.

Culp,T.D. and Christensen,N.D. (2004). Kinetics of in vitro adsorption and entry of papillomavirus virions. *Virology* **319**, 152-161.

- Curtis,S.L. and Sutherland,E.G. (2004). Measuring sexual behaviour in the era of HIV/AIDS: the experience of Demographic and Health Surveys and similar enquiries. *Sex Transm. Infect.* *80 Suppl 2*, ii22-ii27.
- Darshan,M.S., Lucchi,J., Harding,E., and Moroianu,J. (2004). The I2 minor capsid protein of human papillomavirus type 16 interacts with a network of nuclear import receptors. *J. Virol.* *78*, 12179-12188.
- Davis,K.R. and Weller,S.C. (1999). The effectiveness of condoms in reducing heterosexual transmission of HIV. *Fam. Plann. Perspect.* *31*, 272-279.
- Davy,C.E., Jackson,D.J., Wang,Q., Raj,K., Masterson,P.J., Fenner,N.F., Southern,S., Cuthill,S., Millar,J.B., and Doorbar,J. (2002). Identification of a G(2) arrest domain in the E1 wedge E4 protein of human papillomavirus type 16. *J. Virol.* *76*, 9806-9818.
- Day,P.M., Gambhira,R., Roden,R.B., Lowy,D.R., and Schiller,J.T. (2008a). Mechanisms of human papillomavirus type 16 neutralization by I2 cross-neutralizing and I1 type-specific antibodies. *J. Virol.* *82*, 4638-4646.
- Day,P.M., Lowy,D.R., and Schiller,J.T. (2003). Papillomaviruses infect cells via a clathrin-dependent pathway. *Virology* *307*, 1-11.
- Day,P.M., Lowy,D.R., and Schiller,J.T. (2008b). Heparan sulfate-independent cell binding and infection with furin-precleaved papillomavirus capsids. *J. Virol.* *82*, 12565-12568.
- Day,P.M., Roden,R.B., Lowy,D.R., and Schiller,J.T. (1998). The papillomavirus minor capsid protein, L2, induces localization of the major capsid protein, L1, and the viral transcription/replication protein, E2, to PML oncogenic domains. *J. Virol.* *72*, 142-150.
- de Boer,M.A., Jordanova,E.S., Kenter,G.G., Peters,A.A., Corver,W.E., Trimbos,J.B., and Fleuren,G.J. (2007). High human papillomavirus oncogene mRNA expression and not viral DNA load is associated with poor prognosis in cervical cancer patients. *Clin. Cancer Res.* *13*, 132-138.
- de Villiers,E.M., Fauquet,C., Broker,T.R., Bernard,H.U., and zur,H.H. (2004). Classification of papillomaviruses. *Virology* *324*, 17-27.
- del Mar Pena,L.M. and Laimins,L.A. (2001). Differentiation-dependent chromatin rearrangement coincides with activation of human papillomavirus type 31 late gene expression. *J. Virol.* *75*, 10005-10013.
- Deluca,G.D., Basiletti,J., Schelover,E., Vasquez,N.D., Alonso,J.M., Marin,H.M., Lucero,R.H., and Picconi,M.A. (2011). Chlamydia trachomatis as a probable cofactor in human papillomavirus infection in aboriginal women from northeastern Argentina. *Braz. J. Infect. Dis.* *15*, 567-572.
- Demeret,C., Desaintes,C., Yaniv,M., and Thierry,F. (1997). Different mechanisms contribute to the E2-mediated transcriptional repression of human papillomavirus type 18 viral oncogenes. *J. Virol.* *71*, 9343-9349.

Demeret,C., Garcia-Carranca,A., and Thierry,F. (2003). Transcription-independent triggering of the extrinsic pathway of apoptosis by human papillomavirus 18 E2 protein. *Oncogene* 22, 168-175.

Denis,F., Hanz,S., and Alain,S. (2008). [Clearance, persistence and recurrence of HPV infection]. *Gynecol. Obstet. Fertil.* 36, 430-440.

DiMaio,D. and Mattoon,D. (2001). Mechanisms of cell transformation by papillomavirus E5 proteins. *Oncogene* 20, 7866-7873.

Doherty,I.A., Padian,N.S., Marlow,C., and Aral,S.O. (2005). Determinants and consequences of sexual networks as they affect the spread of sexually transmitted infections. *J. Infect. Dis.* 191 *Suppl* 1, S42-S54.

Doorbar,J. (2005). The papillomavirus life cycle. *J. Clin. Virol.* 32 *Suppl* 1, S7-15.

Doorbar,J., Ely,S., Sterling,J., McLean,C., and Crawford,L. (1991). Specific interaction between HPV-16 E1-E4 and cytokeratins results in collapse of the epithelial cell intermediate filament network. *Nature* 352, 824-827.

Dowhanick,J.J., McBride,A.A., and Howley,P.M. (1995). Suppression of cellular proliferation by the papillomavirus E2 protein. *J. Virol.* 69, 7791-7799.

Drumright,L.N., Gorbach,P.M., and Holmes,K.K. (2004). Do people really know their sex partners? Concurrency, knowledge of partner behavior, and sexually transmitted infections within partnerships. *Sex Transm. Dis.* 31, 437-442.

Ellerbrock,T.V., Chiasson,M.A., Bush,T.J., Sun,X.W., Sawo,D., Brudney,K., and Wright,T.C., Jr. (2000). Incidence of cervical squamous intraepithelial lesions in HIV-infected women. *JAMA* 283, 1031-1037.

Etter,D.J., Zimet,G.D., and Rickert,V.I. (2012). Human papillomavirus vaccine in adolescent women: a 2012 update. *Curr. Opin. Obstet. Gynecol.*

Fan,T., Lu,H., Hu,H., Shi,L., McClarty,G.A., Nance,D.M., Greenberg,A.H., and Zhong,G. (1998). Inhibition of apoptosis in chlamydia-infected cells: blockade of mitochondrial cytochrome c release and caspase activation. *J. Exp. Med.* 187, 487-496.

Fédération du Québec pour le planning des naissances. Efficacité des méthodes contraceptives. 2005.

Ref Type: Online Source

Fehrmann,F., Klumpp,D.J., and Laimins,L.A. (2003). Human papillomavirus type 31 E5 protein supports cell cycle progression and activates late viral functions upon epithelial differentiation. *J. Virol.* 77, 2819-2831.

Ferenczy,A. and Franco,E. (2002a). Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *Lancet Oncol.* 3, 11-16.

Ferenczy,A. and Franco,E.L. (2002b). Persistent human papillomavirus infection and cervical neoplasia. *Lancet Oncology* 3, 11-16.

- Filatov,L., Golubovskaya,V., Hurt,J.C., Byrd,L.L., Phillips,J.M., and Kaufmann,W.K. (1998). Chromosomal instability is correlated with telomere erosion and inactivation of G2 checkpoint function in human fibroblasts expressing human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein. *Oncogene* 16, 1825-1838.
- Flores,E.R. and Lambert,P.F. (1997). Evidence for a switch in the mode of human papillomavirus type 16 DNA replication during the viral life cycle. *J. Virol.* 71, 7167-7179.
- Flores,R., Lu,B., Nielson,C., Abrahamsen,M., Wolf,K., Lee,J.H., Harris,R.B., and Giuliano,A.R. (2008). Correlates of human papillomavirus viral load with infection site in asymptomatic men. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 17, 3573-3576.
- Florin,L., Becker,K.A., Lambert,C., Nowak,T., Sapp,C., Strand,D., Streeck,R.E., and Sapp,M. (2006). Identification of a dynein interacting domain in the papillomavirus minor capsid protein I2. *J. Virol.* 80, 6691-6696.
- Florin,L., Becker,K.A., Sapp,C., Lambert,C., Sirma,H., Muller,M., Streeck,R.E., and Sapp,M. (2004). Nuclear translocation of papillomavirus minor capsid protein L2 requires Hsc70. *J. Virol.* 78, 5546-5553.
- Florin,L., Sapp,C., Streeck,R.E., and Sapp,M. (2002a). Assembly and translocation of papillomavirus capsid proteins. *J. Virol.* 76, 10009-10014.
- Florin,L., Schafer,F., Sotlar,K., Streeck,R.E., and Sapp,M. (2002b). Reorganization of nuclear domain 10 induced by papillomavirus capsid protein I2. *Virology* 295, 97-107.
- Fournier,N., Raj,K., Saudan,P., Utzig,S., Sahli,R., Simanis,V., and Beard,P. (1999). Expression of human papillomavirus 16 E2 protein in *Schizosaccharomyces pombe* delays the initiation of mitosis. *Oncogene* 18, 4015-4021.
- Franco,E.L., Coutlee,F., and Ferenczy,A. (2009). Integrating human papillomavirus vaccination in cervical cancer control programmes. *Public Health Genomics* 12, 352-361.
- Frazer,I.H. (2009). Interaction of human papillomaviruses with the host immune system: a well evolved relationship. *Virology* 384, 410-414.
- Frias,C., Pampalona,J., Genesca,A., and Tusell,L. (2012). Telomere dysfunction and genome instability. *Front Biosci.* 17, 2181-2196.
- Frost,J.J., Lindberg,L.D., and Finer,L.B. (2012). Young adults' contraceptive knowledge, norms and attitudes: associations with risk of unintended pregnancy. *Perspect. Sex Reprod. Health* 44, 107-116.
- Garcia-Chacon,R., Velasco-Ramirez,S.F., Flores-Romo,L., and Daneri-Navarro,A. (2009). Immunobiology of HPV Infection. *Arch. Med. Res.* 40, 443-448.
- Giuliano,A.R., Lee,J.H., Fulp,W., Villa,L.L., Lazcano,E., Papenfuss,M.R., Abrahamsen,M., Salmeron,J., Anic,G.M., Rollison,D.E., and Smith,D. (2011a). Incidence and clearance of genital human papillomavirus infection in men (HIM): a cohort study. *Lancet* 377, 932-940.

Giuliano,A.R., Lee,J.H., Fulp,W., Villa,L.L., Lazcano,E., Papenfuss,M.R., Abrahamsen,M., Salmeron,J., Anic,G.M., Rollison,D.E., and Smith,D. (2011b). Incidence and clearance of genital human papillomavirus infection in men (HIM): a cohort study. *Lancet* 377, 932-940.

Goldhaber-Fiebert,J.D., Stout,N.K., Salomon,J.A., Kuntz,K.M., and Goldie,S.J. (2008). Cost-effectiveness of cervical cancer screening with human papillomavirus DNA testing and HPV-16,18 vaccination. *J. Natl. Cancer Inst.* 100, 308-320.

Goldstein,R.L., Upadhyay,U.D., and Raine,T.R. (2013). With pills, patches, rings, and shots: who still uses condoms? A longitudinal cohort study. *J. Adolesc. Health* 52, 77-82.

Goncalves,M.A. and Donadi,E.A. (2004). Immune cellular response to HPV: current concepts. *Braz. J. Infect. Dis.* 8, 1-9.

Goodwin,E.C., Yang,E., Lee,C.J., Lee,H.W., DiMaio,D., and Hwang,E.S. (2000). Rapid induction of senescence in human cervical carcinoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 97, 10978-10983.

Govan,V.A. (2008). A novel vaccine for cervical cancer: quadrivalent human papillomavirus (types 6, 11, 16 and 18) recombinant vaccine (Gardasil). *Ther. Clin. Risk Manag.* 4, 65-70.

Green,J., Berrington de,G.A., Smith,J.S., Franceschi,S., Appleby,P., Plummer,M., and Beral,V. (2003). Human papillomavirus infection and use of oral contraceptives. *Br. J. Cancer* 88, 1713-1720.

Handisurya,A., Schellenbacher,C., and Kirnbauer,R. (2009). Diseases caused by human papillomaviruses (HPV). *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 7, 453-466.

Hankins,C., Coutlee,F., Lapointe,N., Simard,P., Tran,T., Samson,J., and Hum,L. (1999). Prevalence of risk factors associated with human papillomavirus infection in women living with HIV. Canadian Women's HIV Study Group. *CMAJ.* 160, 185-191.

Harper,D.M., Franco,E.L., Wheeler,C.M., Moscicki,A.B., Romanowski,B., Roteli-Martins,C.M., Jenkins,D., Schuind,A., Costa Clemens,S.A., and Dubin,G. (2006). Sustained efficacy up to 4.5 years of a bivalent L1 virus-like particle vaccine against human papillomavirus types 16 and 18: follow-up from a randomised control trial. *Lancet* 367, 1247-1255.

Harwood,C.A., Suretheran,T., Sasieni,P., Proby,C.M., Bordea,C., Leigh,I.M., Wojnarowska,F., Breuer,J., and McGregor,J.M. (2004). Increased risk of skin cancer associated with the presence of epidermodysplasia verruciformis human papillomavirus types in normal skin. *Br. J. Dermatol.* 150, 949-957.

Hebner,C.M. and Laimins,L.A. (2006). Human papillomaviruses: basic mechanisms of pathogenesis and oncogenicity. *Rev. Med. Virol.* 16, 83-97.

Hernandez,B.Y., Wilkens,L.R., Zhu,X., McDuffie,K., Thompson,P., Shvetsov,Y.B., Ning,L., and Goodman,M.T. (2008a). Circumcision and human papillomavirus infection in men: a site-specific comparison. *J. Infect. Dis.* 197, 787-794.

Hernandez,B.Y., Wilkens,L.R., Zhu,X., Thompson,P., McDuffie,K., Shvetsov,Y.B., Kamemoto,L.E., Killeen,J., Ning,L., and Goodman,M.T. (2008b). Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emerg. Infect. Dis.* 14, 888-894.

Hernandez,B.Y., Wilkens,L.R., Zhu,X., Thompson,P., McDuffie,K., Shvetsov,Y.B., Kamemoto,L.E., Killeen,J., Ning,L., and Goodman,M.T. (2008c). Transmission of human papillomavirus in heterosexual couples. *Emerg. Infect Dis* 14, 888-894.

Hibma,M.H. (2012). The immune response to papillomavirus during infection persistence and regression. *Open. Virol. J.* 6, 241-248.

Hildesheim,A. and Wang,S.S. (2002). Host and viral genetics and risk of cervical cancer: a review. *Virus Res.* 89, 229-240.

Hogewoning,C.J., Bleeker,M.C., van den Brule,A.J., Voorhorst,F.J., Snijders,P.J., Berkhof,J., Westenenk,P.J., and Meijer,C.J. (2003). Condom use promotes regression of cervical intraepithelial neoplasia and clearance of human papillomavirus: a randomized clinical trial. *Int. J. Cancer* 107, 811-816.

Holmgren,S.C., Patterson,N.A., Ozbun,M.A., and Lambert,P.F. (2005). The minor capsid protein L2 contributes to two steps in the human papillomavirus type 31 life cycle. *J. Virol.* 79, 3938-3948.

Horvath,C.A., Boulet,G.A., Renoux,V.M., Delvenne,P.O., and Bogers,J.P. (2010). Mechanisms of cell entry by human papillomaviruses: an overview. *Virol. J.* 7, 11.

Institut de la statistique du Québec. L'enquête québécoise sur la santé de la population, 2008 : pour en savoir plus sur la santé des Québécois. page consultée pour la dernière fois le 14 février 2013. 2010.

Ref Type: Online Source

Institut national de santé publique du Québec. La vaccination contre les VPH au Québec: mise à jour des connaissances et propositions du comité d'expert, page consultée pour la dernière fois le 13 février 2013. 2012.

Ref Type: Online Source

Ishii,Y., Ozaki,S., Tanaka,K., and Kanda,T. (2005). Human papillomavirus 16 minor capsid protein L2 helps capsomeres assemble independently of intercapsomeric disulfide bonding. *Virus Genes* 31, 321-328.

Jensen,K.E., Schmiedel,S., Norrild,B., Frederiksen,K., Iftner,T., and Kjaer,S.K. (2013). Parity as a cofactor for high-grade cervical disease among women with persistent human papillomavirus infection: a 13-year follow-up. *Br. J. Cancer* 108, 234-239.

Jeon,S., Allen-Hoffmann,B.L., and Lambert,P.F. (1995). Integration of human papillomavirus type 16 into the human genome correlates with a selective growth advantage of cells. *J. Virol.* 69, 2989-2997.

Jeon,S. and Lambert,P.F. (1995). Integration of human papillomavirus type 16 DNA into the human genome leads to increased stability of E6 and E7 mRNAs: implications for cervical carcinogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 92, 1654-1658.

Ji,J., Sun,H.K., Smith,J.S., Wang,H., Esser,M.T., Hu,S., Pretorius,R.G., Chen,W., Belinson,J.L., and Qiao,Y.L. (2012). Seroprevalence of human papillomavirus types 6, 11, 16 and 18 in Chinese women. *BMC. Infect. Dis.* 12, 137.

Johnston,C., Koelle,D.M., and Wald,A. (2011). HSV-2: in pursuit of a vaccine. *J. Clin. Invest* 121, 4600-4609.

Joyce,J.G., Tung,J.S., Przysiecki,C.T., Cook,J.C., Lehman,E.D., Sands,J.A., Jansen,K.U., and Keller,P.M. (1999). The L1 major capsid protein of human papillomavirus type 11 recombinant virus-like particles interacts with heparin and cell-surface glycosaminoglycans on human keratinocytes. *J. Biol. Chem.* 274, 5810-5822.

Kadish,A.S., Timmins,P., Wang,Y., Ho,G.Y., Burk,R.D., Ketz,J., He,W., Romney,S.L., Johnson,A., Angeletti,R., and Abadi,M. (2002). Regression of cervical intraepithelial neoplasia and loss of human papillomavirus (HPV) infection is associated with cell-mediated immune responses to an HPV type 16 E7 peptide. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 11, 483-488.

Kahn,J.A., Rosenthal,S.L., Succop,P.A., Ho,G.Y., and Burk,R.D. (2002a). Mediators of the association between age of first sexual intercourse and subsequent human papillomavirus infection. *Pediatrics* 109, E5.

Kahn,J.A., Rosenthal,S.L., Succop,P.A., Ho,G.Y., and Burk,R.D. (2002b). The interval between menarche and age of first sexual intercourse as a risk factor for subsequent HPV infection in adolescent and young adult women. *J. Pediatr.* 141, 718-723.

Kajitani,N., Satsuka,A., Kawate,A., and Sakai,H. (2012). Productive Lifecycle of Human Papillomaviruses that Depends Upon Squamous Epithelial Differentiation. *Front Microbiol.* 3, 152.

Kalogeropoulos,C., Koumpoulis,I., Papadiotis,E., Zioga,A., Gkrepi,K., Pappa,C., Paschides,C., Malamou-Mitsi,V., and Aspiotis,M. (2012). Squamous cell papilloma of the conjunctiva due to human papillomavirus (HPV): presentation of two cases and review of literature. *Clin. Ophthalmol.* 6, 1553-1561.

Kamper,N., Day,P.M., Nowak,T., Selinka,H.C., Florin,L., Bolscher,J., Hilbig,L., Schiller,J.T., and Sapp,M. (2006). A membrane-destabilizing peptide in capsid protein L2 is required for egress of papillomavirus genomes from endosomes. *J. Virol.* 80, 759-768.

Kanodia,S., Fahey,L.M., and Kast,W.M. (2007). Mechanisms used by human papillomaviruses to escape the host immune response. *Curr. Cancer Drug Targets.* 7, 79-89.

Keefe,M., al-Ghamdi,A., Coggon,D., Maitland,N.J., Egger,P., Keefe,C.J., Carey,A., and Sanders,C.M. (1994). Cutaneous warts in butchers. *Br. J. Dermatol.* 130, 9-14.

Kjaer,S.K., van den Brule,A.J., Bock,J.E., Poll,P.A., Engholm,G., Sherman,M.E., Walboomers,J.M., and Meijer,C.J. (1997). Determinants for genital human papillomavirus (HPV) infection in 1000 randomly chosen young Danish women with normal Pap smear: are there different risk profiles for oncogenic and nononcogenic HPV types? *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 6, 799-805.

- Kjaer,S.K., van den Brule,A.J., Paull,G., Svare,E.I., Sherman,M.E., Thomsen,B.L., Suntutum,M., Bock,J.E., Poll,P.A., and Meijer,C.J. (2002). Type specific persistence of high risk human papillomavirus (HPV) as indicator of high grade cervical squamous intraepithelial lesions in young women: population based prospective follow up study. *BMJ* 325, 572.
- Klingelhutz,A.J., Foster,S.A., and McDougall,J.K. (1996). Telomerase activation by the E6 gene product of human papillomavirus type 16. *Nature* 380, 79-82.
- Klumpp,D.J. and Laimins,L.A. (1999). Differentiation-induced changes in promoter usage for transcripts encoding the human papillomavirus type 31 replication protein E1. *Virology* 257, 239-246.
- Kovanda,A., Kocjan,B.J., Luzar,B., Bravo,I.G., and Poljak,M. (2011). Characterization of novel cutaneous human papillomavirus genotypes HPV-150 and HPV-151. *PLoS. One.* 6, e22529.
- Kraut-Becher,J.R. and Aral,S.O. (2003). Gap length: an important factor in sexually transmitted disease transmission. *Sex Transm. Dis.* 30, 221-225.
- Lancaster,W.D. and Olson,C. (1982). Animal papillomaviruses. *Microbiol. Rev.* 46, 191-207.
- Lazarczyk,M., Cassonnet,P., Pons,C., Jacob,Y., and Favre,M. (2009). The EVER proteins as a natural barrier against papillomaviruses: a new insight into the pathogenesis of human papillomavirus infections. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 73, 348-370.
- Leigh,I.M. and Glover,M.T. (1995). Cutaneous warts and tumours in immunosuppressed patients. *J. R. Soc. Med.* 88, 61-62.
- Li,M., Beard,P., Estes,P.A., Lyon,M.K., and Garcea,R.L. (1998). Intercapsomeric disulfide bonds in papillomavirus assembly and disassembly. *J. Virol.* 72, 2160-2167.
- Liao,S.F., Lee,W.C., Chen,H.C., Chuang,L.C., Pan,M.H., and Chen,C.J. (2012). Baseline human papillomavirus infection, high vaginal parity, and their interaction on cervical cancer risks after a follow-up of more than 10 years. *Cancer Causes Control* 23, 703-708.
- Liaw,K.L., Hildesheim,A., Burk,R.D., Gravitt,P., Wacholder,S., Manos,M.M., Scott,D.R., Sherman,M.E., Kurman,R.J., Glass,A.G., Anderson,S.M., and Schiffman,M. (2001). A prospective study of human papillomavirus (HPV) type 16 DNA detection by polymerase chain reaction and its association with acquisition and persistence of other HPV types. *J. Infect. Dis.* 183, 8-15.
- Lichtig,H., Algrisi,M., Botzer,L.E., Abadi,T., Verbitzky,Y., Jackman,A., Tommasino,M., Zehbe,I., and Sherman,L. (2006). HPV16 E6 natural variants exhibit different activities in functional assays relevant to the carcinogenic potential of E6. *Virology* 350, 216-227.
- Lippman,S.A., Sucupira,M.C., Jones,H.E., Luppi,C.G., Palefsky,J., van de Wijgert,J.H., Oliveira,R.L., and Diaz,R.S. (2010). Prevalence, distribution and correlates of endocervical human papillomavirus types in Brazilian women. *Int. J. STD AIDS* 21, 105-109.

Liu, J. and Thorp, S.C. (2002). Cell surface heparan sulfate and its roles in assisting viral infections. *Med. Res. Rev.* 22, 1-25.

Liu, J.S., Kuo, S.R., Makhov, A.M., Cyr, D.M., Griffith, J.D., Broker, T.R., and Chow, L.T. (1998). Human Hsp70 and Hsp40 chaperone proteins facilitate human papillomavirus-11 E1 protein binding to the origin and stimulate cell-free DNA replication. *J. Biol. Chem.* 273, 30704-30712.

Longworth, M.S. and Laimins, L.A. (2004a). Pathogenesis of human papillomaviruses in differentiating epithelia. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 68, 362-372.

Longworth, M.S. and Laimins, L.A. (2004b). The binding of histone deacetylases and the integrity of zinc finger-like motifs of the E7 protein are essential for the life cycle of human papillomavirus type 31. *J. Virol.* 78, 3533-3541.

Loo, Y.M. and Melendy, T. (2004). Recruitment of replication protein A by the papillomavirus E1 protein and modulation by single-stranded DNA. *J. Virol.* 78, 1605-1615.

Louie, K.S., de, S.S., Diaz, M., Castellsague, X., Herrero, R., Meijer, C.J., Shah, K., Franceschi, S., Munoz, N., and Bosch, F.X. (2009). Early age at first sexual intercourse and early pregnancy are risk factors for cervical cancer in developing countries. *Br. J. Cancer* 100, 1191-1197.

Lowy, D.R. and Schiller, J.T. (2006). Prophylactic human papillomavirus vaccines. *J. Clin. Invest* 116, 1167-1173.

Lusk, C.P., Makhnevych, T., and Wozniak, R.W. (2004). New ways to skin a kap: mechanisms for controlling nuclear transport. *Biochem. Cell Biol.* 82, 618-625.

Lusky, M., Hurwitz, J., and Seo, Y.S. (1994). The bovine papillomavirus E2 protein modulates the assembly of but is not stably maintained in a replication-competent multimeric E1-replication origin complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 91, 8895-8899.

Manhart, L.E. and Koutsky, L.A. (2002). Do condoms prevent genital HPV infection, external genital warts, or cervical neoplasia? A meta-analysis. *Sex Transm. Dis.* 29, 725-735.

Mantovani, F. and Banks, L. (2001). The human papillomavirus E6 protein and its contribution to malignant progression. *Oncogene* 20, 7874-7887.

Mao, C., Hughes, J.P., Kiviat, N., Kuypers, J., Lee, S.K., Adam, D.E., and Koutsky, L.A. (2003). Clinical findings among young women with genital human papillomavirus infection. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 188, 677-684.

Matsukura, T., Mitsuishi, T., Sugase, M., and Kawashima, M. (2010). Human papillomavirus type 7-associated condyloma. *Dermatology* 221, 5-8.

McBride, A.A. (2008). Replication and partitioning of papillomavirus genomes. *Adv. Virus Res.* 72, 155-205.

McBride, A.A., Oliveira, J.G., and McPhillips, M.G. (2006). Partitioning viral genomes in mitosis: same idea, different targets. *Cell Cycle* 5, 1499-1502.

McPhillips,M.G., Oliveira,J.G., Spindler,J.E., Mitra,R., and McBride,A.A. (2006). Brd4 is required for e2-mediated transcriptional activation but not genome partitioning of all papillomaviruses. *J. Virol.* 80, 9530-9543.

Mendez,F., Munoz,N., Posso,H., Molano,M., Moreno,V., van den Brule,A.J., Ronderos,M., Meijer,C., and Munoz,A. (2005). Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types and possible implications for the prevention of cervical cancer by HPV vaccines. *J. Infect. Dis.* 192, 1158-1165.

Mendoza,R., Gandhi,L., and Botchan,M.R. (1995). E1 recognition sequences in the bovine papillomavirus type 1 origin of DNA replication: interaction between half sites of the inverted repeats. *J. Virol.* 69, 3789-3798.

Mengual-Chulia,B., Garcia-Perez,R., Gottschling,M., Nindl,I., and Bravo,I.G. (2012). Novel animal papillomavirus sequences and accurate phylogenetic placement. *Mol. Phylogenet. Evol.* 65, 883-891.

Merckx,M., Liesbeth,W.V., Arbyn,M., Meys,J., Weyers,S., Temmerman,M., and Vanden Broeck,D. (2012). Transmission of carcinogenic human papillomavirus types from mother to child: a meta-analysis of published studies. *Eur. J. Cancer Prev.*

Middleton,K., Peh,W., Southern,S., Griffin,H., Sotlar,K., Nakahara,T., El-Sherif,A., Morris,L., Seth,R., Hibma,M., Jenkins,D., Lambert,P., Coleman,N., and Doorbar,J. (2003). Organization of human papillomavirus productive cycle during neoplastic progression provides a basis for selection of diagnostic markers. *J. Virol.* 77, 10186-10201.

Miller A.Stephen and Harley P.John (2005). Reptiles: The first amniotes. In *Zoology*, McGraw-Hill), pp. 312-325.

Ministère de la santé et des services sociaux du Québec. Virus du papillome humain (VPH), page consultée pour la dernière fois le 9 février 2013. 2013.
Ref Type: Online Source

Mittal,R., Pater,A., and Pater,M.M. (1993). Multiple human papillomavirus type 16 glucocorticoid response elements functional for transformation, transient expression, and DNA-protein interactions. *J. Virol.* 67, 5656-5659.

Modis,Y., Trus,B.L., and Harrison,S.C. (2002). Atomic model of the papillomavirus capsid. *EMBO J.* 21, 4754-4762.

Molano,M., Van den Brule,A., Plummer,M., Weiderpass,E., Posso,H., Arslan,A., Meijer,C.J., Munoz,N., and Franceschi,S. (2003). Determinants of clearance of human papillomavirus infections in Colombian women with normal cytology: a population-based, 5-year follow-up study. *Am. J. Epidemiol.* 158, 486-494.

Morales,R., Parada,R., Giuliano,A.R., Cruz,A., Castellsague,X., Salmeron,J., and Lazcano-Ponce,E. (2012a). HPV in female partners increases risk of incident HPV infection acquisition in heterosexual men in rural central Mexico. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 21, 1956-1965.

- Morales,R., Parada,R., Giuliano,A.R., Cruz,A., Castellsague,X., Salmeron,J., and Lazcano-Ponce,E. (2012b). HPV in female partners increases risk of incident HPV infection acquisition in heterosexual men in rural central Mexico. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 21, 1956-1965.
- Moreno,V., Bosch,F.X., Munoz,N., Meijer,C.J., Shah,K.V., Walboomers,J.M., Herrero,R., and Franceschi,S. (2002). Effect of oral contraceptives on risk of cervical cancer in women with human papillomavirus infection: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 359, 1085-1092.
- Moscicki,A.B. (2008). HPV Vaccines: today and in the Future. *J. Adolesc. Health* 43, S26-S40.
- Moscicki,A.B., Hills,N., Shiboski,S., Powell,K., Jay,N., Hanson,E., Miller,S., Clayton,L., Farhat,S., Broering,J., Darragh,T., and Palefsky,J. (2001). Risks for incident human papillomavirus infection and low-grade squamous intraepithelial lesion development in young females. *JAMA* 285, 2995-3002.
- Moscicki,A.B., Schiffman,M., Kjaer,S., and Villa,L.L. (2006). Chapter 5: Updating the natural history of HPV and anogenital cancer. *Vaccine* 24 Suppl 3, S3-42-S3/51.
- Mota,F., Rayment,N., Chong,S., Singer,A., and Chain,B. (1999). The antigen-presenting environment in normal and human papillomavirus (HPV)-related premalignant cervical epithelium. *Clin. Exp. Immunol.* 116, 33-40.
- Muller,M., Schleithoff,E.S., Stremmel,W., Melino,G., Krammer,P.H., and Schilling,T. (2006). One, two, three--p53, p63, p73 and chemosensitivity. *Drug Resist. Updat.* 9, 288-306.
- Munday,J.S., Hanlon,E.M., Howe,L., Squires,R.A., and French,A.F. (2007). Feline cutaneous viral papilloma associated with human papillomavirus type 9. *Vet. Pathol.* 44, 924-927.
- Munger,K., Baldwin,A., Edwards,K.M., Hayakawa,H., Nguyen,C.L., Owens,M., Grace,M., and Huh,K. (2004). Mechanisms of human papillomavirus-induced oncogenesis. *J. Virol.* 78, 11451-11460.
- Munger,K., Basile,J.R., Duensing,S., Eichten,A., Gonzalez,S.L., Grace,M., and Zacny,V.L. (2001). Biological activities and molecular targets of the human papillomavirus E7 oncoprotein. *Oncogene* 20, 7888-7898.
- Munoz,N., Castellsague,X., de Gonzalez,A.B., and Gissmann,L. (2006). Chapter 1: HPV in the etiology of human cancer. *Vaccine* 24 Suppl 3, S3-1-S310.
- Munoz,N., Franceschi,S., Bosetti,C., Moreno,V., Herrero,R., Smith,J.S., Shah,K.V., Meijer,C.J., and Bosch,F.X. (2002). Role of parity and human papillomavirus in cervical cancer: the IARC multicentric case-control study. *Lancet* 359, 1093-1101.
- Munoz,N., Mendez,F., Posso,H., Molano,M., van den Brule,A.J., Ronderos,M., Meijer,C., and Munoz,A. (2004a). Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results. *J. Infect. Dis.* 190, 2077-2087.

- Munoz,N., Mendez,F., Posso,H., Molano,M., van den Brule,A.J., Ronderos,M., Meijer,C., and Munoz,A. (2004b). Incidence, duration, and determinants of cervical human papillomavirus infection in a cohort of Colombian women with normal cytological results. *J. Infect. Dis.* *190*, 2077-2087.
- Nakahara,T., Nishimura,A., Tanaka,M., Ueno,T., Ishimoto,A., and Sakai,H. (2002). Modulation of the cell division cycle by human papillomavirus type 18 E4. *J. Virol.* *76*, 10914-10920.
- Nardelli-Haeffliger,D., Lurati,F., Wirthner,D., Spertini,F., Schiller,J.T., Lowy,D.R., Ponci,F., and De,G.P. (2005). Immune responses induced by lower airway mucosal immunisation with a human papillomavirus type 16 virus-like particle vaccine. *Vaccine* *23*, 3634-3641.
- Nelson,L.M., Rose,R.C., and Moroianu,J. (2002). Nuclear import strategies of high risk HPV16 L1 major capsid protein. *J. Biol. Chem.* *277*, 23958-23964.
- Nobbenhuis,M.A., Helmerhorst,T.J., van den Brule,A.J., Rozendaal,L., Bezemer,P.D., Voorhorst,F.J., and Meijer,C.J. (2002). High-risk human papillomavirus clearance in pregnant women: trends for lower clearance during pregnancy with a catch-up postpartum. *Br. J. Cancer* *87*, 75-80.
- Novak,N. and Peng,W.M. (2005). Dancing with the enemy: the interplay of herpes simplex virus with dendritic cells. *Clin. Exp. Immunol.* *142*, 405-410.
- Nyitray,A.G., Menezes,L., Lu,B., Lin,H.Y., Smith,D., Abrahamsen,M., Papenfuss,M., Gage,C., and Giuliano,A.R. (2012a). Genital human papillomavirus (HPV) concordance in heterosexual couples. *J. Infect. Dis.* *206*, 202-211.
- Nyitray,A.G., Menezes,L., Lu,B., Lin,H.Y., Smith,D., Abrahamsen,M., Papenfuss,M., Gage,C., and Giuliano,A.R. (2012b). Genital human papillomavirus (HPV) concordance in heterosexual couples. *J. Infect. Dis.* *206*, 202-211.
- O'Byrne,K.J. and Dalglish,A.G. (2001). Chronic immune activation and inflammation as the cause of malignancy. *Br. J. Cancer* *85*, 473-483.
- Okun,M.M., Day,P.M., Greenstone,H.L., Booy,F.P., Lowy,D.R., Schiller,J.T., and Roden,R.B. (2001). L1 interaction domains of papillomavirus L2 necessary for viral genome encapsidation. *J. Virol.* *75*, 4332-4342.
- Ong,C.K., Chan,S.Y., Campo,M.S., Fujinaga,K., Mavromara-Nazos,P., Labropoulou,V., Pfister,H., Tay,S.K., ter,M.J., Villa,L.L., and . (1993). Evolution of human papillomavirus type 18: an ancient phylogenetic root in Africa and intratype diversity reflect coevolution with human ethnic groups. *J. Virol.* *67*, 6424-6431.
- Oriel,J.D. (1971). Natural history of genital warts. *Br. J. Vener. Dis.* *47*, 1-13.
- Orlando,P.A., Gatenby,R.A., Giuliano,A.R., and Brown,J.S. (2012). Evolutionary ecology of human papillomavirus: trade-offs, coexistence, and origins of high-risk and low-risk types. *J. Infect. Dis.* *205*, 272-279.

Palefsky, J.M. (2003). Cervical human papillomavirus infection and cervical intraepithelial neoplasia in women positive for human immunodeficiency virus in the era of highly active antiretroviral therapy. *Curr. Opin. Oncol.* 15, 382-388.

Palefsky, J.M. (2010). Human papillomavirus-related disease in men: not just a women's issue. *J. Adolesc. Health* 46, S12-S19.

Park, H., Lee, S.W., Lee, I.H., Ryu, H.M., Cho, A.R., Kang, Y.S., Hong, S.R., Kim, S.S., Seong, S.J., Shin, S.M., and Kim, T.J. (2012). Rate of vertical transmission of human papillomavirus from mothers to infants: relationship between infection rate and mode of delivery. *Virol. J.* 9, 80.

Parkin, D.M. and Bray, F. (2006). Chapter 2: The burden of HPV-related cancers. *Vaccine* 24 *Suppl* 3, S3-11-S3/25.

Peh, W.L., Middleton, K., Christensen, N., Nicholls, P., Egawa, K., Sotlar, K., Brandsma, J., Percival, A., Lewis, J., Liu, W.J., and Doorbar, J. (2002). Life cycle heterogeneity in animal models of human papillomavirus-associated disease. *J. Virol.* 76, 10401-10416.

Peitsaro, P., Johansson, B., and Syrjanen, S. (2002). Integrated human papillomavirus type 16 is frequently found in cervical cancer precursors as demonstrated by a novel quantitative real-time PCR technique. *J. Clin. Microbiol.* 40, 886-891.

Perrons, C., Jelley, R., Kleter, B., Quint, W., and Brink, N. (2005). Detection of persistent high risk human papillomavirus infections with hybrid capture II and SPF10/LiPA. *J. Clin. Virol.* 32, 278-285.

Piccini, A., Storey, A., Romanos, M., and Banks, L. (1997). Regulation of human papillomavirus type 16 DNA replication by E2, glucocorticoid hormone and epidermal growth factor. *J. Gen. Virol.* 78 (Pt 8), 1963-1970.

Pierce Campbell, C.M., Lin, H.Y., Fulp, W., Papenfuss, M.R., Salmeron, J.J., Quiterio, M.M., Lazcano-Ponce, E., Villa, L.L., and Giuliano, A.R. (2013a). Consistent Condom Use Reduces the Genital Human Papillomavirus Burden Among High-Risk Men: The HPV Infection in Men Study. *J Infect Dis.*

Pierce Campbell, C.M., Lin, H.Y., Fulp, W., Papenfuss, M.R., Salmeron, J.J., Quiterio, M.M., Lazcano-Ponce, E., Villa, L.L., and Giuliano, A.R. (2013b). Consistent Condom Use Reduces the Genital Human Papillomavirus Burden Among High-Risk Men: The HPV Infection in Men Study. *J. Infect. Dis.*

Pocock Gillian and Richards Christopher D (2004). Physiologie des appareils reproducteurs masculins et féminin. In *Physiologie humaine - Les fondements de la médecine*, Masson, ed., pp. 445-468.

Ramanakumar, A.V., Goncalves, O., Richardson, H., Tellier, P., Ferenczy, A., Coutlee, F., and Franco, E.L. (2010a). Human papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV-16 integration in persistent and transient infections in young women. *BMC. Infect. Dis.* 10, 326.

Ramanakumar,R., Goncalves,O., Richardson,H., Tellier,P., Ferenczy,A., Coutlee,F., and Franco,E. (2010b). Human Papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 45 DNA loads and HPV-16 integrations in persistent and transient infections in young women. *BMC Infectious Diseases* 10, 326-338.

Richards,R.M., Lowy,D.R., Schiller,J.T., and Day,P.M. (2006). Cleavage of the papillomavirus minor capsid protein, L2, at a furin consensus site is necessary for infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 103, 1522-1527.

Richardson,H., Franco,E., Pintos,J., Bergeron,J., Arella,M., and Tellier,P. (2000). Determinants of low-risk and high-risk cervical human papillomavirus infections in Montreal University students. *Sex Transm. Dis.* 27, 79-86.

Rintala,M.A., Grenman,S.E., Puranen,M.H., Isolauri,E., Ekblad,U., Kero,P.O., and Syrjanen,S.M. (2005). Transmission of high-risk human papillomavirus (HPV) between parents and infant: a prospective study of HPV in families in Finland. *J. Clin. Microbiol.* 43, 376-381.

Roden,R.B., Day,P.M., Bronzo,B.K., Yutzy,W.H., Yang,Y., Lowy,D.R., and Schiller,J.T. (2001). Positively charged termini of the L2 minor capsid protein are necessary for papillomavirus infection. *J. Virol.* 75, 10493-10497.

Roden,R.B., Lowy,D.R., and Schiller,J.T. (1997). Papillomavirus is resistant to desiccation. *J. Infect. Dis.* 176, 1076-1079.

Roden,R.B., Yutzy,W.H., Fallon,R., Inglis,S., Lowy,D.R., and Schiller,J.T. (2000). Minor capsid protein of human genital papillomaviruses contains subdominant, cross-neutralizing epitopes. *Virology* 270, 254-257.

Rombaldi,R.L., Serafini,E.P., Mandelli,J., Zimmermann,E., and Losquiavo,K.P. (2008). Transplacental transmission of Human Papillomavirus. *Viol. J.* 5, 106.

Rousseau,M.C., Abrahamowicz,M., Villa,L.L., Costa,M.C., Rohan,T.E., and Franco,E.L. (2003a). Predictors of cervical coinfection with multiple human papillomavirus types. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 12, 1029-1037.

Rousseau,M.C., Pereira,J.S., Prado,J.C., Villa,L.L., Rohan,T.E., and Franco,E.L. (2001). Cervical coinfection with human papillomavirus (HPV) types as a predictor of acquisition and persistence of HPV infection. *J. Infect. Dis.* 184, 1508-1517.

Rousseau,M.C., Villa,L.L., Costa,M.C., Abrahamowicz,M., Rohan,T.E., and Franco,E. (2003b). Occurrence of cervical infection with multiple human papillomavirus types is associated with age and cytologic abnormalities. *Sex Transm. Dis.* 30, 581-587.

Sakakibara,N., Mitra,R., and McBride,A.A. (2011). The papillomavirus E1 helicase activates a cellular DNA damage response in viral replication foci. *J. Virol.* 85, 8981-8995.

Santé Canada. *Votre santé et vous - Chlamydie.* 2004.
Ref Type: Online Source

Santé Canada and Agence de santé publique du Canada. Virus du papillome humain (VPH), page consulté pour la dernière fois le 9 février 2013. 2010.

Ref Type: Online Source

Sapp,M. and Bienkowska-Haba,M. (2009). Viral entry mechanisms: human papillomavirus and a long journey from extracellular matrix to the nucleus. *FEBS J.* 276, 7206-7216.

Sapp,M. and Day,P.M. (2009). Structure, attachment and entry of polyoma- and papillomaviruses. *Virology* 384, 400-409.

Sasagawa,T., Basha,W., Yamazaki,H., and Inoue,M. (2001). High-risk and multiple human papillomavirus infections associated with cervical abnormalities in Japanese women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 10, 45-52.

Schelhaas,M., Ewers,H., Rajamaki,M.L., Day,P.M., Schiller,J.T., and Helenius,A. (2008). Human papillomavirus type 16 entry: retrograde cell surface transport along actin-rich protrusions. *PLoS. Pathog.* 4, e1000148.

Schiffman,M., Castle,P.E., Jeronimo,J., Rodriguez,A.C., and Wacholder,S. (2007). Human papillomavirus and cervical cancer. *Lancet* 370, 890-907.

Schiffman,M., Herrero,R., Desalle,R., Hildesheim,A., Wacholder,S., Rodriguez,A.C., Bratti,M.C., Sherman,M.E., Morales,J., Guillen,D., Alfaro,M., Hutchinson,M., Wright,T.C., Solomon,D., Chen,Z., Schussler,J., Castle,P.E., and Burk,R.D. (2005). The carcinogenicity of human papillomavirus types reflects viral evolution. *Virology* 337, 76-84.

Schlecht,N.F., Kulaga,S., Robitaille,J., Ferreira,S., Santos,M., Miyamura,R.A., Duarte-Franco,E., Rohan,T.E., Ferenczy,A., Villa,L.L., and Franco,E.L. (2001a). Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 286, 3106; 1-3114.

Schlecht,N.F., Kulaga,S., Robitaille,J., Ferreira,S., Santos,M., Miyamura,R.A., Duarte-Franco,E., Rohan,T.E., Ferenczy,A., Villa,L.L., and Franco,E.L. (2001b). Persistent human papillomavirus infection as a predictor of cervical intraepithelial neoplasia. *JAMA* 286, 3106-3114.

Schlecht,N.F., Trevisan,A., Duarte-Franco,E., Rohan,T.E., Ferenczy,A., Villa, LL, and Franco,E.L. (2003a). Viral load as a predictor of the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Int J Cancer* 103, 519-524.

Schlecht,N.F., Trevisan,A., Duarte-Franco,E., Rohan,T.E., Ferenczy,A., Villa,L.L., and Franco,E.L. (2003b). Viral load as a predictor of the risk of cervical intraepithelial neoplasia. *Int. J. Cancer* 103, 519-524.

Schuck,S. and Stenlund,A. (2005). Assembly of a double hexameric helicase. *Mol. Cell* 20, 377-389.

Schuman,P., Ohmit,S.E., Klein,R.S., Duerr,A., Cu-Uvin,S., Jamieson,D.J., Anderson,J., and Shah,K.V. (2003). Longitudinal study of cervical squamous intraepithelial lesions in human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and at-risk HIV-seronegative women. *J. Infect. Dis.* 188, 128-136.

Selinka,H.C., Giroglou,T., and Sapp,M. (2002). Analysis of the infectious entry pathway of human papillomavirus type 33 pseudovirions. *Virology* 299, 279-287.

Sellors,J.W., Karwalajtys,T.L., Kaczorowski,J., Mahony,J.B., Lytwyn,A., Chong,S., Sparrow,J., and Lorincz,A. (2003). Incidence, clearance and predictors of human papillomavirus infection in women. *CMAJ*. 168, 421-425.

Sellors,J.W., Mahony,J.B., Kaczorowski,J., Lytwyn,A., Bangura,H., Chong,S., Lorincz,A., Dalby,D.M., Janjusevic,V., and Keller,J.L. (2000). Prevalence and predictors of human papillomavirus infection in women in Ontario, Canada. Survey of HPV in Ontario Women (SHOW) Group. *CMAJ*. 163, 503-508.

Sethi,S., Muller,M., Schneider,A., Blettner,M., Smith,E., Turek,L., Wahrendorf,J., Gissmann,L., and Chang-Claude,J. (1998). Serologic response to the E4, E6, and E7 proteins of human papillomavirus type 16 in pregnant women. *Am. J. Obstet. Gynecol.* 178, 360-364.

Silins,I., Ryd,W., Strand,A., Wadell,G., Tornberg,S., Hansson,B.G., Wang,X., Arnheim,L., Dahl,V., Bremell,D., Persson,K., Dillner,J., and Rylander,E. (2005). Chlamydia trachomatis infection and persistence of human papillomavirus. *Int. J. Cancer* 116, 110-115.

Simonetti,A.C., Melo,J.H., de Souza,P.R., Brunaska,D., and de Lima Filho,J.L. (2009). Immunological's host profile for HPV and Chlamydia trachomatis, a cervical cancer cofactor. *Microbes. Infect.* 11, 435-442.

Sjo,N.C., von,B.C., Cassonnet,P., Norrild,B., Prause,J.U., Vinding,T., and Heegaard,S. (2007). Human papillomavirus in normal conjunctival tissue and in conjunctival papilloma: types and frequencies in a large series. *Br. J. Ophthalmol.* 91, 1014-1015.

Smith,E.M., Ritchie,J.M., Yankowitz,J., Swarnavel,S., Wang,D., Haugen,T.H., and Turek,L.P. (2004a). Human papillomavirus prevalence and types in newborns and parents: concordance and modes of transmission. *Sex Transm. Dis.* 31, 57-62.

Smith,J.S., Bosetti,C., Munoz,N., Herrero,R., Bosch,F.X., Eluf-Neto,J., Meijer,C.J., van den Brule,A.J., Franceschi,S., and Peeling,R.W. (2004b). Chlamydia trachomatis and invasive cervical cancer: a pooled analysis of the IARC multicentric case-control study. *Int. J. Cancer* 111, 431-439.

Smith,J.S., Herrero,R., Bosetti,C., Munoz,N., Bosch,F.X., Eluf-Neto,J., Castellsague,X., Meijer,C.J., van den Brule,A.J., Franceschi,S., and Ashley,R. (2002a). Herpes simplex virus-2 as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer. *J. Natl. Cancer Inst.* 94, 1604-1613.

Smith,J.S., Munoz,N., Herrero,R., Eluf-Neto,J., Ngelangel,C., Franceschi,S., Bosch,F.X., Walboomers,J.M., and Peeling,R.W. (2002b). Evidence for Chlamydia trachomatis as a human papillomavirus cofactor in the etiology of invasive cervical cancer in Brazil and the Philippines. *J. Infect. Dis.* 185, 324-331.

Société canadienne du cancer. Qu'est-ce que le cancer du col de l'utérus? 2010.

Ref Type: Online Source

Sopori,M. (2002). Effects of cigarette smoke on the immune system. *Nat. Rev. Immunol.* 2, 372-377.

Spillmann,D. (2001). Heparan sulfate: anchor for viral intruders? *Biochimie* 83, 811-817.

Stacey,S.N., Jordan,D., Williamson,A.J., Brown,M., Coote,J.H., and Arrand,J.R. (2000). Leaky scanning is the predominant mechanism for translation of human papillomavirus type 16 E7 oncoprotein from E6/E7 bicistronic mRNA. *J. Virol.* 74, 7284-7297.

Stanley,M.A. (2009). Immune responses to human papilloma viruses. *Indian J. Med. Res.* 130, 266-276.

Steger,G. and Corbach,S. (1997). Dose-dependent regulation of the early promoter of human papillomavirus type 18 by the viral E2 protein. *J. Virol.* 71, 50-58.

Stern,Y., Filipovich,A., Cotton,R.T., and Segal,K. (2007). Immunocompetency in children with recurrent respiratory papillomatosis: prospective study. *Ann. Otol. Rhinol. Laryngol.* 116, 169-171.

Strickler,H.D., Burk,R.D., Fazzari,M., Anastos,K., Minkoff,H., Massad,L.S., Hall,C., Bacon,M., Levine,A.M., Watts,D.H., Silverberg,M.J., Xue,X., Schlecht,N.F., Melnick,S., and Palefsky,J.M. (2005). Natural history and possible reactivation of human papillomavirus in human immunodeficiency virus-positive women. *J. Natl. Cancer Inst.* 97, 577-586.

Stubenrauch,F., Hummel,M., Iftner,T., and Laimins,L.A. (2000). The E8E2C protein, a negative regulator of viral transcription and replication, is required for extrachromosomal maintenance of human papillomavirus type 31 in keratinocytes. *J. Virol.* 74, 1178-1186.

Sun,Y., Han,H., and McCance,D.J. (1998). Active domains of human papillomavirus type 11 E1 protein for origin replication. *J. Gen. Virol.* 79 (Pt 7), 1651-1658.

Swan,D.C., Tucker,R.A., Tortolero-Luna,G., Mitchell,M.F., Wideroff,L., Unger,E.R., Nisenbaum,R.A., Reeves,W.C., and Icenogle,J.P. (1999a). Human papillomavirus (HPV) DNA copy number is dependent on grade of cervical disease and HPV type. *J. Clin. Microbiol.* 37, 1030-1034.

Swan,D.C., Tucker,R.A., Tortolero-Luna,G., Mitchell,M.F., Wideroff,L., Unger,E.R., Nisenbaum,R.A., Reeves,W.C., and Icenogle,J.P. (1999b). Human papillomavirus (HPV) DNA copy number is dependent on grade of cervical disease and HPV type. *J Clin Microbiol* 37, 1030-1034.

Swindle,C.S. and Engler,J.A. (1998). Association of the human papillomavirus type 11 E1 protein with histone H1. *J. Virol.* 72, 1994-2001.

Syrjanen,S. and Puranen,M. (2000). Human papillomavirus infections in children: the potential role of maternal transmission. *Crit Rev. Oral Biol. Med.* 11, 259-274.

Terenzi,F., Saikia,P., and Sen,G.C. (2008). Interferon-inducible protein, P56, inhibits HPV DNA replication by binding to the viral protein E1. *EMBO J.* 27, 3311-3321.

Thiagalingam,S., Cheng,K.H., Lee,H.J., Mineva,N., Thiagalingam,A., and Ponte,J.F. (2003). Histone deacetylases: unique players in shaping the epigenetic histone code. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 983, 84-100.

Thomas,D.B., Ray,R.M., Kuypers,J., Kiviat,N., Koetsawang,A., Ashley,R.L., Qin,Q., and Koetsawang,S. (0 AD). Human papillomaviruses and cervical cancer in Bangkok. III. The role of husbands and commercial sex workers. *Am J Epidemiol* 153, 740-748.

Thomas,J.T., Hubert,W.G., Ruesch,M.N., and Laimins,L.A. (1999a). Human papillomavirus type 31 oncoproteins E6 and E7 are required for the maintenance of episomes during the viral life cycle in normal human keratinocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 96, 8449-8454.

Thomas,K.K., Hughes,J.P., Kuypers,J.M., Kiviat,N.B., Lee,S.K., Adam,D.E., and Koutsky,L.A. (2000). Concurrent and sequential acquisition of different genital human papillomavirus types. *J. Infect. Dis.* 182, 1097-1102.

Thomas,M., Laura,R., Hepner,K., Guccione,E., Sawyers,C., Lasky,L., and Banks,L. (2002). Oncogenic human papillomavirus E6 proteins target the MAGI-2 and MAGI-3 proteins for degradation. *Oncogene* 21, 5088-5096.

Thomas,M., Pim,D., and Banks,L. (1999b). The role of the E6-p53 interaction in the molecular pathogenesis of HPV. *Oncogene* 18, 7690-7700.

Thorland,E.C., Myers,S.L., Gostout,B.S., and Smith,D.I. (2003). Common fragile sites are preferential targets for HPV16 integrations in cervical tumors. *Oncogene* 22, 1225-1237.

Tilburgs,T. and Strominger,J.L. (2013). CD8+ Effector T Cells at the Fetal-Maternal Interface, Balancing Fetal Tolerance and Antiviral Immunity. *Am. J. Reprod. Immunol.* 69, 395-407.

Tindle,R.W. (2002). Immune evasion in human papillomavirus-associated cervical cancer. *Nat. Rev. Cancer* 2, 59-65.

Tobian,A.A., Serwadda,D., Quinn,T.C., Kigozi,G., Gravitt,P.E., Laeyendecker,O., Charvat,B., Ssempijja,V., Riedesel,M., Oliver,A.E., Nowak,R.G., Moulton,L.H., Chen,M.Z., Reynolds,S.J., Wawer,M.J., and Gray,R.H. (2009). Male circumcision for the prevention of HSV-2 and HPV infections and syphilis. *N. Engl. J. Med.* 360, 1298-1309.

Tran-Thanh,D., Koushik,A., Provencher,D., Drouin,P., Dubuc-Lissoir,J., Gauthier,P., Allaire,G., Kornegay,J., Franco,E., and Coutlee,F. (2002). Detection of human herpes virus type 6 DNA in precancerous lesions of the uterine cervix. *J. Med. Virol.* 68, 606-610.

Tricco,A.C., Ng,C.H., Gilca,V., Anonychuk,A., Pham,B., and Berliner,S. (2011). Canadian oncogenic human papillomavirus cervical infection prevalence: systematic review and meta-analysis. *BMC. Infect. Dis.* 11, 235.

Trottier,H. and Burchell,A.N. (2009). Epidemiology of mucosal human papillomavirus infection and associated diseases. *Public Health Genomics* 12, 291-307.

- Trottier,H., Ferreira,S., Thomann,P., Costa,M.C., Sobrinho,J.S., Prado,J.C., Rohan,T.E., Villa,L.L., and Franco,E.L. (2010). Human papillomavirus infection and reinfection in adult women: the role of sexual activity and natural immunity. *Cancer Res.* *70*, 8569-8577.
- Trottier,H. and Franco,E.L. (2006a). The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* *24 Suppl 1*, S1-15.
- Trottier,H. and Franco,E.L. (2006b). The epidemiology of genital human papillomavirus infection. *Vaccine* *24*, S1-15.
- Trottier,H., Mahmud,S., Prado,J.C., Sobrinho,J.S., Costa,M.C., Rohan,T.E., Villa,L.L., and Franco,E.L. (2008a). Type-specific duration of human papillomavirus infection: implications for human papillomavirus screening and vaccination. *J Infect Dis* *197*, 1436-1447.
- Trottier,H., Mahmud,S., Prado,J.C., Sobrinho,J.S., Costa,M.C., Rohan,T.E., Villa,L.L., and Franco,E.L. (2008b). Type-specific duration of human papillomavirus infection: implications for human papillomavirus screening and vaccination. *J. Infect. Dis.* *197*, 1436-1447.
- Tungteakkhun,S.S. and Duerksen-Hughes,P.J. (2008). Cellular binding partners of the human papillomavirus E6 protein. *Arch. Virol.* *153*, 397-408.
- Vaccarella,S., Herrero,R., Dai,M., Snijders,P.J., Meijer,C.J., Thomas,J.O., Hoang Anh,P.T., Ferreccio,C., Matos,E., Posso,H., de,S.S., Shin,H.R., Sukvirach,S., Lazcano-Ponce,E., Ronco,G., Rajkumar,R., Qiao,Y.L., Munoz,N., and Franceschi,S. (2006). Reproductive factors, oral contraceptive use, and human papillomavirus infection: pooled analysis of the IARC HPV prevalence surveys. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* *15*, 2148-2153.
- van Haalen,F.M., Bruggink,S.C., Gussekloo,J., Assendelft,W.J., and Eekhof,J.A. (2009). Warts in primary schoolchildren: prevalence and relation with environmental factors. *Br. J. Dermatol.* *161*, 148-152.
- Veldhuijzen,N.J., Snijders,P.J., Reiss,P., Meijer,C.J., and van de Wijgert,J.H. (2010a). Factors affecting transmission of mucosal human papillomavirus. *Lancet Infect. Dis.* *10*, 862-874.
- Veldhuijzen,N.J., Snijders,P.J., Reiss,P., Meijer,C.J., and van de Wijgert,J.H. (2010b). Factors affecting transmission of mucosal human papillomavirus. *Lancet Infect Dis* *10*, 862-874.
- Veldman,T., Horikawa,I., Barrett,J.C., and Schlegel,R. (2001). Transcriptional activation of the telomerase hTERT gene by human papillomavirus type 16 E6 oncoprotein. *J. Virol.* *75*, 4467-4472.
- Venkatesan,N.N., Pine,H.S., and Underbrink,M.P. (2012). Recurrent respiratory papillomatosis. *Otolaryngol. Clin. North Am.* *45*, 671-6ix.
- Venuti,A., Paolini,F., Nasir,L., Corteggio,A., Roperto,S., Campo,M.S., and Borzacchiello,G. (2011). Papillomavirus E5: the smallest oncoprotein with many functions. *Mol. Cancer* *10*, 140.

Verhoeven,V., Baay,M., Weyler,J., Avonts,D., Lardon,F., Van,R.P., and Vermorken,J.B. (2004). Concomitant Chlamydia trachomatis and human papilloma virus infection cannot be attributed solely to sexual behaviour. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 23, 735-737.

Villa, L. L., Franco, E. L., Caballero, O. L., Rahal, P., Ferenczy, A., and Rohan, T. Viral load, persistent cervical HPV infection, and cumulative risk of cervical intraepithelial neoplasia in a high risk area. 15th International papillomavirus Conference Gold Coast[Australia]. 1996.

Ref Type: Abstract

Villa,L.L., Sichero,L., Rahal,P., Caballero,O., Ferenczy,A., Rohan,T., and Franco,E.L. (2000). Molecular variants of human papillomavirus types 16 and 18 preferentially associated with cervical neoplasia. *J. Gen. Virol.* 81, 2959-2968.

Vinokurova,S., Wentzensen,N., Einkenkel,J., Klaes,R., Ziegert,C., Melsheimer,P., Sartor,H., Horn,L.C., Hockel,M., and von Knebel,D.M. (2005). Clonal history of papillomavirus-induced dysplasia in the female lower genital tract. *J. Natl. Cancer Inst.* 97, 1816-1821.

Viscidi,R.P., Snyder,B., Cu-Uvin,S., Hogan,J.W., Clayman,B., Klein,R.S., Sobel,J., and Shah,K.V. (2005). Human papillomavirus capsid antibody response to natural infection and risk of subsequent HPV infection in HIV-positive and HIV-negative women. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.* 14, 283-288.

Wald,A., Langenberg,A.G., Link,K., Izu,A.E., Ashley,R., Warren,T., Tyring,S., Douglas,J.M., Jr., and Corey,L. (2001). Effect of condoms on reducing the transmission of herpes simplex virus type 2 from men to women. *JAMA* 285, 3100-3106.

Wang,Q., Griffin,H., Southern,S., Jackson,D., Martin,A., McIntosh,P., Davy,C., Masterson,P.J., Walker,P.A., Laskey,P., Omary,M.B., and Doorbar,J. (2004). Functional analysis of the human papillomavirus type 16 E1=E4 protein provides a mechanism for in vivo and in vitro keratin filament reorganization. *J. Virol.* 78, 821-833.

Wang,S.S. and Hildesheim,A. (2003). Chapter 5: Viral and host factors in human papillomavirus persistence and progression. *J. Natl. Cancer Inst. Monogr* 35-40.

Wang,S.S., Hildesheim,A., Gao,X., Schiffman,M., Herrero,R., Bratti,M.C., Sherman,M.E., Barnes,W.A., Greenberg,M.D., McGowan,L., Mortel,R., Schwartz,P.E., Zaino,R.J., Glass,A.G., Burk,R.D., Karacki,P., and Carrington,M. (2002). Comprehensive analysis of human leukocyte antigen class I alleles and cervical neoplasia in 3 epidemiologic studies. *J. Infect. Dis.* 186, 598-605.

Watts,D.H., Fazzari,M., Minkoff,H., Hillier,S.L., Sha,B., Glesby,M., Levine,A.M., Burk,R., Palefsky,J.M., Moxley,M., Ahdieh-Grant,L., and Strickler,H.D. (2005). Effects of bacterial vaginosis and other genital infections on the natural history of human papillomavirus infection in HIV-1-infected and high-risk HIV-1-uninfected women. *J. Infect. Dis.* 191, 1129-1139.

Wawer,M.J., Tobian,A.A., Kigozi,G., Kong,X., Gravitt,P.E., Serwadda,D., Nalugoda,F., Makumbi,F., Ssempiija,V., Sewankambo,N., Watya,S., Eaton,K.P., Oliver,A.E., Chen,M.Z., Reynolds,S.J., Quinn,T.C., and Gray,R.H. (2011). Effect of circumcision of HIV-negative

men on transmission of human papillomavirus to HIV-negative women: a randomised trial in Rakai, Uganda. *Lancet* 377, 209-218.

Weissenborn,S.J., Funke,A.M., Hellmich,M., Mallmann,P., Fuchs,P.G., Pfister,H.J., and Wieland,U. (2003a). Oncogenic human papillomavirus DNA loads in human immunodeficiency virus-positive women with high-grade cervical lesions are strongly elevated. *J. Clin. Microbiol.* 41, 2763-2767.

Weissenborn,S.J., Funke,A.M., Hellmich,M., Mallmann,P., Fuchs,P.G., Pfister,H.J., and Wieland,U. (2003b). Oncogenic Human papillomavirus DNA loads in human immunodeficiency virus-positive women with High-grade cervical lesions are strongly elevated. *J Clin Microbiol* 41, 2763-2767.

Welters,M.J., van der Logt,P., van den Eeden,S.J., Kwappenberg,K.M., Drijfhout,J.W., Fleuren,G.J., Kenter,G.G., Melief,C.J., van der Burg,S.H., and Offringa,R. (2006). Detection of human papillomavirus type 18 E6 and E7-specific CD4+ T-helper 1 immunity in relation to health versus disease. *Int. J. Cancer* 118, 950-956.

Wen,L.M., Estcourt,C.S., Simpson,J.M., and Mindel,A. (1999). Risk factors for the acquisition of genital warts: are condoms protective? *Sex Transm. Infect.* 75, 312-316.

White,E. (1994). Tumour biology. p53, guardian of Rb. *Nature* 371, 21-22.

Widdice,L., Ma,Y., Jonte,J., Farhat,S., Breland,D., Shiboski,S., and Moscicki,A.B. (2013a). Concordance and transmission of human papillomavirus within heterosexual couples observed over short intervals. *J. Infect. Dis.* 207, 1286-1294.

Widdice,L., Ma,Y., Jonte,J., Farhat,S., Breland,D., Shiboski,S., and Moscicki,A.B. (2013b). Concordance and transmission of human papillomavirus within heterosexual couples observed over short intervals. *J Infect Dis* 207, 1286-1294.

Widdice,L.E., Breland,D.J., Jonte,J., Farhat,S., Ma,Y., Leonard,A.C., and Moscicki,A.B. (2010). Human papillomavirus concordance in heterosexual couples. *J. Adolesc. Health* 47, 151-159.

Williams,V.M., Filippova,M., Soto,U., and Duerksen-Hughes,P.J. (2011). HPV-DNA integration and carcinogenesis: putative roles for inflammation and oxidative stress. *Future. Virol.* 6, 45-57.

Wilson,V.G., West,M., Woytek,K., and Rangasamy,D. (2002). Papillomavirus E1 proteins: form, function, and features. *Virus Genes* 24, 275-290.

Winer,R.L., Feng,Q., Hughes,J.P., O'Reilly,S., Kiviat,N.B., and Koutsky,L.A. (2008). Risk of female human papillomavirus acquisition associated with first male sex partner. *J. Infect. Dis.* 197, 279-282.

Winer,R.L., Hughes,J.P., Feng,Q., O'Reilly,S., Kiviat,N.B., Holmes,K.K., and Koutsky,L.A. (2006). Condom use and the risk of genital human papillomavirus infection in young women. *N. Engl. J. Med.* 354, 2645-2654.

- Winer,R.L., Lee,S.K., Hughes,J.P., Adam,D.E., Kiviat,N.B., and Koutsky,L.A. (2003a). Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am. J. Epidemiol.* 157, 218-226.
- Winer,R.L., Lee,S.K., Hughes,J.P., Adam,D.E., Kiviat,N.B., and Koutsky,L.A. (2003b). Genital human papillomavirus infection: incidence and risk factors in a cohort of female university students. *Am J Epidemiol* 157, 218-226.
- Wise-Draper,T.M. and Wells,S.I. (2008). Papillomavirus E6 and E7 proteins and their cellular targets. *Front Biosci.* 13, 1003-1017.
- Woodman,C.B., Collins,S., Winter,H., Bailey,A., Ellis,J., Prior,P., Yates,M., Rollason,T.P., and Young,L.S. (2001). Natural history of cervical human papillomavirus infection in young women: a longitudinal cohort study. *Lancet* 357, 1831-1836.
- Woodman,C.B., Collins,S.I., and Young,L.S. (2007). The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues. *Nat. Rev. Cancer* 7, 11-22.
- Wooldridge,T.R. and Laimins,L.A. (2008). Regulation of human papillomavirus type 31 gene expression during the differentiation-dependent life cycle through histone modifications and transcription factor binding. *Virology* 374, 371-380.
- Xu,Y.F., Zhang,Y.Q., Xu,X.M., and Song,G.X. (2006). Papillomavirus virus-like particles as vehicles for the delivery of epitopes or genes. *Arch. Virol.* 151, 2133-2148.
- Yasugi,T., Benson,J.D., Sakai,H., Vidal,M., and Howley,P.M. (1997). Mapping and characterization of the interaction domains of human papillomavirus type 16 E1 and E2 proteins. *J. Virol.* 71, 891-899.
- Ylitalo,N., Sorensen,P., Josefsson,A.M., Magnusson,P.K., Andersen,P.K., Ponten,J., Adami,H.O., Gyllensten,U.B., and Melbye,M. (2000a). Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet* 355, 2194-2198.
- Ylitalo,N., Sorensen,P., Josefsson,A.M., Magnusson,P.K.E., Anderson,P.K., Ponten,J., Adami,H.O., Gyllensten,U.B., and Melbye,M. (2000b). Consistent high viral load of human papillomavirus 16 and risk of cervical carcinoma in situ: a nested case-control study. *Lancet* 355, 2194-2198.
- Yoshida,K., Furumoto,H., Abe,A., Kato,T., Nishimura,M., Kuwahara,A., Maeda,K., Matsuzaki,T., and Irahara,M. (2011). The possibility of vertical transmission of human papillomavirus through maternal milk. *J. Obstet. Gynaecol.* 31, 503-506.
- Yost,N.P., Santoso,J.T., McIntire,D.D., and Iliya,F.A. (1999). Postpartum regression rates of antepartum cervical intraepithelial neoplasia II and III lesions. *Obstet. Gynecol.* 93, 359-362.
- Zhang,B., Chen,W., and Roman,A. (2006). The E7 proteins of low- and high-risk human papillomaviruses share the ability to target the pRB family member p130 for degradation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 103, 437-442.

Zhang,B., Li,P., Wang,E., Brahmi,Z., Dunn,K.W., Blum,J.S., and Roman,A. (2003). The E5 protein of human papillomavirus type 16 perturbs MHC class II antigen maturation in human foreskin keratinocytes treated with interferon-gamma. *Virology* 310, 100-108.

Zheng,Z.M. and Baker,C.C. (2006). Papillomavirus genome structure, expression, and post-transcriptional regulation. *Front Biosci.* 11, 2286-2302.

Zhou,J., Sun,X.Y., Louis,K., and Frazer,I.H. (1994). Interaction of human papillomavirus (HPV) type 16 capsid proteins with HPV DNA requires an intact L2 N-terminal sequence. *J. Virol.* 68, 619-625.

zur Hausen,H. (2009). The search for infectious causes of human cancers: where and why. *Virology* 392, 1-10.

