

Utilisation des prélèvements capillaires sur buvard dans le diagnostic précoce de l'infection à VIH-1 chez des enfants nés de mères infectées dans le cadre de la prévention de la transmission mère–enfant au Bénin

Use of Dried Blood Spots in Early Diagnosis of HIV-1 Infection in Children Born to HIV-Infected Mothers as Part of the Prevention of Mother-to-Child Transmission in Benin

E. Tchiakpe · A. Hounto-Ogouyemi · H. Diop Ndiaye · A.A.M. Diouara · A.K. Aïssi · R.K. Keke · A.A. Kpangon · B. Lafia · D. Métadokou · B. Bouraïma · D. Anthony · A. Hounsinou · M.J. Alao · A. Azondekon · A.D. Ahouidi · A.K. Bei · M.A.S. Mbengue · C. Touré Kane · D.M. Zannou

Reçu le 10 avril 2014 ; accepté le 20 avril 2016

© Société de pathologie exotique et Lavoisier SAS 2016

Résumé Cette étude avait pour but d'évaluer, par diagnostic moléculaire, l'incidence de l'infection à VIH-1 chez des enfants nés de mères séropositives au Bénin. L'échantillonnage était constitué de 524 prélèvements capillaires sur

buvard (TSS) d'enfants nés de mères séropositives au VIH-1, provenant de 30 sites de prévention de la transmission mère–enfant. La collecte a été réalisée sur une période de neuf mois (octobre 2009–juin 2010). Le diagnostic de l'infection à VIH-1 a été effectué par la recherche qualitative des acides nucléiques viraux dans les TSS sur papier buvard en utilisant le test Abbott RealTime[®] HIV-1 Qualitative Assay. Cinquante et une TSS étaient positives (9,7 %) et 473 négatives (90,3 %). L'incidence de l'infection VIH-1 chez les nouveau-nés signant l'échec de la prévention de la transmission materno-infantile pour les mères ayant bénéficié d'une prophylaxie antirétrovirale était de 6,7 % (28/420). Ce taux est significativement plus élevé chez les enfants nés de mères sous monothérapie antirétrovirale que sous trithérapie. Les résultats de notre étude enrichissent les données de la littérature sur la prophylaxie antirétrovirale pour réduire le risque de la transmission mère–enfant du VIH-1.

E. Tchiakpe (✉) · A. Hounto-Ogouyemi · A.K. Aïssi · R.K. Keke · B. Lafia · D. Métadokou · B. Bouraïma · D. Anthony · A. Hounsinou · A.D. Ahouidi · A.K. Bei
Laboratoire de référence du Programme national de lutte contre le sida, direction nationale de la Santé publique, ministère de la Santé, 04 BP 378, Cotonou, Bénin
e-mail : tchiakpeedmond211170@gmail.com, edtchi@yahoo.fr

E. Tchiakpe · H. Diop Ndiaye · A.A.M. Diouara · M.A.S. Mbengue · C. Touré Kane
Laboratoire de bactériologie et de virologie, université Cheikh-Anta-Diop, BP 7325, 30, av Pasteur, Dakar, Sénégal

M.J. Alao
Service de pédiatrie et génétique médicale du centre national hospitalier et universitaire de Cotonou, 01 BP 386, Cotonou, Bénin

E. Tchiakpe
Laboratoire de biochimie et de biologie moléculaire de l'université d'Abomey-Calavi, 04 BP 0320 Cotonou, Bénin

A.A. Kpangon
Service de médecine interne du centre hospitalier universitaire de Parakou, BP 02 Parakou, Bénin

D.M. Zannou
Centre de traitement ambulatoire (CTA) du centre national hospitalier et universitaire de Cotonou, 01 BP 386, Cotonou, Bénin

A. Azondekon
Service de pédiatrie, hôpital d'instruction des armées (HIA), 01 BP 517 Cotonou, Bénin

Mots clés Diagnostic précoce · Transmission mère–enfant · VIH-1 · Prophylaxie antirétrovirale · Allaitement · Bénin · Afrique intertropicale

Abstract The goal of this study was to evaluate using the molecular diagnosis, infection transmission rate of HIV in children born to HIV-1 positive mothers as part of the prevention of mother-to-child transmission (PMTCT) in Benin. The sample consisted of 524 dried blood spots (DBS) of children born to HIV-1 positive mothers, from 30 sites (PMTCT) taken between October 2009 and June 2010. The diagnosis of HIV-1 was performed by the qualitative detection of viral nucleic acids (RNA and DNA) in DBS on filter paper using the Abbott RealTime[®] HIV-1 Qualitative assay. We found that 51 DBS were positive (9.7%) and 473 were negative (90.3%). The failure rate of PMTCT

among 420 mothers who received antiretroviral prophylaxis was 6.7% (28/420). This failure rate was significantly higher among children born to infected mothers on antiretroviral monotherapy than on triple therapy (HAART). The results of our study enrich the data in the literature on highly active antiretroviral chemoprophylaxis to reduce the transmission of HIV-1 from mother to child.

Keywords Early diagnosis · Mother-to-child transmission · HIV-1 · Antiretroviral prophylaxis · Breastfeeding · Benin · Sub-Saharan Africa

Introduction

L'infection à VIH est pandémique avec près de 35 millions de personnes infectées dans le monde, dont 3,2 millions d'enfants de moins de 15 ans [22,23]. Quatre-vingt-dix pour cent des femmes enceintes vivant avec le VIH se trouvent en Afrique subsaharienne où, grâce à des programmes de prévention de la transmission mère-enfant (PTME), une baisse de 58 % du nombre d'enfants infectés a été notée entre 2001 et 2013 [23]. Sans traitement antirétroviral, le risque de transmission du VIH de la mère infectée à l'enfant pendant la grossesse et l'accouchement est de 15 à 30 % [8]. Cependant, ce risque dépend du type viral, le VIH-2 étant moins transmissible que le VIH-1 [2]. L'allaitement maternel et l'alimentation mixte sont également associés à un risque accru de la transmission du VIH de la mère à l'enfant [18]. Le traitement antirétroviral des enfants infectés devrait être instauré dès le premier trimestre de vie [29]. Cela nécessite donc un dépistage néonatal précoce de l'infection par le VIH. Cependant, du fait de la persistance des anticorps maternels, les tests sérologiques standard ne peuvent pas être utilisés chez le nouveau-né [29], d'où le recours aux diagnostics moléculaires. Ces tests sont préconisés dès la sixième semaine, puis six semaines après l'arrêt de l'allaitement maternel [19,21,24,28]. Plusieurs plateformes de diagnostic moléculaire existent et peuvent détecter l'ADN et/ou l'ARN du virus extraits généralement à partir d'un prélèvement de sang veineux recueilli sur tube [3,14]. Pour s'affranchir des contraintes logistiques liées au transfert et au traitement des prélèvements de sang veineux sur tube, les prélèvements capillaires sur buvard (TSS ou DBS [*dried blood spots*]) sont utilisés depuis 1992 pour le diagnostic précoce du VIH-1 des enfants exposés dans les pays à ressources limitées [5,7,16].

Au Bénin, le taux de séoprévalence chez les femmes de 15–49 ans, estimé à 1,5 %, est près du double de celui observé chez les hommes de la même tranche d'âge (0,8 %). Le Bénin dispose d'un programme national de PTME et a mis en place un projet pilote de diagnostic précoce des enfants nés de mères VIH-1 positives utilisant les TSS.

L'objectif de ce travail est de décrire les résultats du projet pilote.

Patients et méthode

Population étudiée

Cette étude porte sur 524 échantillons de TSS provenant d'enfants nés de mères VIH-1 positives. La collecte s'est déroulée d'octobre 2009 à juin 2010 au niveau de 30 sites PTME des 12 départements du Bénin (Fig. 1). Les TSS ont été préparées à partir de gouttes de sang prélevées au talon ou au bout du doigt des enfants. Après recueil des gouttes de sang sur papier buvard, les buvards ont été séchés et conservés à température ambiante (25 à 30 °C) en présence de desiccants [25]. Les TSS ont été acheminées dans les deux jours après le prélèvement au laboratoire de référence du Programme national de lutte contre le sida à Cotonou où les tests de diagnostic moléculaire ont été réalisés.

Recherche des acides nucléiques du VIH-1

Une PCR en temps réel qualitative (Abbott RealTime[®] HIV-1 Qualitative assay, Illinois, États-Unis) permettant la détection des acides nucléiques (ARN et ADN) viraux a été réalisée conformément aux indications du fabricant pour l'ensemble des échantillons. Le seuil de détection est de 2 500 copies/ml. À partir de 50 µl d'extrait d'ARN et ADN et de 50 µl du mélange réactionnel, le gène *pol*/intégrase du VIH-1 a été amplifié [12] après une étape de rétro-transcription et en présence d'un témoin interne (gène de citrouille). La détection a été réalisée par la quantification en temps réel de la fluorescence émise par une sonde partiellement double brin [11,27]. Tous les échantillons positifs ont été analysés une deuxième fois, pour vérification, en faisant une nouvelle extraction à partir des spots restants.

Les données ont été analysées d'un point de vue statistique avec le logiciel SPSS version 16.0. Le test du Chi² et lorsque nécessaire le test de Fisher ont été utilisés pour la comparaison des pourcentages. Une valeur de *p* inférieure à 0,05 était considérée comme statistiquement significative.

Résultats

Caractéristiques globales des enfants inclus

Cinq cent vingt-quatre enfants ont été prélevés, dont 227 filles (43,3 %) et 297 garçons (56,7 %) (Tableau 1). Leur âge médian était de quatre mois (interquartile : 1-18 mois). Cent quatre mères n'étaient pas sous traitement, 108 ont bénéficié d'une monothérapie par la névirapine dès le début de l'accouchement et 312 d'une trithérapie (AZT/D4T/TDF + 3TC + NVP/EFV).

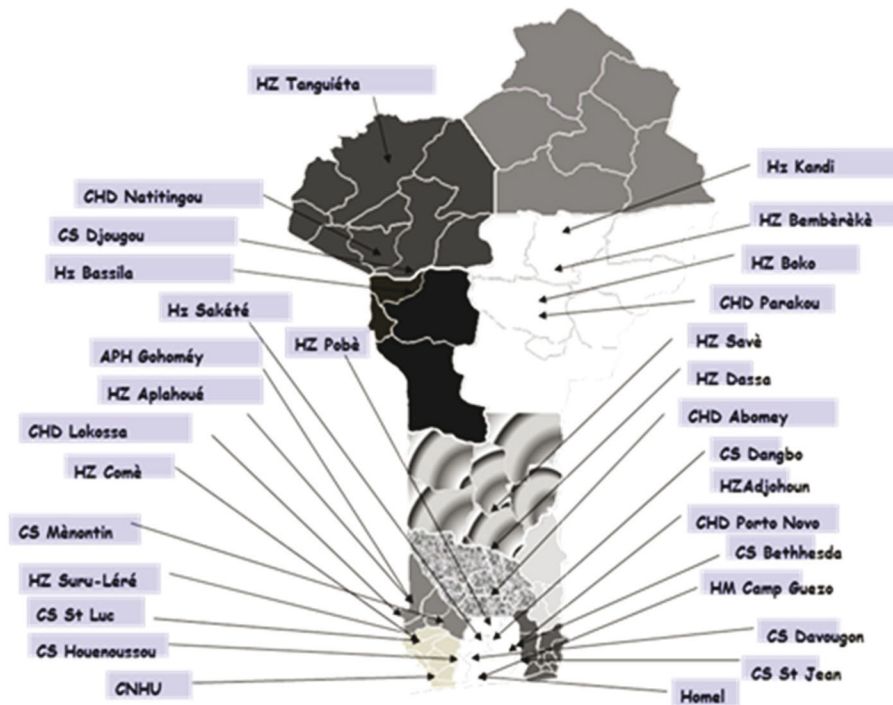


Fig. 1 Les 30 sites PTME de collecte de TSS d’enfants nés de mères infectées par le VIH-1 des 12 départements du Bénin / 30 PMTCT sites DBS collection of children born to mothers infected with HIV-1 of the twelve departments of Benin HZ : hôpital de zone/ Area Hospital ; CHD : centre hospitalier départemental / Departmental Center Hospital ; CS : centre de santé / Health Center ; CNHU : centre national hospitalier et universitaire / National Hospital Center and University ; HOMEL : hôpital de la mère et de l’enfant / Mother and Child Hospital ; APH : ONG Aktion Prö Humanitat / Non-governmental organization APH ; HM : hôpital militaire / Military Hospital

Tableau 1 Caractéristiques globales des enfants inclus dans l’étude / *Global characteristics of children included in the study.*

Caractéristiques	n	%	Positif	Proportion (%)	Taux d’échec de la PTME (%)	p
Sexe						
Féminin	227	43,3	17	7,5		
Masculin	297	56,7	34	11,4		0,1
Âge (mois)						
1–6	347	66,2	30	8,6		
7–10	102	19,5	11	10,8		0,6
11–14	48	9,2	6	12,5		
15–18	27	5,1	4	14,8		
Prophylaxie de la mère						
Aucune	104	19,8	23		22,1	
Monothérapie	108	20,7	12		11,1	< 0,0001
Trithérapie	312	59,5	16		5,1	
Allaitement						
Artificiel	148		8		5,4	
Maternel	337		33		9,8	< 0,0001
Mixte	39		10		25,6	

Quatre cent vingt femmes ont bénéficié d'un traitement antirétroviral de prévention. Parmi ces 420 femmes, 108 ont bénéficié d'une monothérapie par la névirapine et 312 d'une trithérapie. Parmi les 420 femmes qui ont bénéficié d'un traitement de prévention, 28 cas de transmission du VIH-1 de la mère à l'enfant ont été enregistrés. Cent quatre femmes n'ont bénéficié d'aucun traitement de prévention. Parmi ces 104 femmes, 23 cas de transmission du VIH-1 de la mère à l'enfant ont été enregistrés. L'ensemble ($28 + 23 = 51$) donne, sur un total de 524, un taux de transmission de 9,7 %.

Le sex-ratio (M/F) des enfants positifs était de 2, mais aucune différence statistiquement significative de positivité au VIH-1 n'a été observée selon l'âge ($p = 0,6$) ou le sexe ($p = 0,1$).

Le taux d'échec de la PTME pour les enfants nés de mère sous chimiothérapie antirétrovirale était de 6,7 % (28/420). Cet échec était plus élevé chez les enfants nés de mères sous monothérapie que pour ceux nés de mères sous trithérapie (respectivement 11,1 % [12/108] et 5,1 % [16/312], $p = 0,031$). Chez les enfants nés de mères n'ayant bénéficié d'aucune prophylaxie ($n = 104$), 22,1 % (23/104) ont été testés positifs, soit une incidence du VIH-1 chez ces enfants deux fois plus élevée que celle des enfants nés de mères sous monoprophyllaxie et quatre fois plus élevée que celle des enfants nés de mères sous trithérapie ($p < 0,0001$) (Tableau 1).

Les taux d'échecs, statistiquement significatifs ($p < 0,0001$), selon le mode d'allaitement, étaient respectivement de 9,8, 25,6 et 5,4 % pour les enfants sous allaitement maternel, mixte et artificiel.

Discussion

Avant 2009, très peu de publications portaient sur la transmission mère-enfant (TME) du VIH au Bénin. Une étude conduite en 2004 à Cotonou [1] avait rapporté un taux de transmission de 7 % chez les mères immunocompétentes avec un taux de CD4 supérieur à 500 cellules/mm³ et ayant bénéficié d'une prophylaxie avec une dose unique de névirapine au moment de l'accouchement. Ce taux d'échec de la PTME est comparable à celui retrouvé dans notre étude où, pour la première fois, le diagnostic moléculaire a pu être effectué à partir de gouttes de sang sur papier buvard.

Par ailleurs, le taux élevé d'échec de la PTME en cas d'utilisation antérieure de la névirapine en dose unique chez la mère confirme les résultats antérieurs [10].

Au Burkina Faso, il n'y avait pas d'échec chez les enfants nés de mères ayant bénéficié d'une trithérapie (0/101) ou d'une bithérapie (0/59) [26]. Nos résultats ont confirmé que le taux d'infection au VIH-1 est plus élevé lorsque les mères étaient sous monothérapie que lorsqu'elles étaient sous trithérapie. En effet, le meilleur contrôle de la charge

virale obtenu par la trithérapie réduit le risque de la TME du VIH-1 [20,29]. Une même observation a été faite en Afrique de l'Ouest et au Botswana, où l'efficacité de la trithérapie dans la réduction de la TME du VIH-1 a été rapportée [10,15]. Des études multicentriques conduites dans plusieurs pays d'Afrique ont également montré l'importance de la trithérapie dans la réduction de la TME du VIH-1 [4,9].

Notre étude confirme le risque plus important de transmission en cas d'allaitement maternel par rapport à l'allaitement mixte, mais aussi de l'allaitement mixte par rapport à l'allaitement artificiel [13].

L'allaitement maternel reste encore chez les femmes séropositives la méthode la plus répandue en Afrique subsaharienne, malgré la réduction des risques de transmission par l'allaitement artificiel [17]. Les recommandations de l'OMS préconisent l'allaitement maternel mais protégé par une trithérapie [21].

Depuis juin 2013, le Bénin a mis en œuvre l'option B+ de l'OMS qui recommande la mise sous ARV à vie des gestantes séropositives dès que le diagnostic de l'infection à VIH est fait [6].

Conclusion

Les résultats de notre étude enrichissent les données de la littérature sur la prophylaxie antirétrovirale pour réduire le risque de la TME du VIH-1. Une attention accrue est nécessaire pour s'assurer de l'effectivité de la prophylaxie le plus tôt possible chez la mère et dès la naissance chez l'enfant.

Remerciements Nous remercions le Dr Signori-Schmuck Anne du CHU de Grenoble pour sa contribution à la rédaction de cet article.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts.

Références

1. Adeothy-Koumakpaï S, Monnykoso CN, D'almeida M, et al (2004) Suivi de l'enfant de mère infectée par le VIH dans le cadre de la prévention de la transmission mère-enfant à Cotonou (Bénin). *Arch Pediatr* 11:1425-9
2. Adjorlolo-Johnson G, De Cock KM, Ekpini E, et al (1994) Prospective comparison of mother-to-child transmission of HIV-1 and HIV-2 in Abidjan, Ivory Coast. *JAMA* 272:462-6
3. Arredondo M, Garrido C, Parkin N, et al (2012) Comparison of HIV-1 RNA measurements obtained by using plasma and dried blood spots in the automated Abbott real-time viral load assay. *J Clin Microbiol* 50:569-72
4. Azcoaga-Lorenzo A, Ferreyra C, Alvarez A, et al (2011) Effectiveness of a PMTCT programme in rural Western Kenya. *AIDS Care* 23:274-80

5. Cassol SA, Lapointe N, Salas T, et al (1992) Diagnosis of vertical HIV-1 transmission using the polymerase chain reaction and dried blood spot specimens. *J Acquir Immune Defic Syndr* 5:113–9
6. CNLS (2014) Rapport de suivi de la déclaration de politique sur le VIH/sida au Bénin. 63 p
7. Creek TL, Sherman GG, Nkengasong J, et al (2007) Infant human immunodeficiency virus diagnosis in resource-limited settings: issues, technologies, and country experiences. *Am J Obstet Gynecol* 197:S64–S71
8. De Cock KM, Fowler MG, Mercier E, et al (2000) Prevention of mother-to-child HIV transmission in resource-poor countries: translating research into policy and practice. *JAMA* 283:1175–82
9. de Vincenzi I, Kesho Bora Study Group (2011) Triple antiretroviral compared with zidovudine and single-dose nevirapine prophylaxis during pregnancy and breast-feeding for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 (Kesho Bora study): a randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 11:171–80
10. Dryden-Peterson S, Jayeoba O, Hughes MD, et al (2011) Highly active antiretroviral therapy versus zidovudine for prevention of mother-to-child transmission in a programmatic setting, Botswana. *J Acquir Immune Defic Syndr* 58:353–7
11. Huang S, Salituro J, Tang N, et al (2007) Thermodynamically modulated partially double-stranded linear DNA probe design for homogeneous real-time PCR. *Nucleic Acids Res* 35:e101
12. Johanson J, Abravaya K, Caminiti W, et al (2001) A new ultrasensitive assay for quantitation of HIV-1 RNA in plasma. *J Virol Methods* 95:81–92
13. John-Stewart G, Mbori-Ngacha D, Ekpini R, et al (2004) Breast-feeding and transmission of HIV-1. *J Acquir Immune Defic Syndr* 35:196–202
14. Kébé K, Ndiaye O, Ndiaye HD, et al (2011) RNA versus DNA (NucliSENS EasyQ HIV-1 v1.2 versus Amplicor HIV-1 DNA test v1.5) for early diagnosis of HIV-1 infection in infants in Senegal. *J Clin Microbiol* 49:2590–3
15. Kouanda S, Tougri H, Cisse M, et al (2010) Impact of maternal HAART on the prevention of mother-to-child transmission of HIV: results of an 18-month follow-up study in Ouagadougou, Burkina Faso. *AIDS care* 22:843–50
16. Mehta N, Trzmielina S, Nonyane BA, et al (2009) Low-cost HIV-1 diagnosis and quantification in dried blood spots by real time PCR. *PLoS one* 4:e5819
17. Muko KN, Tchangwe GK, Ngwa VC, Njoya L (2004) Preventing mother-to-child transmission: factors affecting mothers' choice of feeding — a case study from Cameroon. *SAHARA J* 1:132–8
18. Nduati R, John G, Mbori-Ngacha D, et al (2000) Effect of breast-feeding and formula feeding on transmission of HIV-1: a randomized clinical trial. *JAMA* 283:1167–74
19. OMS (2010) Antiretroviral therapy for HIV infection in infants and children. Recommendations for a public health approach: 2010 revision. 206 p
20. OMS (2010) Antiretroviral drugs for treating pregnant women and preventing HIV infection in infants. Recommendations for a public health approach. 106 p
21. OMS (2010) WHO recommendations on the diagnosis of HIV infection in infants and children. 56 p
22. Onusida (2014) Un rapport de l'Onusida indique que 19 millions de personnes sur les 35 millions vivant aujourd'hui avec le VIH ne savent pas qu'elles ont le virus. 4 p
23. Onusida (2014) Enfants et VIH/sida. 4 p
24. Read JS, Committee on Pediatric AIDS, American Academy of Pediatrics (2007) Diagnosis of HIV-1 infection in children younger than 18 months in the United States. *Pediatrics* 120:e1547–e62
25. Sherman GG, Stevens G, Jones SA, et al (2005) Dried blood spots improve access to HIV diagnosis and care for infants in low-resource settings. *J Acquir Immune Defic Syndr* 38:615–7
26. Soubeiga ST, Bisseye C, Compaore R, et al (2014) Effectiveness of the prevention of mother-to-child transmission of HIV protocol applied at Saint Camille Medical Centre in Ouagadougou, Burkina Faso. *J Int AIDS Soc* 17:19701
27. Tang N, Huang S, Salituro J, et al (2007) A RealTime HIV-1 viral load assay for automated quantitation of HIV-1 RNA in genetically diverse group M subtypes A-H, group O and group N samples. *J Virol Methods* 146:236–45
28. Therapy PoA (2010) Guidelines for the use of antiretroviral agents in pediatric HIV infection. Available. 219 p
29. Violari A, Cotton MF, Gibb DM, et al (2008) Early antiretroviral therapy and mortality among HIV-infected infants. *N Engl J Med* 359:2233–44