

## Profil génotypique du papillomavirus humain rencontré dans l'environnement de Kinshasa : intérêt vaccinal

Ali-Risasi C<sup>1</sup>, Praet M<sup>3</sup>, Van Renterghem L<sup>4</sup>, Zinga-Ilunga B<sup>2</sup>, Sengeyi D<sup>2</sup>, Lokomba V<sup>2</sup>, Mukamina L<sup>2</sup>, Ndarabu A<sup>5</sup>, Kayembe NN<sup>1</sup>, Tshilolo L<sup>5</sup>, Mukumbi MH<sup>6</sup>

1. Département de Biologie Médicale, Service de Biologie Clinique. 2. Département de Gynécologie et Obstétrique, Cliniques Universitaires de Kinshasa. 3. Département d'Anatomie Pathologique. 4. Département de Virologie, Hôpital Universitaire de Gand. 5. Centre Hospitalier de Monkole. 6. ACS/AMO-CONGO (Action Communautaire contre le Sida/Avenir Meilleur pour les Orphelins du Sida au Congo).

*Med Trop* 2008; **68** : 617-620

**RÉSUMÉ** • Les vaccins anti-HPV proposés, Cervarix® de Glaxo-Smith-Kline et Gardasil® de Merck, ciblent deux types du HPV à haut risque, le 16 et 18, dont la prévalence a été évaluée surtout en Europe de l'Ouest et en Amérique du Nord entre 60 et 70 %. L'objectif de l'étude était de caractériser génétiquement les souches du HPV rencontrées dans la population des femmes en âge de procréer vivant à Kinshasa et d'en discuter les conséquences sur le plan de la vaccination anti-HPV. La collecte des données et le prélèvement des spécimens s'étaient déroulés à Kinshasa dans des sites de dépistage volontaire et du traitement du VIH. Le génotypage du HPV était conduit sur 55 cas portant des lésions dysplasiques du col utérin, dont 85,5 % (47/55) étaient séropositifs pour le VIH. La détection et le typage du HPV étaient réalisés par la technique Inno-Lipa® (Innogenetics Line Probe Assay) de Glaxo-Smith-Kline. La recherche du HPV était positive chez 98,2 % (54/55) des patientes; sur 153 HPV isolés, 23 types de HPV étaient identifiés dont 83,0 % (127/153) à haut pouvoir oncogène, en ordre décroissant de fréquence suivant : 68, 35, 51, 52, 16, 31, 18, 17, 33, 45, 56, 58 et 59. La fréquence des souches trouvées par patiente variait de 1 à 8 (moyenne  $\pm$  écart-type :  $2,8 \pm 2,0$ ). Les types 16, 18, représentant 11,8 % des isolats (18/153), ont été détectés chez 33,3 % (18/54) des patientes. Le spectre génotypique du HPV trouvé à Kinshasa semble différent de celui trouvé en Europe et en Amérique du Nord. Ce résultat, s'il est confirmé par des études plus étendues, présage une faible efficacité des vaccins anti-HPV dans l'environnement de Kinshasa.

**MOTS-CLÉS** • Génotypes HPV. Lésions dysplasiques. Col utérin. Kinshasa.

### HUMAN PAPILLOMAVIRUS GENOTYPE PROFILE IN KINSHASA, DEMOCRATIC REPUBLIC OF THE CONGO: IMPLICATIONS FOR VACCINATION

**ABSTRACT** • Proposed anti-human papillomavirus (HPV) vaccines, i.e., Cervarix® (GlaxoSmith-Kline) and Gardasil® (Merck), are designed to prevent infection by two high-risk HPV types, i.e., 16 and 18, for which estimation mainly in Western Europe and North America have demonstrated a prevalence 60 to 70%. Objective: The purpose of this study was to determine the genotype profile of HPV strains encountered in the women of childbearing age in Kinshasa, Democratic Republic of the Congo and discuss the implications of this profile for anti-HPV vaccination. Methods: Data and specimen collection was carried out at a voluntary HIV screening and treatment facility. Genotyping of HPV was performed in 55 patients presenting dysplastic lesions of the uterine cervix including 47 (85.5%) who were HIV-seropositive. Detection and typing of HPV were performed using the Inno-Lipa® technique (Innogenetics Line Probe Assay) from Glaxo-Smith-Kline. Results: Tests for HPV were positive in 54 patients (98.2%). A total of 153 HPV strains were isolated. Twenty-three HPV types were identified including 83.0% with high oncogenic activity. In order of frequency the oncogenic types were as follows: 68, 35, 51, 52, 16, 31, 18, 17, 33, 45, 56, 58 and 59. Strain frequency per patient ranged from 1 to 8 (mean  $\pm$  standard deviation,  $2,8 \pm 2,0$ ). Types 16 and 18 accounted for 11.8% of the isolated strains (18/153) and were observed in 33.3% of patients (18/54). Conclusion: The findings of this study suggest that the HPV genotype profile in Kinshasa differs from the profile observed in Western Europe and North America. If confirmed by larger-scale studies, this result bodes poorly for the efficacy of anti-HPV vaccines in Kinshasa.

**KEY WORDS** • HPV genotypes. Dysplastic lesions. Uterine cervix. Kinshasa. Democratic Republic of the Congo.

Le profil de distribution des types du Papillomavirus humain (Human Papillomavirus : HPV) en Afrique paraît différent de celui observé de par le monde (1). Si cette différence porte également sur la fréquence relative des types 16 et 18 du HPV, il est à craindre que celle-ci va avoir un retentissement négatif sur l'efficacité des vaccins déployés, car ceux-ci visent sélectivement ces types retrouvés dans environ 70 % des cas en Europe de l'ouest et en Amérique du nord (2).

L'objectif de la présente étude a consisté à caractériser génétiquement les souches du HPV rencontrées dans l'environnement

de Kinshasa et à en discuter les conséquences sur le plan de la vaccination anti-HPV.

### Matériel et méthodes

#### Sites et période d'étude

Le recrutement des cas, ainsi que la collecte des données et le prélèvement des spécimens s'étaient déroulés à Kinshasa, du 6 juillet 2006 au 5 janvier 2007, parmi les patientes fréquentant deux sites de dépistage volontaire et du traitement du VIH, notamment à ACS/AMO-CONGO (Action communautaire contre le sida/Avenir meilleur pour les orphelins du sida au Congo) et au Centre hospitalier Monkole.

• Courriel : cathymulumba@yahoo.fr

• Article reçu le 30/04/2008, définitivement accepté le 23/10/2008.

### Critères d'inclusion et d'exclusion

Était incluse dans l'étude, toute patiente âgée d'au moins 18 ans (âge de majorité légale) ayant donné son consentement éclairé après qu'elle ait reçu amples explications sur l'intérêt de l'étude à laquelle elle était invitée à participer et dont les résultats lui seraient communiqués confidentiellement afin qu'elle soit, le cas échéant, prise en charge par son gynécologue. Étaient exclues, toutes celles qui ne remplissaient pas ces critères d'inclusion.

### Prélèvement des frottis cervicaux

La patiente, reçue dans la salle d'examen, était invitée à se mettre en position gynécologique sur la table d'examen. À l'aide d'un spéculum à usage unique (MediWare®) placé dans le canal vaginal, un frottis du col était prélevé au moyen d'une cytobrosse (Cervex-Brush® Rovers Medical Devices B.V. Lekstraat 10 5347 KV Oss, The Netherlands). Après étalement du frottis conventionnel sur lame porte-objet, la tête de la cytobrosse portant le produit de brossage du col utérin était séparée de son manche puis plongée dans le flacon contenant un fixateur (SurePath® liquid based Pap test ; Tripath-Imaging Inc, Burlington NC 27235 USA), et étiqueté pour l'identification du prélèvement. Les spécimens étaient conservés à 4 °C durant 4 semaines au maximum en attendant leur expédition vers le laboratoire d'analyse. Là, ils pouvaient encore être conservés à -20 °C durant au maximum une semaine avant la confection des frottis minces.

### Examen cytopathologique du col

L'examen cytopathologique des produits de brossage du col des 272 patientes s'était déroulé au Département d'Anatomie Pathologique de l'Hôpital Universitaire de Gand (Belgique) sur frottis conventionnels et sur frottis en couche mince colorés au Papanicolaou.

### Recherche et caractérisation des souches de HPV

La recherche et le génotypage du HPV avaient été conduits au Laboratoire de Virologie de l'Hôpital Universitaire de Gand, sur 55 cas portant des lésions dysplasiques du col de différents grades (Fig. 1).

Le génotypage des souches du HPV isolées a été réalisé par la technique Inno-Lipa® (Innogenetics Line Probe Assay) de Glaxo-Smith-Kline, associée à un test de PCR multiplex qui permet l'identification d'une trentaine de types du HPV sur bandelettes dont 15 à haut risque (HR) et 3 à haut risque probable (HRP) (4).

## Résultats

Sur 272 patientes examinées, des lésions dysplasiques de différents grades, décrites suivant le protocole Bethesda (3), ont été diagnostiqués chez 21,3% (58/272), soit une prévalence située entre 18,8% et 23,8%. Cependant, considérées suivant leur statut sérologique VIH (132 cas VIH+ versus 128 cas VIH- ; 12 cas avec sérologie non déterminée), le risque de lésions dysplasiques de haut grade était 10,3 fois plus élevé chez les sujets VIH+ comparativement aux sujets VIH- (29,5% versus 3,9% ; Odds ratio = 10,3 ;

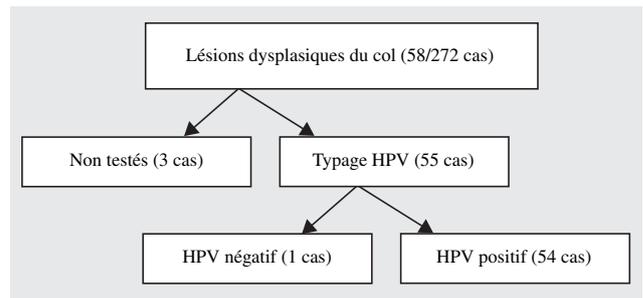


Figure 1. Structure de la base de données.

intervalle de confiance à 95% = 3,7 à 31,1 ;  $p = 0,000$ ). Quarante-sept pour cent (47/54) des cas trouvés porteurs du HPV étaient VIH+.

La majorité de ces isolats, 83,0% (127/153) étaient à haut risque (HR/HRP), parmi lesquels les types 16 et 18 représentaient 11,8% (18/153) des isolats (Fig. 2) et occupaient respectivement le 5<sup>e</sup> et le 7<sup>e</sup> rangs (Fig. 3). La figure 3 présente l'ensemble des 23 types de HPV identifiés. Sur les 23 types de HPV identifiés, 60,9% (14/23) étaient à HR/HRP et ont été retrouvés suivant l'ordre décroissant de fréquence ci-après : 68 (13,0%), 35 (9,9%), 51 (9,2%), 52 (9,2%), 16 (8,4%), 31 (7,6%), 66 (7,5%), 18 (5,3%), 33 (5,3%), 45 (5,3%), 53 (5,3%), 56 (5,3%), 58 (5,3%) et 59 (3,1%).

La présence du HPV a été démontrée chez 98,2% (54/55) des sujets d'études présentant des lésions dysplasiques du col, dont 94,4% (51/54) portaient des types de HPV à HR/HRP. Un tiers des sujets, 33,3% (18/54), étaient porteurs des types 16 ou 18 (Fig. 2).

La fréquence de types de HPV trouvés par patiente variait entre 1 et 8 avec une moyenne de 2,8 (écart-type = 2,0) ; 61,1% (33/54) des cas portaient 1 à 2 types du HPV (Fig. 2).

Chez les 8 patientes porteuses de lésions cancéreuses (carcinoma in situ ou carcinome invasif), les types 16 ou 18 du HPV, qui représentaient 1/15 (2/29) des HPV à HR/HRP identifiés, ont été retrouvés chez 2/8 cas (Tableau I).

## Discussion

Comparativement au spectre des types de HPV à HR/HRP identifiés à ce jour qui en compte 17, notre travail a permis de typer 82,4% (14/17) des souches, les types 26, 73 et 82 n'ayant pas été retrouvés (5). La seule étude africaine qui a rapporté un spectre de HPV plus étendu que celui que nous avons trouvé est celle de Didelot-Rousseau et al au Burkina-Faso (6). Plusieurs autres travaux conduits en Afrique ont montré que le profil de distribution des types de HPV était très variable d'un pays à l'autre (9 à 16). Et pour un pays donné, la situation observée dans une ville, comme celle que nous venons de voir à Kinshasa, peut être radicalement différente de ce qui se passe dans les autres parties du pays.

Dans la présente étude, parmi les patientes présentant des lésions dysplasiques du col que nous avons examinées, 98,2% (54/55) étaient porteuses du HPV à HR/HRP. Ce résultat surclasse celui trouvé au Burkina-Faso (6) qui avaient rapporté une prévalence de 66,1% (238/360) parmi les porteuses de lésions dysplasiques du col. Comparativement à la situation observée au Burkina-Faso, le taux d'infection par le HPV observé dans la série de Kinshasa était 1,485 fois plus élevé (OR=27,7 ; IC95% = 4,07 à 545,1 ;  $p = 0,0000$ ). Cette différence est sans doute due à l'échantillonnage, car les

Tableau I. Types de HPV à HR/HRP retrouvés chez les porteuses de lésions cancéreuses.

N° Patient	Types de HPV à HR
63	16, 31, 33, 51, 68
95	18
98	58, 44, 45, 52, 59
107	39, 51
113	35, 43, 44, 45, 51, 53, 56
155	35, 39, 52, 59, 66, 68
215	52, 68
294	51

échantillons analysés dans ces deux études, par leur mode de prélèvement, n'étaient pas représentatifs des populations concernées. En effet, s'il faut seulement considérer, le taux d'infection par le VIH, on note que celui-ci était significativement plus élevé dans la série de Kinshasa comparativement à celle du Burkina-Faso (50,8 % contre 36,0 % ; OR = 1,84 ; IC95 % = 1,32 à 2,57 ; p = 0,0002). En tout état de cause, ces taux étaient plus élevés que ceux rapportés dans ces deux régions qui se situent entre 3 et 5,9 % (7).

Parmi les 23 types de HPV que nous avons identifiés, les types 16 et 18 occupaient respectivement les 5<sup>e</sup> et 7<sup>e</sup> rangs par ordre de fréquence des souches à HR/HRP, et étaient retrouvés chez 33,3 % (18/54) des patientes. Comme à Kinshasa, au Burkina-Faso, les types 16 et 18 ont également occupé respectivement les 5<sup>e</sup> et 8<sup>e</sup> rangs (6).

Ces deux types de HPV, visés par les vaccins Gardasil de Merck et Cervarix de Glaxo-Smith-Kline, n'étaient portés que par un

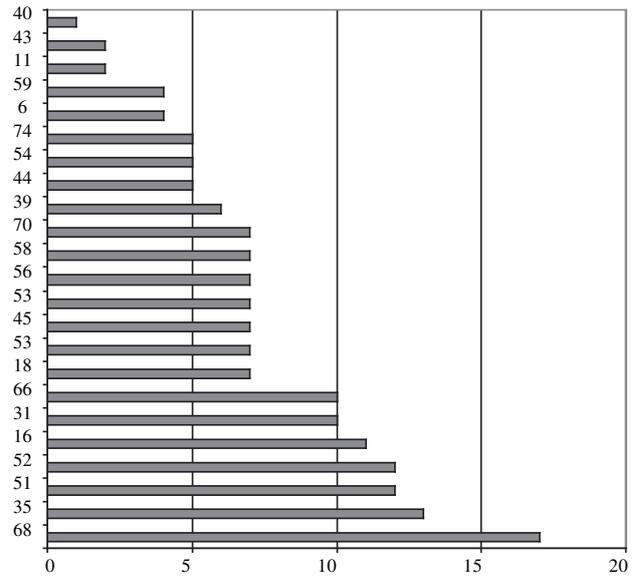


Figure 3. Fréquence des différents types de HPV identifiés.

tiers de nos patientes. Et, sur 8 cas de cancer observés, seulement 2 cas ont porté les types 16 et 18. Sur le plan de la santé publique, la conséquence d'une prévalence aussi peu étendue des types de HPV ciblés, si elle se confirmait par des études de grande envergure, qui englobaient la recherche d'un portage chez des jeunes filles et des femmes sans lésions du col, pourrait mettre à mal l'efficacité escomptée du vaccin anti-HPV à Kinshasa, peut être dans d'autres régions de la République Démocratique du Congo ou de l'Afrique.

Certains auteurs plaident pour un élargissement du spectre des futurs vaccins qui intégreront les types les plus rencontrés autres que les types 16 et 18, comme les types 31, 51 et 52 qui sont également fréquemment retrouvés dans les lésions de haut grade (16, 17).

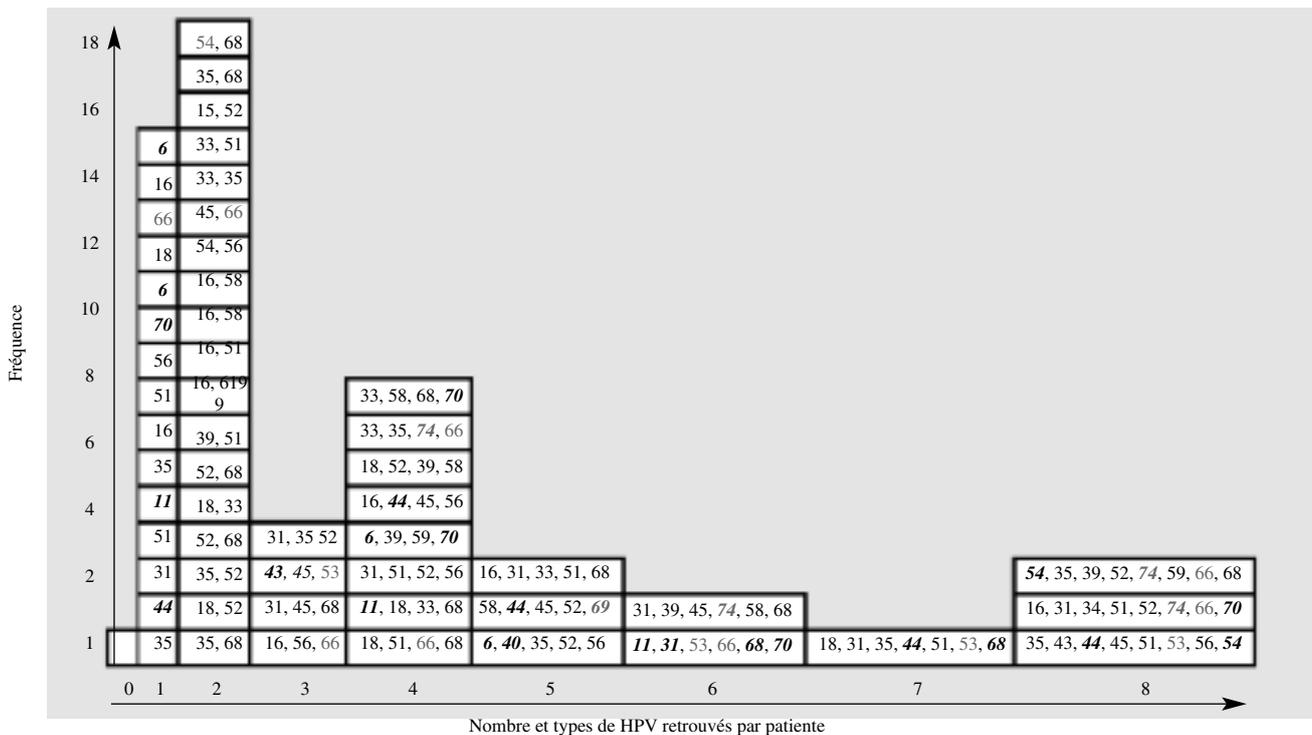


Figure 2. Distribution de la fréquence des différents types du HPV retrouvés par patiente. Chaque case dans la figure représente un individu particulier. En noir : les types à haut risque ; en gris : les types à haut risque probable ; en noir bold italique : les types à bas risque ; en gris bold italique : les types à risque non défini.

## Conclusion

Quoique portant sur un très petit échantillon, notre étude ne retrouve pas à Kinshasa la position dominante des HPV types 16 et 18 observée dans les travaux réalisés dans d'autres contrées notamment industrialisées et qui a justifié leur sélection pour la vaccination. Ce résultat, s'il était confirmé par des études plus importantes, pourrait remettre en cause l'efficacité des vaccins anti-HPV dans certains pays en développement.

**Remerciements** • Nos remerciements les plus sincères s'adressent aux Alumni de la Katholiek Universiteit Leuven, en particulier à son Président, le Professeur Fons Verdonck, au Département d'Anatomie Pathologique et au Département de Virologie de l'Hôpital Universitaire de Gand, qui nous ont accordé toutes les facilités matérielles et financières pour la réalisation de ce travail. Nos remerciements s'adressent également au Professeur Dieudonné Sengéy, aux Docteurs Lucien Mukamina, Vicky Lokomba et Adolphe Ndarabu qui nous ont donné leur concours pour les examens gynécologiques et le prélèvement des frottis cervicaux. Nous remercions aussi le Docteur Léon Tshilolo et le Docteur Henri Mukumbi qui nous ont autorisé à accéder aux patientes fréquentant les centres de dépistage qu'ils dirigent.

## Références

1. De Vuyst H, Steyaert S, Van Renterghem L, Claeys P, Muchiri L, Sitati S *et al.* Distribution of human papillomavirus in a family planning population in Nairobi, Kenya. *Sex Transm Dis* 2003; 30 : 137-42.
2. Saslow D, Castle PE, Cox JT, Davey DD, Einstein MH, Ferris DG *et al.* American Cancer Society Guideline for Human Papillomavirus (HPV) Vaccine Use to Prevent Cervical Cancer and Its Precursors. *CA Cancer J Clin* 2007; 57 : 7-28.
3. World Health Organization. Control of cancer of the cervix uteri. A WHO meeting. *Bull World Health Organ* 1986; 64 : 607-18.
4. Anonymes. HPV genotyping by Inno-Lipa. [www.microgenbioproducts.com](http://www.microgenbioproducts.com)
5. Monsonego J. Infections à papillomavirus: état des connaissances, pratiques et prévention vaccinale. Springer ed, Paris, 2006.
6. Didelot - Rousseau MN, Nagot N, Costes - Martineau V, Vallès X, Ouedraogo A, Konate I *et al.* Human papillomavirus genotype distribution and cervical squamous intraepithelial lesions among high-risk women with and without HIV-1 infection in Burkina Faso. *Br J cancer* 2006; 95 : 355-62.
7. UNAIDS/WHO. AIDS epidemic update. Global summary of the HIV and AIDS epidemic, 2006.
8. Munoz N, Bosch FX, Catalellsague X, Diaz M, de Sanjose S, Hammouda D *et al.* Against which human papillomavirus types shall we vaccinate and screen ? The international perspective. *Int J Cancer* 2004; 111 : 278-85.
9. Icenogle JP, Laga M, Miller D, Manoka AT, Tucker RA, Reeves WC. Genotypes and sequence variants of human papillomavirus DNAs from human immunodeficiency virus type 1-infected women with cervical intraepithelial neoplasia. *J Infect Dis* 1992; 166 : 1210-6.
10. Mayaud P, Gill DK, Weiss HA, Uledi E, Kopwe L, Todd J *et al.* The interrelation of HIV, cervical human papillomavirus, and neoplasia among antenatal clinic attendees in Tanzania. *Sex Transm Infect* 2001; 77 : 248-54.
11. Carrilho C, Cirmes L, Alberto M, Buane L, Mendes N, David L. Distribution of HPV infection and tumour markers in cervical intraepithelial neoplasia from cone biopsies of Mozambican women. *J Clin Pathol* 2005; 58 : 61-8.
12. Temmerman M, Tyndall MW, Kidula N, Claeys P, Muchiri L, Quint W. Risk factors for human papillomavirus and cervical precancerous lesions, and the role of concurrent HIV-1 infection. *Int J Gynaecol Obstet* 1999; 65 : 171-81.
13. Motti PG, Dallabatte GA, Daniel RW, Canner JK, Chipangwi JD, Liomba GN *et al.* Cervical abnormalities, human papillomavirus, and human immunodeficiency virus infections in women in Malawi. *J Infect Dis* 1996; 173 : 714-17.
14. Marais DJ, Sampson C, Jeftha A, Dhaya D, Passmore JA, Denny L *et al.* More men than women make mucosal IgA antibodies to Human papillomavirus type 16 (HPV-16) and HPV-18: a study of oral HPV and oral HPV antibodies in a normal healthy population. *BMC Infect Dis* 2006; 6 : 95.
15. Cooper K, Herrington CS, Graham AK, Evans MF, McGee JO. In situ evidence for HPV 16, 18, 33 integration in cervical squamous cell cancer in Britain and South Africa. *J Clin Pathol* 1991; 44 : 406-9.
16. Williamson AL, Dehaeck CM, Soeters R. Typing of human papillomaviruses in cervical intraepithelial neoplasia grade 3 biopsies from Cape Town. *J Med Virol* 1989; 28 : 146-9.
17. Williamson AL, Marais D, Passmore JA, Rybicki E. Human papillomavirus (HPV) infection in Southern Africa: prevalence, immunity, and vaccine prospects. *IUBMB Life* 2002; 53 : 253-8.
18. Beerens E, Van Renterghem L, Praet M, Sturtewagen Y, Weyers S, Temmerman M *et al.* Human papillomavirus DNA detection in women with primary abnormal cytology of the cervix: prevalence and distribution of HPV genotypes. *Cytopathology* 2005; 16 : 199-205.



ATTENTION ! NOUVELLE ADRESSE

## Médecine tropicale

Institut de médecine tropicale du Service de santé des armées  
IMTSSA

Allée du Médecin colonel Eugène Jamot

Parc du Pharo

BP 60109

13262 Marseille cedex 07

Tel. : 04 91 15 01 47 • Fax : 04 91 15 01 29

Courriel : [medtrop@imtssa.fr](mailto:medtrop@imtssa.fr) • [medrop.pao@imtssa.fr](mailto:medrop.pao@imtssa.fr)

Abonnements : 04 91 15 01 23 • Courriel : [abonmedtrop@imtssa.fr](mailto:abonmedtrop@imtssa.fr)