

Profil Epidémiologique Moléculaire de l'Infection à VIH de Type 1 chez les patients naïfs de traitement à Kinshasa

Molecular Epidemiologic Profile of HIV type 1 Infection in treatment-naïve patients in Kinshasa

Kamangu EN^{1,2}, Bulanda BP², Bongenia BP², Botomwito HT², Mvumbi GL¹, De Mol P³, Dolores Vaira⁴, Marie-Pierre Hayette³, Kalala RL¹.

Correspondance

Pr Dr Erick Kamangu Ntambwe
Courriel: erickkamangu@gmail.com

Summary

Background & Objective: In the Democratic Republic of Congo (DRC), the subtype A of HIV-1 is predominant but its molecular profile is little documented. This work aims to describe the molecular epidemiologic profile of HIV infection in treatment-naïve patients in the city of Kinshasa.

Methods: In a cross-cutting approach, 153 subjects HIV Type 1 positive (60% women) and naïve to treatment recruited in 8 centers of Kinshasa, were selected between August 1, 2013 and February 28, 2014. The Reverse Transcriptase PCR and a Nested PCR were used for the amplification of regions of interest on the Protease and Reverse Transcriptase for subsequent sequencing. The amplified fragments were sequenced by the Sanger method. The matching of the fragments obtained was performed with the software Vector NTI Advance® 11.5 and compared with different databases.

Results: The mean age of the study subjects was 37 years. Protease and Reverse Transcriptase were amplified and sequenced respectively, for 130 (84.9%) and 145 (94.8%) patients. The subtype A was predominant with 35 cases (22.9%); followed by CRF02_AG (11.1%), C (9.8%), G (9.8%), K (9.8%), D (7.8%), H (7.8%) and J (5.0%).

Conclusion: This work demonstrates a strong diversity and heterogeneity of HIV Type 1 in the city of Kinshasa.

Keywords: Molecular epidemiology, Sequencing, HIV, Kinshasa

History of article : received on May 2nd, 2015 ; Accepted February 8th, 2016

1 Service de Biologie Moléculaire, Département des Sciences de Base, Faculté de Médecine, Université de Kinshasa, RDC

2 Groupe de Recherche «Focus VIH/SIDA», Kinshasa-RDC

3 Laboratoire de Microbiologie Clinique, CHU-Lg, Liège, Belgique

4 Laboratoire de Référence SIDA, CHU-Lg, Liège, Belgique

Résumé

Contexte & objectif : En République Démocratique du Congo (RDC), le sous-type A du VIH-1 est prédominant mais le profil moléculaire reste peu documenté. Ce travail a pour objectif de décrire le profil épidémiologique moléculaire de l'infection à VIH chez les patients naïfs de traitement dans la ville de Kinshasa.

Méthodes : Par une approche transversale, 153 sujets VIH Type 1 (60% de femmes) et naïf de traitement recrutés dans 8 centres de Kinshasa, ont été retenus, entre les 1^{er} Août 2013 au 28 Février 2014. Une Reverse Transcriptase PCR et une PCR Nichée ont servi pour l'amplification des régions d'intérêt sur la Protéase et la Transcriptase Reverse pour un séquençage ultérieur. Les fragments amplifiés ont été séquencés par la méthode de Sanger. L'appariement des fragments obtenus a été effectué avec le logiciel Vector NTI Advance® 11.5 et comparé avec différentes bases de données.

Résultats : L'âge moyen était de 37 ans. La Protéase et la Reverse Transcriptase ont été amplifiées et séquencées respectivement, pour 130 (84,9%) et 145 (94,8%) patients. Le sous-type A était prédominant avec 35 cas (22,9%) ; suivi par CRF02_AG (11,1%), C (9,8%), G (9,8%), K (9,8%), D (7,8%), H (7,8%) et J (5,0%).

Conclusion : Ce travail démontre une forte diversité et hétérogénéité du VIH Type 1 dans la ville de Kinshasa.

Mots clés : Epidémiologie moléculaire, Séquençage, VIH, Kinshasa.

Historique de l'article : Reçu le 2 mai 2015 ; Accepté le 8 février 2016

Introduction

La classification du Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) a permis de mieux comprendre l'évolution du virus, sa répartition géographique ainsi que son évolution ; mais aussi de mieux adapter le type de traitement au patient infecté (1). En Afrique Sub-Saharienne, l'épidémie moléculaire est diverse, hétérogène et évolutive. Elle est dominée par les sous-types A, C, G et plusieurs formes recombinées (CRF et URF) (1-3).

En République Démocratique du Congo (RDC), le sous-type A du VIH-1 M, avec plus de 50%, domine largement sur les autres sous-types (1). Néanmoins, la prévalence des sous-types varie d'une région à l'autre du pays. À Kinshasa, le sous-type A (34,3%) dominait largement l'épidémiologie de la ville avant 2012 ; il était suivi des sous-types G (17,3%), D (11,2%) et C (7,4%) (1). Dans son rapport de 2014, l'enquête Démographique Sanitaire de la RDC (EDS) avait présenté une prévalence de 1,4% pour l'infection à VIH de Type 1 dans la ville de Kinshasa (4).

La ville de Kinshasa est divisée en 4 districts et 24 communes. Les centres de traitement et de prise en charge des personnes vivant avec le VIH (PVV) sont repartis à travers les districts de la ville de manière à permettre l'accès au traitement à la population entière (5). Cependant les données relatives au profil moléculaire de l'infection à VIH sont fragmentaires. Le présent travail a pour objectif de décrire le profil épidémiologique moléculaire de l'infection à VIH chez les patients naïfs de traitement dans la ville de Kinshasa.

Méthodes

Population d'étude

Par une approche transversale, cent cinquante-trois sujets de convenance diagnostiqués positifs pour le VIH Type 1 par sérologie, et naïf de traitement Antirétroviral ont été examinés, dans différents centres de la ville de Kinshasa du 01er Août 2013 au 28 Février 2014. Cette inclusion a été réalisée en respectant la démographie des districts et l'hétérogénéité de la population en raison de 2 centres de traitement par district (5). Tous les sujets ont consenti de manière éclairée et librement par écrit à participer à l'étude.

Prélèvements sanguins et extraction de l'ARN

Cinq millilitres (5 ml) de sang ont été prélevés dans un tube avec anticoagulant EDTA. Le sang prélevé a été centrifugé à 1000 g pendant 10 minutes pour obtenir une séparation claire en 3 phases (plasma, *buffycoat* et culot). Un millilitre

de plasma (surnageant) a été transféré dans un microtube préalablement étiqueté et conservé à -20°C au laboratoire de Biologie Moléculaire de la Faculté de Médecine. Les échantillons ont été ensuite acheminés au Laboratoire de Référence SIDA (LRS) du Centre Hospitalier Universitaire de l'Université de Liège (CHU-ULg) en Belgique pour séquençage.

L'ARN a été extrait à partir de 140 µl de plasma en utilisant le kit QIAamp RNA Mini Kit de QIAGEN® (6). Les échantillons d'ARN ont été conservés à -80°C jusqu'à l'utilisation.

Amplification et séquençage

Après extraction de l'ARN, une Reverse Transcriptase PCR (RT-PCR) et une PCR Nichée ont servi pour l'amplification des régions d'intérêt sur la Protéase et la Transcriptase Reverse pour un séquençage ultérieur. Les PCR ont été réalisées dans les conditions de cycles et de températures préalablement décrites (7-9). Chaque échantillon a été amplifié sur la Protéase et la Transcriptase Reverse dans le sens et l'anti-sens (7, 10). Les fragments amplifiés ont été séquencés par la méthode de séquençage de Sanger(10). L'appariement des fragments obtenus a été effectué avec le logiciel Vector NTI Advance® 11.5 (Invitrogen, Life technologies) et comparé avec différentes bases de données (StanfordUniversity, Agence Nationale de Recherche Scientifique Française et Max Plank) pour identifier les sous-types de VIH-1 (10, 11).

Statistique

Le Test de Friedman a été utilisé pour désagréger les différences des groupes en fonctions des variantes et des mutations. La valeur de probabilité $p < 0,05$ est retenue comme seuil de signification statistique.

Résultats

Notre population est composée de 61 (39,9%) hommes et 92 (60,1%) femmes ; soit un sex-ratio de 0,7. L'âge moyen est de 37 ans avec des extrêmes de 18 et 65 ans (Tableau 1).

Tableau 1 : Données sociodémographiques des patients

Caractéristiques	Patients n (%)
Sexe (n = 153)	
Homme	61 (39,8)
Femme	92 (60,1)
Age (ans) (n = 153)	
Intervalle	18 – 65
Moyenne	37
18-25	32 (20,9)
26-35	42 (27,4)
36-45	40 (26,1)
46-55	26 (16,9)
56-65	13 (8,5)

Sous-typage

La Protéase et la Reverse Transcriptase ont été amplifiées et séquencées respectivement pour 130 (84,9%) et 145 (94,8%) patients (10). Pour la ville de Kinshasa en général, le sous-type A est dominant avec 35 cas (22,9%) ; suivi par CRF02_AG (11,1%), C (9,8%), G (9,8%), K (9,8%), D (7,8%), H (7,8%) et J (5,0%) comme décrit dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Distribution des sous-types du VIH-1 pour la ville de Kinshasa

Sous-types	Effectifs (%)
A	35 (22,8)
B	3 (1,9)
C	15 (9,8)
D	12 (7,8)
F	6 (3,9)
G	15 (9,8)
H	12 (7,8)
J	9 (5,8)
K	15 (9,8)
CRF01_AE	5 (3,2)
CRF02_AG	17 (11,1)
U	8 (5,2)

Le sous-type A était majoritaire dans 3 districts sur 4 de la ville de Kinshasa. La distribution des sous-types par district était très différente : pour le district de la Funa, le sous-type A est suivi des sous-types C et K (15%), CRF02_AG (10%), G et H (8%) ; pour le district de la Lukunga, le

sous-type A précède les sous-types G (12%), CRF02_AG et U (11%), C et D (9%) ; pour le district du Mont-Amba, les sous-types A et D (24%) devançant les sous-types CRF01_AE (19%), J et K (9%) ; et pour le district de la Tshangu, le CRF02_AG (17%) domine sur G et K (14%), A et H (11%). La figure 1 présente la répartition des différents sous-types par district de Kinshasa.

Discussion

L'objectif de ce travail était de décrire le profil épidémiologique de l'infection à VIH de Type 1 chez les patients naïfs de traitement dans la ville de Kinshasa. Notre population était composée de 61 (39,9%) hommes et 92 (60,1%) femmes avec un sex ratio de 0,7. La tranche d'âge prépondérante était celle de 26 à 35 ans avec 42 patients (27,45%), suivie de celle de 36 à 45 ans avec 40 patients (26,14%). Des données sociodémographiques similaires ont été rapportées dans différents travaux dans notre milieu (4, 12, 13).

Sur les 153 patients naïfs de Traitement Antirétroviraux (TARV), 130 échantillons (84,9%) ont été amplifiés sur la région de la protéase et 145 (94,8%), sur celle de la Transcriptase Reverse (TR). À cause de la longueur du gène codant pour la TR, les échantillons sont plus facilement amplifiables sur cette séquence que sur la Protéase (10). Les échecs d'amplification peuvent toutefois être causés par la forte diversité des variantes du VIH Type 1 qui existent à Kinshasa (1, 10) et les charges Virales (CV) basses (8, 14).

Pour la ville de Kinshasa, le sous-type A a prédominé (22,9%), suivi par CRF02_AG (11,1%), C (9,8%), G (9,8%), K (9,8%), D (7,8%), H (7,8%) et J (5,0%) comme décrit dans le Tableau 2. Nos résultats concordent avec les différents sous-types retrouvés dans les pays voisins d'Afrique centrale, où le sous-type A est majoritaire suivi généralement des sous-types G, C et D (1, 15-17). Hormis la présence du CRF02_AG (11,1%), la diversité des souches

présentes dans nos résultats rejoint la littérature rapportée précédemment pour la ville de Kinshasa (1, 17-18). En l'espace de quelques années, la diversité des sous-types du VIH-1 est restée hétérogène mais la prévalence des différents sous-types a beaucoup changé (Figure 2).

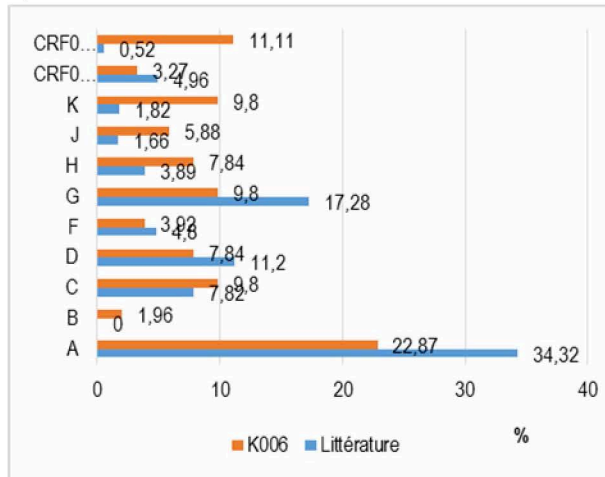


Figure 2 : Dynamique de la distribution des sous-types du VIH-1 à Kinshasa entre 2010 et 2014. Littérature : Kamangu NE *et al.*, 2013. K006 : présente étude

La forte présence de la forme recombinée CRF02_AG s'explique par le dynamisme de l'infection à VIH dans notre milieu, le mouvement de population des villages vers la métropole, mais aussi l'afflux des expatriés et immigrants dans la capitale. Ceci implique que les sous-types qui étaient cantonnés à l'intérieur du pays migrent vers la capitale de même que certains sous-types étrangers. Elle peut aussi être causée par la combinaison des souches A et G qui étaient dominant dans le passé à Kinshasa (16, 17). En effet, selon la littérature avant 2010, les sous-types A et G étaient respectivement de 34,32% et 17,28% (1).

La distribution des différentes souches à travers la ville est spécifique aux différents districts de la ville (Figure 1). Chacun présente un profil différent pour l'infection à VIH. Le sous-type A majoritaire pour la ville est distribué dans les districts de manière: 32% à la Funa, 23% à la Lukunga, 24% au Mont-Amba et 11% à la Tshangu. Pour le district de la Funa, le sous-type A est suivi des sous-types C et K (15%),

CRF02_AG (10%), G et H (8%), J et U (5%) et F (2%). Dans le district de la Lukunga, le sous-type A précède les sous-types G (12%), CRF02_AG et U (11%), C et D (9%), H (7%), F et K (5%), J (4%), B (2%) et des souches indéterminées (2%). En ce qui concerne le district du Mont-Amba, les sous-types A et D (24%) devancent les sous-types CRF01_AE (19%), J et K (9%), B, C et H (5%). Par contre, le district de la Tshangu, le CRF02_AG (17%) domine sur G et K (14%), A et H (11%), C et J (8%), F (6%), D (5%), B et CRF01_AE (3%). Certains sous-types se retrouvent localisés dans des districts spécifiques. Tel que le CRF01_AE n'est pas retrouvé chez les patients suivis dans la Funa et la Lukunga ; le CRF02_AG n'est pas retrouvé au Mont-Amba. De même que le sous-type B n'est pas retrouvé à la Funa. Le district de la Lukunga possède la plus grande variabilité des souches du VIH Type 1 avec 12 variantes, suivi de la Tshangu (11 variantes), de la Funa (9 variantes) et du Mont-Amba (8 variantes).

Conclusion

Ce travail a montré une forte diversité et hétérogénéité du VIH Type 1 dans la ville de Kinshasa. Cette hétérogénéité est spécifique pour les différents districts avec des prévalences diverses. Ce qui sous-entend que le traitement de l'infection à VIH ne devrait pas être généralisé, mais plutôt individualisé ; d'où l'importance d'introduire les tests de génotypage systématique, dans la prise en charge du VIH.

Conflits d'intérêts

Les auteurs déclarent n'avoir aucun conflit d'intérêt.

Références

1. Kamangu NE, Kabututu ZP, Mvumbi LG, Kalala LR, Mesia KG. Genetic Diversity of Human Immunodeficiency Virus Type 1 in the Democratic Republic of Congo: a review of available data. *International Journal of Collaborative Research on Internal Medicine and Public Health* 2013; **5** (5): 295-309.
2. Papathanasopoulos MA, Hunt GM, Tiemessen CT. Evolution and diversity of HIV Type 1 in Africa: a review. *Virus Genes* 2003; **26** (2): 151-163.
3. Shao Y, Williamson C. The HIV-1 epidemic: Low-to Middle-Income countries. *Cold SpringHarbPerspectMed* 2012; **2**: a007187.
4. Ministère du Plan et Suivi de la Mise en œuvre de la Révolution de la Modernité et Ministère de la Santé Publique, République Démocratique du Congo. Enquête Démographique et de Santé 2013-2014 : Rapport. 2014.
5. Kamangu NE, Kalala NH, Mesia KG. Profile of Antiretroviral treatment centers in Kinshasa, Democratic Republic of Congo (Poster 388). In proceedings of the 1st International African Society of Laboratory Medicine (ASLM) Conference. 1-7 December 2012; Cape Town, South Africa. 2012: 377.
6. QIAGEN: QIAamp® RNA Mini and Blood Mini Handbook. 3rd Edition. April 2010: 27-29.
7. Kamangu NE, Chatte A, Boreux R, Kalala LR, Mvumbi LG, Vaira D *et al.* Mise en place d'une PCR Quantitative Temps Réel pour la détermination de la Charge Virale VIH à Kinshasa. *Journal de Recherche BioMédicale* 2014 ;**1** (1) : 7-12.
8. Steegen K, Demecheleer E, De Cabooter N, Nges D, Temmerman M, Ndumbe P *et al.* A sensitive in-house RT-PCR genotyping system for combined detection of plasma HIV-1 and assessment of drug resistance. *J Virol Methods* 2006; **133**: 147-45.
9. Kamangu NE, Chatte A, Boreau R, Susin F, Kalala LR, Mvumbi LG *et al.* Comparison of an In-House Quantitative Real Time PCR and COBAS Ampliprep/TaqMan Roche for Determination of Viral Load for HIV Type 1 non-B. *Open Access Library Journal* 2015, **2**: e1402. <http://dx.doi.org/10.4236/oalib.1101402>.
10. Kamangu NE, Chatte A, Susin F, Boreau R, Kalala LR, Mvumbi LG *et al.* Genetic Diversity and Antiretroviral Drug Resistance among Drug-Naïve HIV Type 1 Infected Patients attending Clinics in Kinshasa, Democratic Republic of Congo. *Journal of HIV and AIDS* 2015. **1** (1). <http://dx.doi.org/10.16966/jha.101>
11. Tang WM, Liu FT, Shafer WR. The HIVdb System for HIV-1 Genotypic Resistance Interpretation. *Intervirology* 2012; **55**: 98-101.
12. Médecins Sans Frontières (MSF). Campagne de communication: Lutte contre le VIH/SIDA : l'urgence ignorée (notes explicative). Janvier 2012.
13. Desclaux A, Desgrées du Lou A. Les Femmes Africaines face à l'épidémie du SIDA. *Population et Sociétés* 2006 ; **428** : 1-4.
14. Jordan MR, Winsett J, Tiro A, Bau V, Barbara RS, Rowley C *et al.* HIV Drug Resistance Profiles and Clinical Outcomes in Patients with Viremia Maintained at Very Low Levels. *WJA* 2013; **3**: 71-8.
15. Papathamasopoulos MA, Hunt GM, Tiemessen CT. Evolution and Diversity of HIV-1 in Africa: a Review. *Virus Genes* 2003; **26** (2): 151-63.
16. Vidal N, Peeters M, Mulanga-Kabeya C, Nzilambi N, Robertson D, Ilunga W *et al.* Unprecedented degree of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) group M genetic diversity in the Democratic Republic of Congo suggest that HIV-1 pandemic originated in Central Africa. *J Virol* 2000; **74**: 10498-5507.
17. Yang C, Li M, Mokili J, Winter J, Lubaki NM, Mwandagalirwa KM *et al.* Genetic diversification and recombination of HIV Type 1 Group M in Kinshasa, Democratic Republic of Congo. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2005; **21** (7): 661-66.
18. Vidal N, Mulanga-Kabeya C, EdidiBazepeo S, Mwamba J, Tshimpaka JW, Kashi M *et al.* Distribution of HIV-1 variants in the Democratic Republic of Congo suggests increase of subtype C in Kinshasa between 1997 and 2002. *J AIDS* 2005; **40** (4): 456-62.

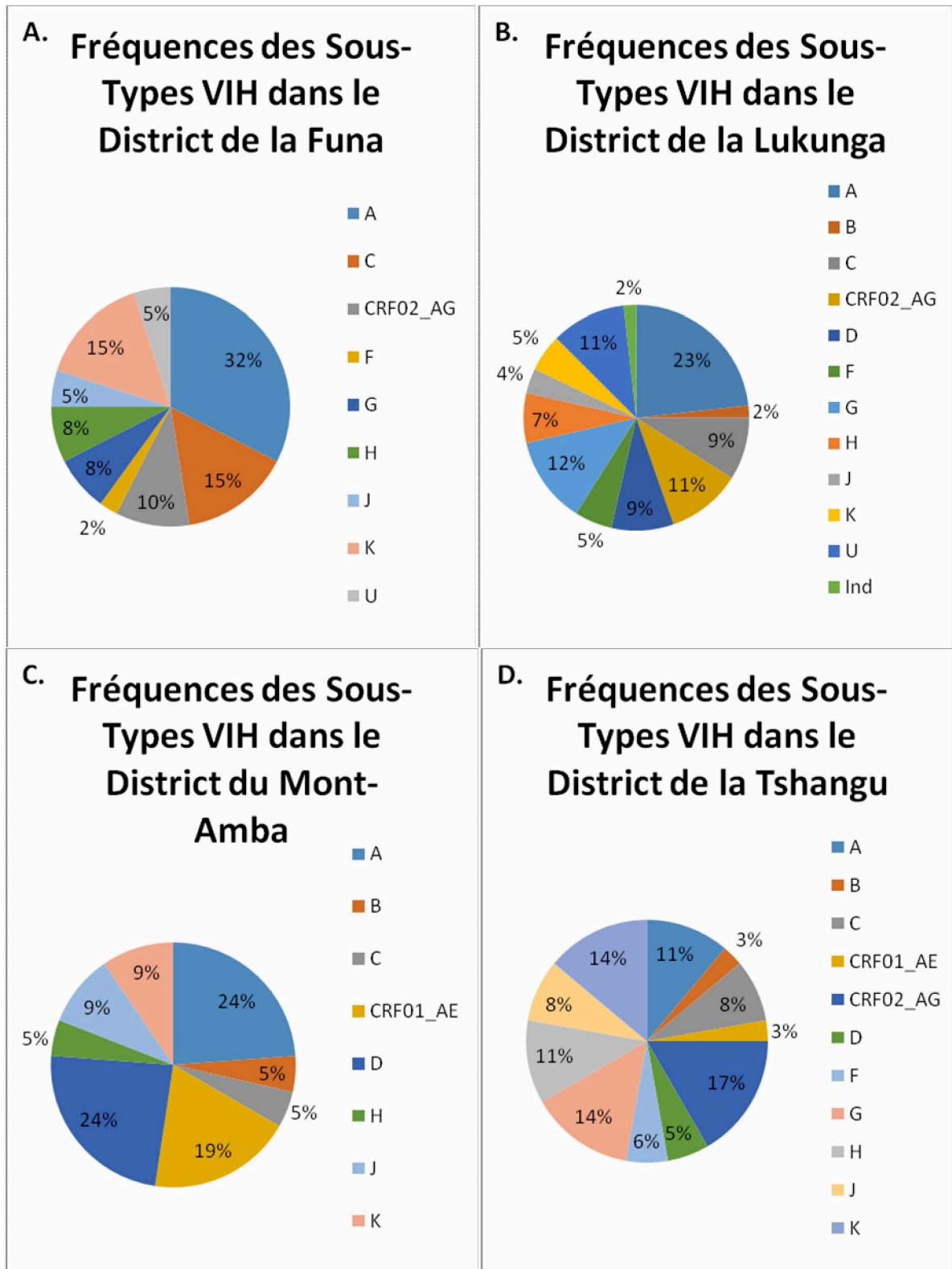


Figure 1: Représentation de la distribution des sous-types du VIH-1 par district de la ville de Kinshasa. A/ District de la Funa, B/ district de la Lukunga, C/ district du Mont-Amba et D/ district de la Tshangu.