

Ministère de l'Enseignement Supérieur
Et de la Recherche Scientifique

République du Mali

Un Peuple – Un But – Une Foi

Université des Sciences, des Techniques
et des Technologies Bamako

Faculté de Pharmacie
Année universitaire 2017-2018

Thèse N°/ 2018

TITRE

Prévalence des échecs virologiques chez les patients adultes sous traitement ARV à l'hôpital de Sikasso

Thèse présentée et soutenue publiquement le 2018 devant la Faculté de Pharmacie du Mali.

Par Mr. CHEICKNA KONATE

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie diplôme d'Etat.

JURY

Président:

Pr Daouda K MINTA

Membres :

Dr Fatoumata DAOU

Dr Oumar KASSOGUE

Co-directeur:

Dr Almoustapha MAIGA

Directeur:

Pr Souleymane DIALLO

DEDICACE

DEDICACE

Je dédie ce travail :

- A mon père Youssouf KONATE
- A mère Alima COULIBALY
- A ma femme Alima DIARRA
- A mon fils Cheick Abdoul Kader KONATE

Papa, maman, merci.

REMERCIEMENTS

REMERCIEMENTS

Je remercie le Miséricorde, le très Miséricorde, le Bâtitseur des bâtisseurs, et son prophète MOHAMED paix et salut sur lui.

Mes remerciements à :

- Mes grands frères
- Mes grandes sœurs
- Toute la famille KONATE et à toute la famille COULIBALY
- Mes ami(e)s et toute la 8^{ème} promotion du numerus clausus
- Mes professeurs depuis mon inscription jusqu'à aujourd'hui

Mes vifs remerciements à l'ensemble du personnel de l'hôpital de Sikasso en général et au personnel du Laboratoire-Banque de sang en particulier pour leur accueil.

Mes chaleureux remerciements vont à tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à notre encadrement.

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A notre Maître et Président du Jury Professeur Daouda K MINTA

- **Professeur agrégé en maladie infectieuse et tropicale au CHU Point-G**
- **Président du Comité Scientifique de lutte contre le VIH SIDA au Mali**

Cher Maître

Homme de grandes qualités scientifiques, nous avons été séduites par la simplicité, la clarté et la rigueur de vos enseignements,

En plus de vos connaissances scientifiques, votre sens social de la vie mérite le respect.

Nous vous exprimons chers Maître, toute notre reconnaissance.

A notre Maître et Juge Dr Fatoumata DAOU

- **Pharmacienne à l'Hôpital de Point G**
- **Assistante en Pharmacologie**

Cher Maître

Nous avons été très touché par votre accueil et la disponibilité dont vous avez fait preuve à notre égard. A travers ce travail, recevez chers maître notre profonde gratitude.

A notre Maître et Juge Dr Omar KASSOGUE

- **Pharmacien biologiste**
- **Chef de service de Laboratoire de Biologie Médicale à l'hôpital de Sikasso.**
- **Chargé de recherche en Biologie Clinique**

Cher Maître,

C'est une grande joie pour nous de vous avoir parmi les membres de ce jury.

Vos qualités intellectuelles, votre disponibilité, votre amour pour le travail bien fait et vos qualités humaines font de vous un maître admirable. Votre abord facile, votre esprit critique et votre objectivité ont largement contribué à renforcer la qualité de ce travail.

Puissions-nous continuer à bénéficier de votre encadrement.

A notre Maître et Co-Directeur Dr Almoustapha I MAIGA

- **Docteur en Pharmacie**
- **Docteur en science virologique de l'école Doctorale Complexité du Vivant de l'Université Pierre et Marie Curie UPMC à Paris**
- **Directeur de l'Unité d'Epidémiologie Moléculaire de la Résistance du VIH aux ARV CEREFO**
- **Chef de service au Laboratoire de Biologie Médicale à l'hôpital Gabriel Toure**
- **Vice président du comité scientifique de lutte contre le VIH-SIDA**
- **Chargé de recherche en Bactériologie-virologie**

Cher Maître,

Nous vous sommes infiniment reconnaissant. Les mots nous manquent pour exprimer combien cela fut un plaisir de travailler avec vous. Homme de principe votre simplicité, votre sérénité, votre disponibilité, et votre rigueur scientifique font de vous un maître exemplaire et reconnu de tous ;

Veillez agréer cher Maître l'expression de notre grande admiration et de notre profonde reconnaissance

A notre Maître et Directeur de Thèse Pr Souleymane DIALLO

- **Pharmacien Biologiste,**
- **Colonel des Force Armée du Mali.**
- **Maitre de conférences en Bactériologie –virologie à la Faculté de Pharmacie**
- **Ancien Chef de service au Laboratoire de Biologie Médicale à l'hôpital Gabriel Toure**
- **Ancien Directeur Général du centre d'infectiologie Charles Mérieux**

Cher Maître

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de diriger ce travail malgré vos multiples occupations

Vos qualités de pédagogue, votre rigueur scientifique, votre accueil toujours courtois et affectif, votre modestie et votre disponibilité font de vous un maître respecté et admirable.

Veillez recevoir chers maître, toute notre considération et notre profonde gratitude.

SIGLES ET ABREVIATIONS

Liste des Abréviations

ABC	ABACAVIR
ALAT	ALANINE AMINOTRANSFÉRISE (TRANSAMINASE)
ANEH	AGENCE NATIONALE D'ÉVALUATION DES HOPITAUX
AES	ACCIDENT D'EXPOSITION AU SANG
ARV	ANTI-RÉTROVIRAUX
ATV	ATAZANAVIR
ATV/R	ATAZANAVIR/RITONAVIR
AZT	ZIDOVUDINE
CD4	CLUSTER OF DIFFÉRENCIATION 4
CDV	CENTRE DE DÉPISTAGE VOLONTAIRE
CERKES	CENTRE DE REFERENCE KENEDOUGOU SOLIDARITE
CESAC	CENTRE D'ÉCOUTE DE SOINS, D'ANIMATION ET DE CONSEIL
CV	CHARGE VIRALE
DRV	DARUNAVIR
DRV/R	DARUNAVIR/RITONAVIR
EDSM V	CINQUIÈME ENQUÊTE DEMOGRAPHIE ET SANTÉ AU MALI
EFV	EFAVIRENZ
FTC	EMTRACITABINE
HCNLS	HAUT CONSEIL NATIONAL DE LUTTE CONTRE LE SIDA
IMAARV	INITIATIVE MALIENNE D'ACCÈS AUX ANTIRETROVIRAUX
INNTI	INHIBITEUR NON NUCLEOSIDIQUE DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE
INTI	INHIBITEUR NUCLEOSIDIQUE DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE
IO	INFECTIONS OPPORTUNISTES
IST	INFECTIONS SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES
IP	INHIBITEUR DE PROTÉASE
LPV/R	LOPINAVIR / RITONAVIR
NVP	NÉVIRAPINE
OMS	ORGANISATION MONDIALE DE LA SANTÉ
ONUSIDA	PROGRAMME COMMUN DES NATIONS UNIES POUR LE SIDA
PCR	POLYMERASE CHAIN REACTION
ADN / ARN	ACIDE DESOXYRIBO-NUCLEIQUE / ACIDE RIBO-NUCLEIQUE
PVVIH	PERSONNES VIVANT AVEC LE VIH
RAL	RALTÉGRAVIR
RTV	RITONAVIR
SE/HCNLS	SECRETARIAT EXECUTIF DU HAUT CONSEIL NATIONAL DE LUTTE CONTRE LE SIDA
SEREF0	LABORATOIRE DE RECHERCHE ET FORMATION EN VIH/TB
SIDA	SYNDROME D'IMMUNODÉFICIENCE ACQUISE
TAR	TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL
TDF	TENOFOVIR
VIH	VIRUS DE L'IMMUNODÉFICIENCE HUMAINE

Liste des Figures

Généralités

Figure 1 : structure morphologique du VIH-1

Figure 2 : Représentation schématique du génome du VIH-1

Figure 3 : Cycle réplicatif du VIH-1 dans un lymphocyte CD4+.

Figure 4 : PCR en temps réel Abbott m2000rt

Résultats

Figure 1 : Répartition des patients en fonction du sexe

Figure 2 : répartition des patients selon le statut matrimonial

Figure 3 : répartition des patients selon la résidence

Liste des Tableaux

Généralités

Tableau 1 : Liste des molécules ARV commercialisées.

Tableau 2 : Toxicité des antirétroviraux de première ligne et substitutions recommandées.

Tableau 3 : Les alternatives de seconde ligne possibles en fonction des schémas utilisés en première ligne et en cas de contre-indication ou de toxicité de l'une des molécules du schéma préférentiel.

Tableau 4 : Trousse de mesure en temps réel de la charge virale.

Résultats

Tableau 1 : Répartitions des patients en fonction de l'âge

Tableau 2: Répartition des patients en fonction du service demandeur.

Tableau 3 : Répartition des patients en fonction de la profession

Tableau 4: Répartition des patients selon les lignes thérapeutiques

Tableau 5 : Répartition des patients en fonction de la durée du traitement antirétroviral

Tableau 6: Répartition des patients en fonction de la charge virale plasmatique

Tableau 7: Répartition des charges virales plasmatiques en fonction de la durée du traitement antirétroviral

Tableau 8: Répartition des charges virales plasmatiques en fonction de l'âge

Tableau 9 : Répartition des charges virales plasmatiques en fonction du sexe

Tableau 10: Répartition des charges virales plasmatiques selon les lignes thérapeutique

Tableau 11 : Répartition des charges virales plasmatiques en fonction du traitement antirétroviral

SOMMAIRE

Table des Matières

I. Introduction	20
Objectifs.....	25
- Objectif général	
- Objectifs spécifiques	
II. Généralités	27
1. Définition	27
2. Structure	28
3. Stabilité physicochimique	30
4. Cycle de réplication du VIH	30
5 Thérapeutique	32
6 Echec thérapeutique	42
7. La Charge Virale Plasmatique	44
III. METODOLOGIE	52
1. Cadre et Lieu d'étude	52
2. Type et durée d'étude.....	53
3. Population d'étude	53
4. Critères d'inclusion	53
5. Critères de non inclusion	53
6. Aspect d'éthique	53
7. Paramètres étudiés	54
IV. Résultats	64
V. Commentaire et discussion.	73
Conclusion et Recommandations	78
Références bibliographiques	82

INTRODUCTION

I. Introduction

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est l'agent étiologique du Syndrome d'Immunodéficience Acquise (SIDA). Il peut être transmis par voie sexuelle, exposition au sang ou à des produits sanguins contaminés ou par une mère infectée à son fœtus.

La mesure quantitative des taux de VIH dans le sang périphérique a fortement contribué à la compréhension de la pathogenèse de l'infection par le VIH et s'est avérée être un des paramètres essentiels pour le pronostic et suivi des individus infectés par le VIH. La surveillance des niveaux plasmatiques d'ARN, du nombre de lymphocyte T CD4+, de l'état clinique du patient et une consulting en permanence sont essentielles pour une bonne rémission.

Le VIH reste un problème de santé publique, l'organisation des nations unies contre le SIDA (ONU SIDA) et l'organisation mondiale de la santé (OMS) indiquaient dans leur rapport annuel 2016 que 36,7 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde, 17 millions de personnes sous thérapie antirétrovirale. Le nombre de décès annuel liés au sida diminue régulièrement à travers le monde de 1,5 millions en 2010 contre 1,1 millions en 2016. Les femmes et les filles restent les plus touchées. L'Afrique subsaharienne reste la région la plus fortement touchée avec 1,4 millions le nombre de personnes contaminées, ce qui porte à 26 millions le nombre de personnes vivant avec le VIH.

Les résultats de la dernière étude de séroprévalence de l'infection à VIH réalisée en 2012/2013 dans la population générale au cours de l'Enquête Démographique et Santé au Mali (EDSMV, 2012-2013), ont montré une baisse du taux de prévalence VIH de 1,3% à 1,1%. Le Mali est un pays à épidémie généralisée du VIH, à prévalence basse avec tendance à la stabilisation. Les femmes sont plus touchées que les hommes respectivement 1,3% et 0,8%. Cependant, la séroprévalence reste élevée au sein des populations clés notamment les professionnelles du sexe (24,3 % ; *ISBS 2009**), les hommes ayant des rapports sexuels avec d'autres hommes (13,7% ; *Terya 2015**), les utilisateurs de drogues injectables (5,2%). [1]

L'Initiative Malienne d'Accès aux Antirétroviraux (IMAAV) débutée en Novembre 2001 a permis un accès élargi aux ARV.

La gratuité du traitement a été possible par un décret présidentiel en date du 14 juillet 2004. Cette gratuité a considérablement élargi l'accès aux molécules ARV avec la recommandation d'une combinaison d'au moins trois(3) molécules.

La mise en place des traitements ARV efficace a complètement changé la face de la prise en charge des patients infectés par le VIH faisant de la maladie une infection chronique avec laquelle on peut vivre pendant longtemps avec un bon suivi clinique et biologique. C'est pour cela que les autorités maliennes se sont engagées à maintenir les engagements des institutions internationales.

Pour l'offre de services VIH, 92 sites de traitement antirétroviral (ARV), 446 sites de prévention de la transmission mère-enfant du VIH, 386 sites de conseil et de dépistage volontaire du VIH étaient fonctionnels au 31 décembre 2015. Ce qui a permis d'assurer le suivi de 34.974 patients sous ARV dont 2.667 enfants.

Pour le suivi immuno-virologique des PVVIH, le Mali dispose de 92 FACSCount pour le comptage de lymphocytes TCD4, avec une moyenne de 7 appareils par région et 8 appareils Abbott M2000RT pour la mesure de la charge virale. Depuis 2013, le Mali n'a pas connu de rupture de traitement ARV. L'Etat malien est soutenu dans la lutte contre le VIH et le Sida par les partenaires techniques et financiers. [2]

Ces efforts paraissent symboliques, et doivent être renforcés, les échecs de traitement persistent, de plus se procurer des antirétroviraux demeure un souci surtout dans les campagnes.

L'harmonisation du traitement pose d'énormes problèmes, les difficultés d'accès aux laboratoires qualifiés, le délai de rendu des résultats trop long.

L'initiative **SAMBA** du Professeur Elène LI Université de Cambridge qui a obtenu le prix de l'inventaire de l'année pour une machine simple à utilisée à la taille d'une machine à café, plus accessible qui permet d'obtenir les résultats de la charge virale en moins de 90 minutes paraît être une bonne alternative utilisé au Kenya, Ouganda, et Malawi.

En plus les traitements ARV actuels ont leur limite, n'éradiquent pas le VIH, mais permettent une bonne rémission, autrement dit rendent la charge virale indétectable, sous seuil de détection le virus ne peut plus entraîner la mort et son risque de transmission est pratiquement nul, de plus la nouveauté de l'année en couple l'un infecté bien suivi sous traitement inhibe transmission.

Eradiquer le virus dans tout l'organisme est extrêmement difficile, une rémission est possible. Par contre éradiquer la transmission, un diagnostic rapide, traitement, suivi immunovirologique

misent en place au cours d'un même voyage, plus l'acceptation de l'autre sont des aspects qui peuvent nous conduire à un résultat inespéré en attendant l'arrivée d'un vaccin efficace.

D'où la pertinence des objectifs de l'ONU-SIDA d'ici 2030 :

- Zéro nouvelle infection
- Zéro décès liés au SIDA
- Zéro discrimination

Déjà des vaccins en phase d'expérimentation arrivent à jouer le rôle de la trithérapie (rendre la charge virale indétectable).

Les recherches sont actuellement beaucoup avancées en termes de vaccin préventif, et la révolution avec les vaccins thérapeutiques sur les patients déjà infectés, en plus des nouvelles techniques de la thérapie génique.

Il y'a 35 ans s'était la catastrophe, la trithérapie était une avancée considérable, demain l'espoir d'éradiquer est permis.

Pour l'instant L'avènement en 1996 de la trithérapie (HAART : High Active Antirétroviral Therapy en anglais) incluant les molécules comme les inhibiteurs de protéase, a permis d'atteindre l'objectif du traitement antirétroviral. Cet objectif est de réduire considérablement la morbidité et la mortalité liées au SIDA en ralentissant la réplication du VIH de tel point que la charge virale plasmatique baisse en dessous des seuils de détection des automates d'analyse (<40 copies/ml) [2].

L'échec virologique est défini par la persistance d'une charge virale supérieure ou égale à 1000 copies sur la base de 2 charges virales consécutives à 3 mois d'intervalle, après 6 mois de traitement bien conduit. [2]

De nombreux marqueurs virologiques ont été proposés pour prédire l'évolution de l'infection VIH mais les données de plusieurs études de cohorte ont montré que la quantification de l'ARN viral plasmatique (charge virale) était le marqueur le plus pertinent. [4]

La charge virale permet d'estimer la réplication virale, à savoir le nombre de particules virales présent dans le plasma ou dans les liquides biologiques.

La majorité des tests utilisés fait appel à des techniques de PCR en temps réel dont le seuil de quantification est de 40 copies/ml ou 10 copies/ml pour les techniques ultrasensibles. [4]

Quelle est la prévalence des échecs virologiques après un (1) an de traitement antirétroviral à Sikasso ?

La région de Sikasso dispose d'un seul appareil de mesure de charge virale notamment l'Abbott m2000rt. Pour une région comportant 7 cercles et fait frontière avec trois pays dont l'un avec de haute prévalence VIH notamment la Cote d'Ivoire, le Burkina Faso, et la Guinée Conakry.

La région de Sikasso réunit « des facteurs » favorables à la propagation et à la potentialisation de l'impact de l'épidémie : la grande pauvreté, l'illettrisme notamment chez les femmes, les flux migratoires internes et externes importants et croissants, les pratiques socioculturelles à risque telles que le lévirat et le sororat, les pratiques à risque au niveau des sites d'orpaillage. A cela s'ajoutent les effets de la crise socio- politique notamment les déplacements de populations fuyant le nord du pays. [2]

Après l'accès élargi aux antirétroviraux, il est donc important d'estimer la prévalence des échecs dans les protocoles thérapeutiques particulièrement à Sikasso. D'où l'intérêt de cette étude.

OBJECTIFS

Objectifs

Objectif Général :

Evaluer la prévalence des échecs virologiques chez les patients adultes sous traitement ARV à l'hôpital de Sikasso.

Objectifs Spécifiques :

- ❖ Décrire les caractéristiques sociodémographiques des patients
- ❖ Déterminer la prévalence des échecs virologiques
- ❖ Détecter les facteurs associés aux échecs virologiques des patients.

GENERALITES

II. Généralités

1. Définition

Les Virus de l'Immunodéficience Humaine appartiennent à la famille des Retroviridae, définie principalement par son mode de réplication : le génome, constitué d'ARN, est transcrit en ADN grâce à la transcriptase inverse (TI) d'origine virale [5].

Selon les critères de pathogénicité et de phylogénétiques, on distingue trois sous-familles, les Oncovirus, les plus répandus, sont associés à des cancers ou leucémies. Cette sous-famille comprend les HTLV, identifiés chez les malades atteints de leucémie T (HTLV-I) ou de leucémie tricholeucocytes (HTLV-II). La seconde sous-famille, les Lentivirus sont caractérisés par une infection à évolution lente mais fatale, et leur pouvoir cytopathogène en culture. Les VIH-1 et VIH-2 font partis de cette sous-famille, mais on y retrouve également le VIS infectant l'espèce Simienne, ainsi que le VIF infectant l'espèce féline. Le VIH-1 est répandu partout à travers le monde alors que le VIH-2, avec lequel le VIH-1 partage 50% d'homologie de séquence, est principalement retrouvé en Afrique de l'Ouest. Enfin, les Spumavirus forment la troisième sous-famille, et sont retrouvés chez de nombreux mammifères, ils ne sont associés à aucune pathologie chez l'Homme et l'animal [6].

Dès 1985, une variabilité génétique importante des VIH a été mise en évidence; il n'existe pas deux virus identiques, même au sein d'un même individu. Cette diversité génétique, due à différents mécanismes (faible fiabilité de la TI, haut niveau de réplication, recombinaison génétique) peut avoir des conséquences sur la réponse aux traitements antirétroviraux

Le VIH est divisé en deux "groupes", VIH-1 et VIH-2 qui proviennent de 2 événements de transmission inter-espèces différents, issus respectivement du Chimpanzé et du Sooty Mangabey.

Les analyses phylogénétiques du VIH-1 à partir de différents isolats ont permis de le classer en 4 groupes génétiques M (main), O (outlier), N (non-M, non-O) et le dernier groupe P découvert récemment par l'équipe de Plantier.

Le VIH-2 possède 7 sous-types notamment A, B, C, D, E, F, G dont A et B sont prédominants. La majorité des infections par le VIH est causée par le groupe M, les infections par les groupes N et O étant restreintes à l'Afrique centrale. Dans le groupe M, 9 sous-types sont reconnus et désignés par les lettres A, B, C, D, F, G, H, J et K, les variations génétiques entre les sous-types allant de 25 à 35% selon les sous-types et les régions du génome considérés.

Il existe également des variations au sein d'un sous-type, entre 15 et 20%, tels que le sous-type F, divisé en sous sous-types F1 et F2 et le sous-type A en A1, A2 et A3. Les analyses de tout le génome ont révélé l'existence de virus recombinants inter sous-types, issus de patients surinfectés ou co-infectés.

Ces virus recombinants sont appelés CRFs (Circulating Recombinant Forms) lorsqu'ils ont été identifiés chez au moins 3 individus non liés épidémiologiquement et caractérisés sur tout le génome.

Dans le cas contraire, ils sont appelés URFs (Unique Recombinant Forms), plus de 200 actuellement. A l'heure actuelle 64 CRFs ont été identifiés, les recombinants CRF01_AE et CRF02_AG jouant un rôle important dans les épidémies régionales.

2. Structure :

Le VIH est un virus à ARN, de 90 à 120 nm de diamètre, composé de 2 molécules d'ARN reliées entre elles par leur 5'covalente, ce sont des particules sphériques enveloppées de type D.

Le génome du VIH consiste en un peu moins de 9700 nucléotides et est par conséquent 100 000 fois plus petit que le génome humain. Il comporte trois gènes principaux gag, pol, et env, six gènes accessoires vif, nef, vpr, tat, rev et vpu. A chaque extrémité du génome se trouve des séquences répétées LTR.

- Le gène gag synthétise un précurseur intracellulaire de 55 kDa qui sera clivé par une enzyme pour donner :

P24 (PM 24 000), protéine majeure de la capside.

P17 (PM 17 000), phosphoprotéine N-terminal protéine de la matrice

P15 (PM 15 000), nucléoprotéine N-terminal

- Le génome pol code pour trois enzymes :

La protéase indispensable au clivage du précurseur gag-p55

La transcriptase inverse (TI) sous deux formes moléculaires p64 et p53

L'endonuclease/ intégrase p34.

- Le gène env. (enveloppe) synthétise un précurseur glycosylé intracellulaire de 160 kDa qui sera clivé par d'autre enzyme pour donner :

GPSU gp120 (superficielle)

GPTM gp41 (transmembranaire)

Les LTR (Long Terminal Repeats), sont des longs répétitions terminales des régions qui se trouvent à chaque extrémité du génome du VIH. Elles sont essentielles pour l'intégration du provirus dans un chromosome hôte [6].

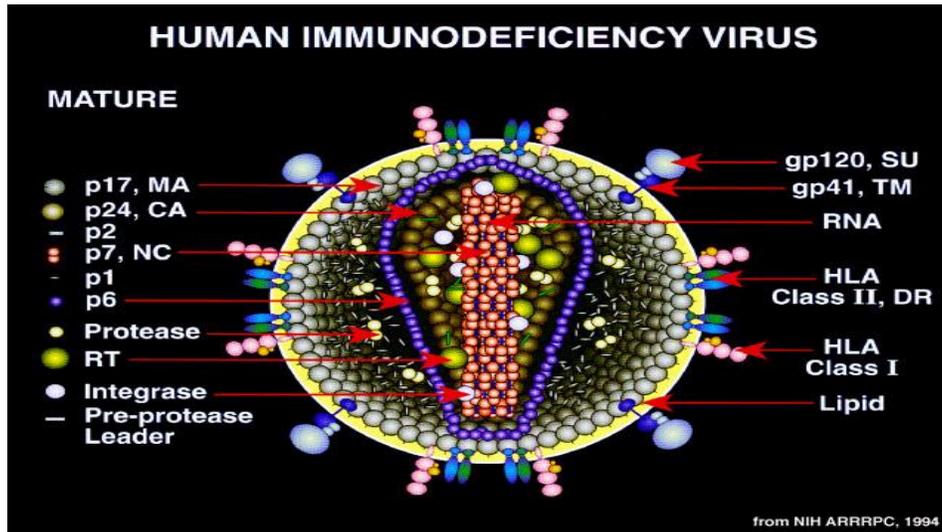
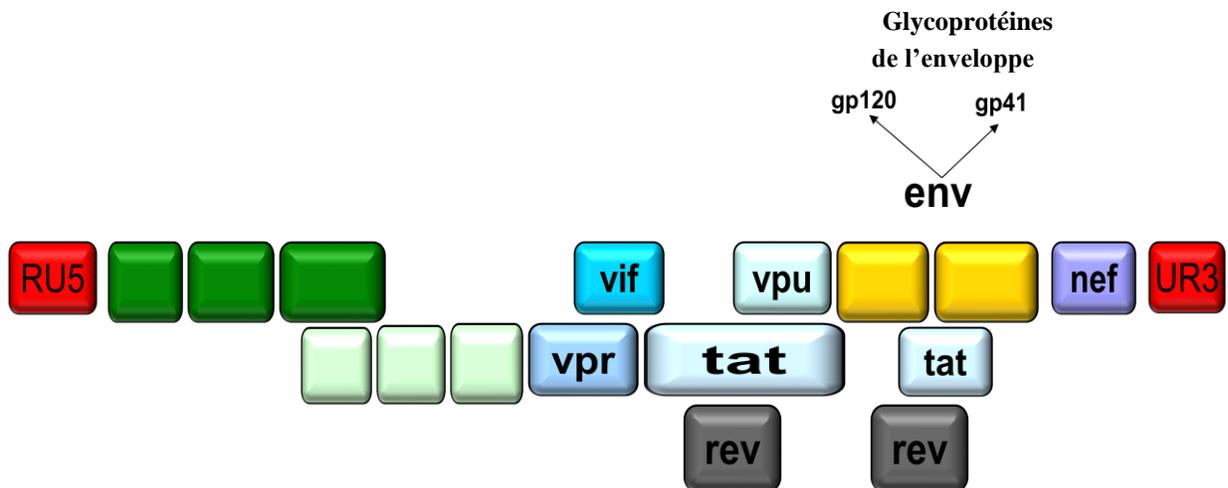


Figure 1: structure morphologique du VIH-1[8]



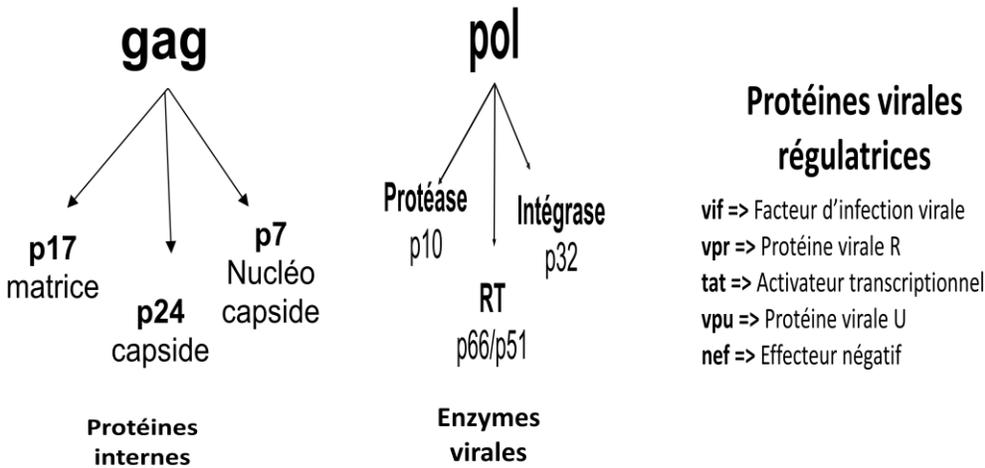


Figure 2 : Représentation schématique du génome du VIH-1 [8]

3. Stabilité physicochimique

Le VIH étant un virus enveloppé, il est sensible aux solvants des lipides et aux détergents. Il ne résiste pas à la chaleur puisqu'il est inactivé à 56°C pendant 30 minutes et également par traitement pendant 5 minutes à l'hypochlorite de sodium, à 0,2%, l'éthanol à 70%, le glutaraldéhyde à 0,2%. [8]

4. Cycle de réplication

Cibles des molécules antirétrovirales, les principales étapes du cycle répliatif du VIH sont communes aux Rétroviraux. Le virus entre en contact avec le récepteur CD4 via sa glycoprotéine gp120, qui va subir certaines modifications lui permettant de se fixer à un corécepteur (CCR5 ou CXCR4). Cette fixation dévoile la gp41, permettant ainsi la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire. Jusqu'il y a peu de temps, il était acquis que la transcription inverse de l'ARN viral n'avait lieu qu'après la décapsidation. Or de récentes études ont montré que cette étape pouvait avoir lieu également dans la capsid, présente dans le cytoplasme.

L'ARN génomique y est ainsi rétro-transcrit en ADN par la TI. L'ADN migre ensuite dans le noyau sous forme de complexe de pré-intégration pour être intégré dans le génome de la cellule hôte sous forme provirale. L'ADN provirale reste ensuite soit à l'état latent, soit est transcrit en ARN par la machinerie cellulaire. Les ARN produits sont destinés à plusieurs étapes : certains serviront de matériel génétique pour les nouveaux virions, d'autres seront traduits en polyprotéines, en ayant subi une étape d'épissage au préalable ou non. Les polyprotéines

produites vont subir certaines modifications ; la gp160 est clivé par une protéase cellulaire en gp120 et gp41, protéines qui vont ensuite migrer vers la membrane cellulaire. Les précurseurs gag et gag-pol vont ensuite être clivés par la protéase virale, qui sera auto-clivée de gag-pol au préalable. Tous ces éléments vont ensuite se rapprocher de la membrane cellulaire pour être empaquetés. Le virion ainsi formé, après bourgeonnement, entre dans un processus de maturation pour aboutir à un virus mature dont la capsid est définitivement assemblée. [5]

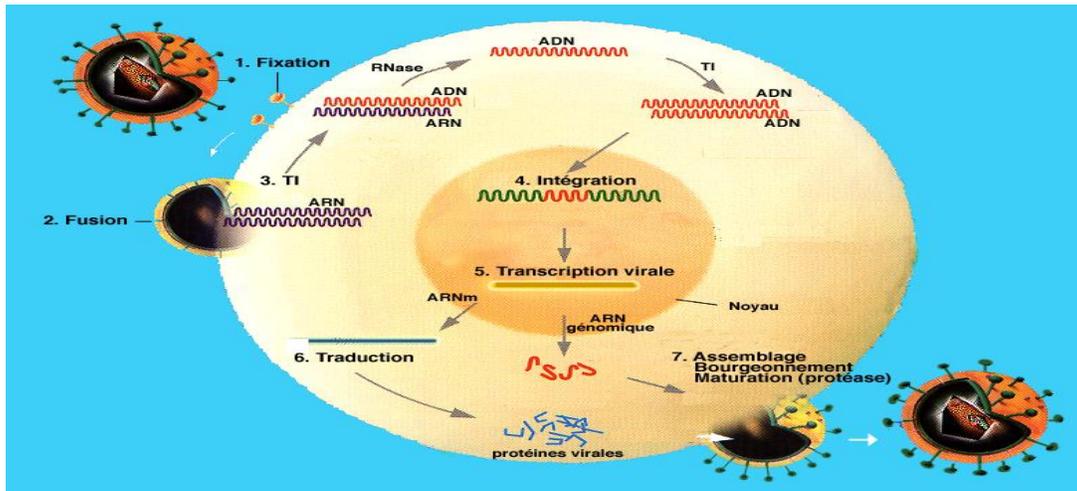


Figure 3 : Cycle répliquatif du VIH-1 dans un lymphocyte T CD4+.

Une particule virale vient s'attacher au récepteur CD4+ d'un lymphocyte. Elle se fixe à la membrane cellulaire via une reconnaissance du corécepteur pour ensuite être internée par fusion de membrane. A lieu ensuite la décapsidation partielle de l'ARN génomique pour être retro-transcrit en ADN proviral. Le complexe de pré-intégration ainsi formé va migrer dans le noyau pour permettre l'intégration de l'ADN dans le génome de la cellule. Après un certain temps de quiescence, l'ADN proviral va être transcrit en ARN génomique ou ARNm, pour être ensuite traduit. Les protéines ainsi produites sont assemblées avec l'ARN génomique pour former le virion qui va bourgeonner de la surface cellulaire. Le virion entre finalement dans un processus de maturation qui va le rendre infectieux [7].

5. Thérapeutique :

5.1 Différente classes thérapeutiques : [9]

Appartenant à 6 classes d'ARV, plus d'une vingtaine (20) de molécules sont disponibles actuellement

- **Les inhibiteurs de la transcriptase inverse**

Les inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques (INTI)

Les INTI (ou NRTI pour nucléoside reverse transcriptase inhibitor) sont des promédicaments qui doivent être triphosphorylés dans la cellule pour être actif. Ils subissent une activation en nucléoside triphosphate par les kinases cellulaires. Les formes triphosphates (diphosphates pour le Tenofovir) possèdent une forte affinité pour la transcriptase inverse du virus VIH-1 et entre en compétition avec les désoxynucléosides triphosphates naturels. Ils sont donc incorporés préférentiellement dans la chaîne de l'ADN en croissance causant une terminaison précoce de celle-ci (en raison du manque 3'-hydroxyl pour former le lien phosphodiester entre nucléotides). Le groupe OH 3' libre est nécessaire pour former une liaison avec le prochain nucléotide de la chaîne nucléotide en formation. Une fois phosphorylée, ces analogues trompent la transcriptase inverse en la faisant incorporer dans la chaîne de nucléotide s en formation ou ils servent de terminateur de chaîne.

Les analogues nucléosidiques sont à des degrés divers, des inhibiteurs de l'ADN polymérase mitochondriale. D'où une toxicité mitochondriale mise en évidence des les phases précliniques de leur développement. Cette toxicité à une expression clinique et biologique au niveau de plusieurs organes, se traduisant par des myopathies, des lipoatrophies, des neuropathies périphériques, des pancréatites, voire des défaillances polyviscérales par acidose lactique, parfois fatales. Des rares cas de mitochondriopathies sévères ont été observés chez les enfants exposés aux antirétroviraux pendant la grossesse.

Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)

Ce sont des composés de structures chimiques complètement différentes de celle des nucléosides normaux. Ce sont des inhibiteurs non compétitifs allostériques. Les INNTI occupent une poche hydrophobe voisine du site ADN-polymérase. Leur complexation modifie la géométrie de l'enzyme, ce qui diminue considérablement son efficacité catalytique. Cela provoque un

changement de conformation du site actif en déplaçant les résidus d'aspartate catalytique (en relation avec le site de liaison) de la polymérase de cette façon qu'il ne peut plus se lier à un substrat nucléotide, rendant ainsi l'enzyme inactif.

Contrairement aux INTI, les INNTI n'ont pas besoin d'une activation cellulaire puisqu'ils n'ont pas besoin de phosphorylation pour être actifs. Par conséquent, ces molécules ont un potentiel plus élevé que les INTI et inhibe la transcriptase inverse du VIH-1 de façon irréversible mais celle du VIH-1 de groupe O et du VIH-2.

- **Les inhibiteurs de protéase (IP)**

Les inhibiteurs de la protéase (IP ou PI pour protéase inhibitor) bloquent la phase tardive de la maturation virale. La protéase du VIH clive les polypeptides précurseurs, produits des gènes gag et pol codant les protéines de structure et les enzymes du virion. Les virions produits sous IP immatures et incapables d'infecter de nouvelles cellules. Métabolisé par le cytochrome P450, les IP sont l'objet d'interactions avec d'autres médicaments utilisant les mêmes voies métaboliques. Certains de ces autres médicaments sont contre-indiqués avec les IP, d'autres imposent des ajustements de doses. Les associations de deux IP et d'INNTI peuvent également nécessiter de tels ajustements. L'utilisation des IP est associée, à des degrés divers à une redistribution des graisses, à des troubles de la glycorégulation et à des hyperlipidémies.

- **Les inhibiteurs d'entrée**

Les inhibiteurs d'entrée ont plusieurs avantages sur les inhibiteurs de la transcriptase inverse et les inhibiteurs de la protéase principalement parce qu'ils agissent de façon extracellulaire.

Par conséquent, ils n'ont pas besoin de traverser la membrane cellulaire, ni besoin d'une activation intracellulaire.

Les inhibiteurs d'attachement

Après la fixation du VIH sur le récepteur CD4, des interactions ont lieu entre le virus et des corécepteurs protéiques, faisant partie de la famille de chimiokine, en particulier le CCR5 et le CXCR4.

Les antagonistes du CCR5 (Maraviroc®) sont de petites molécules qui se fixent de façon non compétitives sur la partie transmembranaire du corécepteur et induisant alors une modification des domaines extracellulaires du corécepteur qui empêche la fixation de la gp120.

Les inhibiteurs de fusion

Le seul inhibiteur de fusion actuellement disponible est un polypeptide, devant donc être injecté, dont la séquence correspond à une région de la gp41 (HR2, heptad repeat region). Il se lie de façon spécifique à l'ectodomaine (domaine HR1) de la protéine gp41, au moment où celle-ci est découverte par la liaison de gp120 au récepteur CD4 et aux récepteurs des chémokines. Les inhibiteurs de fusion empêchent le changement de conformation gp41 qui mènerait à la fusion des membranes du virus et de la cellule hôte. En fait, ils seraient liés à gp41 sous sa conformation de « repos » et l'empêcherait ainsi d'adopter une conformation en épingle à cheveux favorable à la fusion.

- **Les inhibiteurs de l'intégrase**

L'intégrase est une enzyme nécessaire à la catalase de l'étape d'insertion et de transfert de l'ADN viral dans le génome de la cellule hôte. Cette étape d'intégration est fondamentale pour le maintien et la stabilité du génome viral, ainsi que pour une expression optimale des gènes viraux.

Les inhibiteurs de l'intégrase constituent une nouvelle classe d'agents antirétroviraux qui bloquent l'activité de l'intégrase du VIH-1.

Les inhibiteurs de l'intégrase sont actifs sur les virus résistants aux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI), aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI), aux inhibiteurs de protéase (IP), et aux inhibiteurs d'entrée. Les inhibiteurs d'intégrase disponibles ou en développement empêchent le transfert de brin. L'ADN non intégré est ensuite dégradé.

Tableau 1: liste des molécules ARV commercialisées [5].

Dénomination commune internationale (DCI)	Abréviation	Nom commercial	Autorisation de mise sur marché
Inhibiteurs Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse			
Zidovudine	AZT	Retrovir®	1987
Lamivudine	3TC	Epivir®	1996
Stavudine	D4T	Zerit®	1996
Didanosine	ddI	Videx®	1992
Abacavir	ABC	Ziagen®	1999
Emtricitabine	FTC	Emtriva®	2003
Inhibiteurs Nucléotidique de la Transcriptase inverse			
Tenofovir	TDF	Viread®	2002
Inhibiteurs non Nucléosidiques de la transcriptase inverse			
Nevirapine	NVP	Viramune®	1998
Effavirenz	EFV	Sustiva®	1999
Etravirine	ETR	Entelence®	2008
RILPIRIVINE	RPV	Tibotec®	2008
Combinaison d'inhibiteurs de la Transcriptase Inverse			
Zidovudine/Lamivudine	AZT/3TC	Combivir®	1998
Tenofovir/Emtricitabine	TDF/FTC	Truvada®	2005
Abacavir/Lamivudine	ABC/3TC	Kivexa®	2004
Zidovudine/ Emtricitabine/ Abacavir	AZT/3TC/ABC	Trivizir®	2000
Tenofovir/Emtricitabine/ Effavirenz	TDF/FTC/ EFV	Atripla®	2007
Stavudine/Lamivudine/ Nevirapine	d4T/3TC/ NVP	Triomune®	2001
Inhibiteurs de Protéase			
Indinavir	IDV	Crixivan®	1996
Ritonavir	RTV	Norvir®	1996
Saquinavir	SQN	Invirase®	1996
Nelfinavir	NFV	Viracept®	1998
Foasamprénavir	Fos APV	Telzir®	2004
Atazanavir	ATV	reyataz®	2004
Lopinavir/ritonavir	LPV/r	Kaletra®	2001
Tipranavir	TPV	Aptuvus®	2005
Darunavir	DRV	Presista®	2008
Inhibiteurs d'entrée			
Enfuvirtide	T20	Fuzeon®	2003
Maraviroc	MRV	Celsentri®	2008
Inhibiteurs d'intégrase			
Raltégravir	RGV	Isentress®	2008
ELVITEGARAVIR	EVG	Vitekta®	2008
DOLUTEGRAVIR	DTG	Tivicay®	2013

5.2 Schémas thérapeutiques. [2]

Le traitement antirétroviral est, indiqué dès la découverte du statut VIH+. Toutefois, la priorité sera accordée aux patients :

- symptomatiques¹ ;
- ayant un taux de CD4 inférieur ou égal à 500 cellules par millimètre cube.

Est considéré comme schéma de première ligne tout schéma de première intention prescrit chez un sujet naïf de tout traitement antirétroviral. Toute substitution en cas d'intolérance par exemple est aussi considérée comme un schéma alternatif de première ligne.

Est considéré comme schéma de deuxième ligne tout schéma prescrit après **échec thérapeutique de 1^{ère} ligne**.

SCHÉMAS DE PREMIÈRE LIGNE POUR LE VIH1

Ils associent deux inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse (**INTI**) et un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (**INNTI**) de façon préférentielle.

Le régime préférentiel en première intention est le suivant :

Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)₄₀₀

NB : le traitement avec l'EFV 600 sera poursuivi jusqu'à acquisition de l'EFV 400.

Les Schémas alternatifs suivants sont possibles :

Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)

Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)

Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)

TABLEAU 2 : TOXICITE DES ANTIRETROVIRAUX DE PREMIERE LIGNE ET SUBSTITUTIONS RECOMMANDEES.

ARV 1ère ligne	TOXICITE LA PLUS FREQUENTE	CHANGEMENT
AZT	Anémie sévère ou neutropénie < 500/mm ³	TDF
	Intolérance gastro-intestinale sévère	
	Acidose lactique	
TDF	Toxicité rénale	AZT
EFV	Toxicité du système nerveux central persistante et sévère	NVP ou TDF
NVP	Hépatite	EFV ou TDF
	Réaction d'hypersensibilité	TDF
	Rash sévère ou mettant la vie en danger (syndrome de Stevens-Johnson et Lyell)	

Remarques :

- Ne pas utiliser le Tenofovir (TDF) en cas d'insuffisance rénale (IR) ;
- En cas de troubles de la fonction rénale sans anémie, donner: AZT/3TC+EFV
- En cas de troubles de la fonction rénale irréversible avec ou sans anémie, donner : ABC + 3TC + EFV. *Ce schéma doit être commandé en molécules séparées.*
- En cas de troubles neuropsychiatriques graves (hallucination et psychose) imputables à l'Efavirenz 600, cette molécule est remplacée par la Névirapine ou l'Efavirenz 400 si disponible ;
- En cas de toxicité du système nerveux central persistante et sévère liée à l'EFV avec des troubles de la fonction rénale et sans anémie, donner : AZT/3TC+NVP
- En cas de contre-indications à l'EFV, donner : TDF/3TC+NVP
- La Névirapine (NVP) doit être administrée à demi-dose (200 mg/jour) pendant les 14 premiers jours de traitement puis en pleine dose (200 mg x 2/jour) par la suite ;
- En cas d'arrêt de la Névirapine pour une durée excédant 7 jours, sa réintroduction doit toujours se faire à dose progressive ;
- Si un traitement contenant un INNTI (longue demi-vie) doit être arrêté, les deux INTI doivent être poursuivis pendant 15 jours;
- En cas de toxicité hépatique ou dermatologique imputable à la Névirapine, cette molécule est remplacée par l'Efavirenz (surveillance régulière) ;

En cas d'anémie imputable à la zidovudine, cette molécule est remplacée par le Tenofovir (TDF) en tenant compte de leur compatibilité

SCHEMA DE PREMIERE LIGNE POUR LE VIH-2 OU CO-INFECTION VIH-1+VIH-2 OU VIH-1 DU GROUPE O

Le choix thérapeutique exclu les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse qui ne sont pas efficaces sur le VIH-2 ou sur VIH-1 de groupe O.

On utilisera les schémas thérapeutiques associant des inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse à un inhibiteur de protéase boosté (IP/r) ou 3 INTI.

Le traitement préférentiel de première ligne est le suivant:

Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Lopinavir / Ritonavir (LPV/r)

Les alternatives thérapeutiques en cas de toxicité, d'intolérance ou d'interaction médicamenteuse sont les suivantes:

Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Atazanavir/Ritonavir (ATV/r)

Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Abacavir (ABC)

Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Atazanavir/Ritonavir (ATV/r)

TRAITEMENT DE DEUXIEME LIGNE

Il est indiqué chez un patient en échec thérapeutique documenté (Cf. chapitre échec thérapeutique). Chez un patient en échec thérapeutique, il est recommandé de renforcer l'observance avant d'envisager tout changement de ligne thérapeutique.

Gestion de l'échec de 1ère ligne chez l'adulte :

Si la CV plasmatique est ≥ 1000 copies/ml,

- vérifier et renforcer l'observance ;
- contrôler la CV trois mois plus tard.

Si la charge virale revient inférieure à 1000 copies/ml, maintenir le traitement de 1ère ligne.

Si la charge virale reste supérieure à 1000 copies/ml, modifier le traitement dès que possible et passer en 2ème ligne.

NB : Si la CV plasmatique est comprise entre 50 et 1000 copies/ml (Blips*, cas de charge virale faible) :

- vérifier et renforcer l'observance ;
- contrôler la CV trois mois plus tard.

Si la charge virale reste inférieure à 1000 copies/ml, maintenir le traitement de 1^{ère} ligne.

Schémas proposés

Le schéma de 2^{ème} ligne doit inclure au moins 2 nouvelles molécules dont l'une issue d'une famille différente des familles utilisées en première ligne. La lamivudine (3TC) doit être toujours maintenue en 2^{ème} ligne.

En cas d'échec thérapeutique confirmé VIH 1 et 2 de la 1^{ère} ligne, le schéma préférentiel de deuxième ligne suivant est recommandé:

2 inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques + 1 inhibiteur de protéase boosté

Les IP préférentiels sont : Lopinavir/ritonavir (LPV/r), Atazanavir/ritonavir (ATV/r)

TABLEAU 3 : Les alternatives de seconde ligne possibles en fonction des schémas utilisés en première ligne et en cas de contre-indication ou de toxicité de l'une des molécules du schéma préférentiel.

Schéma 1 ^{ère} ligne	Schéma 2 ^{ème} ligne	
	INTI	IP
Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)	Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC)	LPV/r ou ATV/r ou DRV/r
Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)	Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC)	
Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)	Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC)	
Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)	Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC)	

TRAITEMENT DE TROISEME LIGNE

Gestion des échecs de 2^{ème} ligne chez l'adulte

Si la CV plasmatique est ≥ 1000 copies/ml,

- Vérifier et renforcer l'observance
- Contrôler la CV trois mois plus tard.

Si la charge virale revient inférieure à 1000 copies/ml, maintenir le traitement de 2^{ème} ligne.

Si la CV plasmatique est supérieure ou égale à 1000 copies/ml, modifier le traitement dès que possible en tenant compte du résultat du test de résistance :

- En cas d'absence de mutations de résistance : maintenir le schéma et renforcer l'observance au traitement
- En cas de présence de mutations de résistance : le dossier est discuté en réunion du comité scientifique qui décide de la mise sous traitement ARV de 3^{ème} ligne ; l'observance doit toujours être renforcée ;
- La prescription et la dispensation des ARV de 3^{ème} ligne chez les adultes et les adolescents se feront au niveau des CHU (Gabriel Touré et Point G) et le CESAC Bamako.

NB : Si la CV plasmatique est comprise entre 50 et 1000 copies/ml (Blips : *cv transitoire ne dépassant pas une à deux semaines, cas de charge virale faible*) :

- Vérifier et renforcer l'observance
- Contrôler la CV trois mois plus tard.

Si la charge virale reste inférieure à 1000 copies/ml, maintenir le traitement de 2^{ème} ligne.

Objectif du nouveau traitement : réduction de la CV d'au moins 2log* à trois mois et indétectabilité à six mois.

- Utiliser 2 ou 3 molécules actives au sein de la nouvelle combinaison (y compris des molécules appartenant à des classes déjà utilisées)
- Toute combinaison doit comprendre au moins une molécule complètement active plus une nouvelle molécule comme le Darunavir/ritonavir (DRV/r), le Raltégravir (RAL) ou le Dolutégravir (DTG) en fonction du résultat du test de résistance.
- Différer le changement si 2 molécules sont actives au vue du résultat du test de résistance sauf chez les patients très immunodéprimés et ceux ayant un risque élevé de dégradation clinique et/ou immunologique.
- Si les options thérapeutiques sont limitées demander une utilisation compassionnelle des nouvelles molécules et la participation des essais cliniques sur des nouvelles molécules.

Les patients en échec de seconde ligne sans nouvelles molécules doivent continuer avec une combinaison bien tolérée.

Schémas de 3^e ligne :

Les patients en échec virologique de 2^e ligne doivent être gérés en fonction du résultat du test de génotypage de résistance

DRV/r + DTG (or RAL) ± 1-2 NRTIs

DRV/r + 2 NRTIs ± NNRTI

2 ^{ème} ligne	3 ^{ème} ligne
Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC) + LPV/r <u>ou</u> ATV/r	DRV/r + DTG (ou RAL) ± 1-2 INTI ou Abacavir+Lamivudine
Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + LPV/r <u>ou</u> ATV/r	
Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC) <u>ou</u> Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + DRV/r	Optimiser le traitement en fonction du profil génotypique

CAS DES PATIENTS AYANT DEJA REÇU UN TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL

▪ **Patients ayant interrompu leur traitement antirétroviral de 1^{ère} ligne**

Certains patients qui ont déjà reçu un traitement ARV de 1^{ère} ligne dans le passé mais l'ont interrompu peuvent se présenter dans les structures de santé.

Le patient poursuivra son ancien traitement et un bilan (histoire thérapeutique, clinique, CD4, charge virale) sera demandé. Son traitement sera adapté en fonction des résultats de son bilan.

▪ **Patients ayant interrompu leur traitement antirétroviral de 2^{ème} ligne**

Certains patients qui ont déjà reçu un traitement ARV de 2^{ème} ligne dans le passé mais l'ont interrompu peuvent se présenter dans les structures de santé.

Le patient poursuivra son ancien traitement et un bilan (histoire thérapeutique, clinique, CD4, charge virale) sera demandé. Son traitement sera adapté en fonction des résultats de son bilan.

▪ **Patients déjà sous traitement avec d'autres Schémas ARV (patients venant d'autres pays)**

Les patients observant et traités efficacement par un schéma thérapeutique différent des schémas préférentiels actuels seront maintenus sous cette ligne thérapeutique ou adaptés en tenant compte de la disponibilité des ARV.

6. Echec thérapeutique [2]

L'échec thérapeutique regroupe différentes situations

6.1 Echec clinique

La survenue ou récurrence d'une affection témoin d'une immunodépression sévère après 6 mois de traitement bien conduit.

Chez les patients sévèrement immunodéprimés, l'apparition de nouveaux signes au cours des 3 premiers mois de traitement ARV ne signifie pas obligatoirement un échec clinique. Il peut en effet s'agir d'un syndrome de restauration immunitaire (cf. annexes), qui doit être traité pour lui-même sans modification des ARV. La décision de changer de traitement devra donc également tenir compte de l'évolution immunologique (TCD4) et, virologique (CV).

6.2 Echec immunologique

- **Chez les adultes et les adolescents, CD4 inférieurs à 250 après un échec clinique documenté ou CD4 en dessous de 100 après 6 mois de traitement bien conduit ;**
- **Retour du nombre de lymphocytes TCD4 au niveau ou sous le niveau pré thérapeutique, en l'absence de la survenue d'une infection concomitante pouvant expliquer cette baisse ;**
- **Baisse de plus de 50% du nombre de lymphocytes TCD4 par rapport au pic atteint sous traitement en l'absence de survenue d'une infection concomitante pouvant expliquer cette baisse.**

Remarque :

Si le patient est asymptomatique et que l'échec n'est évoqué que sur des critères immunologiques, une confirmation par un deuxième dosage des lymphocytes TCD4 est immédiatement indiquée.

Si le taux de lymphocytes TCD4 reste bas après deux dosages consécutifs, il faut considérer qu'il s'agit d'un échec immunologique.

6.3 Echec Virologique

L'échec virologique constitue la situation la plus fréquemment rencontrée. Il est Stricto Sensu défini comme toute valeur détectable de la charge virale plasmatique c'est-à-dire juste au dessus du seuil de détection. Actuellement 50 copie/mL est le plus souvent utilisé et constitue l'objectif à atteindre pour toute intervention thérapeutique quelle que soit la situation thérapeutique : traitement initial ou traitement de ligne ultérieure.

Charge virale supérieure ou égale à 1000 copies sur la base de 2 charges virales consécutives à 3 mois d'intervalle, après 6 mois de traitement bien conduit.

Il faut différencier l'échec virologique du "rebond virologique" qui est défini comme une charge virale détectable après une d'indétectabilité (au moins 2 points consécutifs) ;

Celui-ci doit être distingué d'un « blip » de la charge virale (détection d'une charge virale plasmatique isolée comprise entre 50 et 1000 copies/mL sur un prélèvement avec un point suivant de charge virale, réalisé au plus tard un mois après, <50 copies/mL). [2]

En règle générale, l'échec virologique résulte d'une inhibition suboptimale de la réplication virale, conséquence d'une puissance insuffisante de traitement. Celle-ci peut être due :

- A une concentration de molécule antirétrovirale insuffisante, résultant soit d'un défaut d'observance, soit de posologies inadaptées, soit d'interaction médicamenteuses néfastes,
- Au développement de la résistance vis-à-vis d'une ou de plusieurs molécules antirétrovirale.

6.4 Observance

Compte tenu de la puissance antirétrovirale des traitements actuellement utilisés en initiation, l'absence de réduction de la charge virale d'au moins 1log10, 1 mois après l'initiation du traitement, ou une charge virale toujours > 200 copies/mL à 6 mois rendent presque toujours compte d'une observance médiocre au traitement. [2]

7. La Charge Virale Plasmatique

7.1 Introduction

- standard en matière de suivi des patients VIH+ sous traitement antirétroviral
- Associée à la mesure des CD4, la CV constitue aujourd'hui un véritable «étalon or» en matière de suivi des patients.
- Evaluation biologique succès thérapeutique
- Evaluation indirecte observance
=> Maintien Traitement de première ligne,
- Diagnostic direct du succès ou de l'échec virologique
- Indicateur irremplaçable pour mesurer l'efficacité des traitements

→ Moins de changements de traitements inappropriés.

7.2 Techniques de charge virale [6]

- Méthodes de quantification de l'ARN

- Trop peu d'ARN VIH dans le plasma pour être détectés directement
- Nécessité d'une amplification
 - Techniques basées sur les acides nucléiques
 - ARN-ADN et amplification de l'ADN: RT PCR
 - ARN-AND-ARN-ADN... : NASBA (nucleic acid sequence based amplification)
 - Signal de détection des acides nucléiques
 - Autres techniques

Techniques de détection des acides nucléiques

- 3 étapes :
 - (1) une étape de préparation de l'échantillon ou d'extraction des acides nucléiques qui intègre la lyse des particules virales et qui peut être précédée ou non d'une concentration par centrifugation,
 - (2) une étape d'amplification
 - du signal d'hybridation (VERSANT™ HIV-1 3.0 de Siemens)
 - d'amplification d'un gène cible par PCR après une réaction de transcription inverse de l'ARN viral en ADNc (RT-PCR des techniques de Roche, Abbott et QIAGEN)
 - ou suite à une amplification isothermique de l'ARN par la technologie NASBA des laboratoires Biomérieux
 - (3) une étape de détection et/ou quantification des produits amplifiés ou du signal d'hybridation qui peut être réalisée par colorimétrie ou une mesure d'intensité de fluorescence grâce à l'utilisation de sondes marquées.

Cette mesure de fluorescence peut être effectuée à la fin à l'aide de la réaction d'amplification « en point final » ou alors au fur et à mesure de l'amplification réalisant une amplification/détection « en temps réel » en une seule étape

Principes de quantification de la charge virale

- **Standard interne**
 - Virus ou ARN de concentration connue ajouté au plasma du patient
 - Extraction et amplification simultanées dans le même tube.
 - **Intérêt** : contrôle de l'extraction et de l'absence d'inhibiteurs de PCR
 - **Calcul simple selon règle de 3 :**
 - Quantité A connue de standard → mesure C1
 - Quantité B à définir ??? → mesure C2**
 - $Y = \text{Quantité A} \times C2/C1$**

- **Standard externe**
 - Virus ou ARN de concentration connue
 - Testé séparément comme s'il s'agissait du plasma d'un patient

La quantification est faite en comparant les signaux obtenus pour le VIH du patient et le standard.

Techniques disponibles

Tableau 4: Trousse de mesure en temps réel de la charge virale [11].

Trousse	Abbott Real Time HIV-1 Quantitative assay	Cobas Taqman HIV-1	NucliSens EasyQ HIV-1	GENERIC HIV charge virale	Versant HIV RNA assay
Laboratoire	Abbott	Roche	BioMérieux	ARNS commercialisation par la société Biocentric	Siemens
Principe	RT-PCR en temps réel (Amplification génique)	RT-PCR en temps réel (Amplification génique)	Real Time NASBA (Amplification génique)	RT-PCR en temps réel	Hybridation amplifiée ADN branché
Détection	Sonde partiellement double brin fluorescente	Cobas Taqman 48	Molecular Beacon fluorescence	Taqman fluorescence	Chémiluminescence
Quantification	Standard externe	Standard interne	Standard interne	Standard externe	
Cible	Pol	Gag/LTR	Gag	LTR	Pol
Sous types du VIH-1	M(A à G)+N+O	M(A à G)	M détection possible du VIH-2 (publication)	M(A à G)	M et O(mais ne quantifie pas O)
Réactifs	Stockage à +4-8°C contrôle à -20°C	Stockage à +4-8°C contrôle à -4 à -8°C	Stockage à +2-8°C contrôle à -4°C	Stockage à +4-8°C contrôle à -20°C	Stockage à +4°C contrôle à -80°C
Extraction	Extraction manuelle ou sur automate Abbott m2000sp	Extraction sur automates Cobas Ampliprep	Extraction sur automates mini Mag ou NucliSens assay	Extraction manuelle	Concentration par centrifugation et pas d'extraction
Durée résultat	5,5h	4-5h	4-5h	4-6h	23h (temps techniques :4h, incubation :16h depuis 2006 , Système V440, temps technique <1h)
Linéarité	40 à 10.000.000 copies/ml	40 à 10.000.000 copies/ml	100 à 3.000.000 copies/ml		
FDA	Oui	Oui	Non	Non	Oui
CE IVD	Oui	Oui	Oui	Non	Oui

- **Technique Abbott HIV-1 [11]**

Principe

La RT-PCR en temps réel sur Abbott HIV-1 RealTime Quantitative assay est un test d'amplification de signal de l'ARN cible converti en ADNc grâce à l'activité de transcription inverse de la polymérase thermostable rTth ADN pour la quantification directe de l'ARN VIH-1 dans le plasma ou autres liquides biologiques des individus infectés. En premier lieu les amorces ou primers de transcription inverse du VIH-1 et du contrôle interne s'hybrident avec leurs cibles respectives et s'étendent au cours d'une période d'incubation prolongée. Ces deux primers sont non compétitives, et le CI (contrôle interne) est détecté même à des niveaux élevés de VIH. La cible de l'amorce VIH-1 est le gène de l'intégrase dans la région pol.

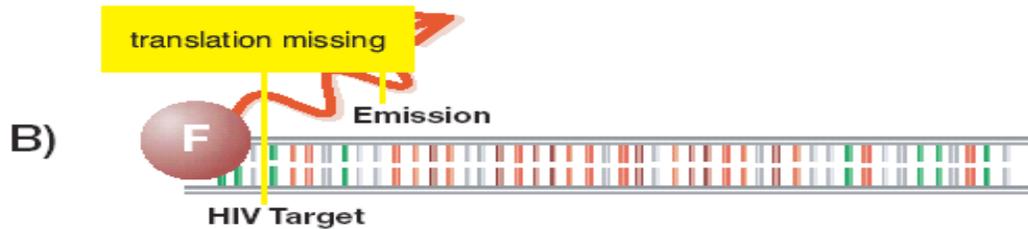
- Après l'étape de dénaturation, au cours de laquelle la température de la réaction s'élève au dessus du point de fusion du produit ADNc double brin : ARN, une deuxième amorce s'hybride avec le brin de l'ADNc et s'étend sous l'activité de la polymérase de l'ADN de l'enzyme rTth afin de créer un produit d'ADN à double brin.
- L'amplification exponentielle du produit est réalisée grâce aux cycles répétés entre température élevées et basses du thermocycleur pour obtenir une amplification des séquences cibles d'un milliard ou plus.
- La technologie Abbott RealTime HIV-1 utilise deux sondes d'hybridation, une spécifique au VIH et l'autre spécifique au CI (contrôle interne). Les deux sont marquées par différent fluorophore à l'extrémité 5' et un Quencher à l'extrémité 3' et permettent de détecter le produit amplifié à chaque cycle. En absence de cible, l'énergie du fluorophore excité est absorbée par le Quencher, ce qui empêche la génération du signal fluorescent.
- En présence de cible, la sonde s'hybride à sa séquence complémentaire, séparant du Quencher permettant ainsi la détection de la fluorescence.



Sonde partiellement double brin



En l'absence d'une séquence cible du VHC, l'énergie du Reporter est absorbée par le « Quencher » et il n'y a pas de signal fluorescent.



En présence d'une séquence cible du VIH-1, la sonde d'hybride de préférence avec la séquence cible, la dissociant du « Quencher » et permettant ainsi la détection de la fluorescence.

Figures 4: PCR en temps réel Abbott (m2000 rt)

- Résultats et interprétation

Le cycle de l'amplification au cours duquel le signal fluorescent est détecté par le m2000rt, est proportionnel au log de la concentration d'ARN VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. Le logiciel m2000 Software version 4.0 donne les résultats en copie/mL ou en log₁₀ (copies/mL).

✓ **L'extraction des ARN du VIH-1**

La préparation des échantillons a pour objectif d'extraire et isoler les molécules cibles d'ARN, afin de rendre les cibles accessibles pour l'amplification et éliminer tout inhibiteur potentiel de l'amplification de l'extrait.

L'Abbott mSample Preparation System utilise la technologie des particules magnétiques afin de capturer les acides nucléiques et lave les particules afin d'éliminer tout composant non lié de l'échantillon. Les acides nucléiques sont élués et transférés vers les tubes de sortie vers une plaque à 96 puits profonds. Les acides nucléiques sont alors prêts pour l'amplification. Le contrôle interne est soumis à l'intégralité de la procédure de préparation des échantillons avec calibrateurs, les contrôles, et les échantillons.

La méthode de préparation manuelle des échantillons mélange manuellement les réactifs d'amplification Abbott Real Time HIV-1 afin de créer le master mix d'amplification et transfère les aliquots de cette solution et éluats d'échantillons dans la plaque de réaction. Après mise en place manuelle du couvercle adhésif et de la centrifugation, la plaque est prête à être transférée sur l'Abbott m2000rt. Le temps moyen d'extraction, quel que soit le nombre d'échantillons (24 ou 48) était de 4 heures.

✓ **Amplification/détection**

Amplification

Au cours de la réaction d'amplification sur l'Abbott m2000rt, l'ARN cible est converti en cADN grâce à l'activité de la transcription inverse de la polymérase thermostable rTth ADN. En premier lieu, les amorces de transcription inverse de VIH-1 et du contrôle interne s'hybrident avec leurs cibles respectives et s'étendent au cours d'une période d'incubation prolongée. Suite à une étape de dénaturation, au cours de laquelle la température de la réaction s'élève au-dessus du point de fusion produit cADN double brin : ARN, une deuxième amorce s'hybride avec le brin de cADN et s'étend sous l'activité de polymérase de l'ADN l'enzyme rTth afin de créer un produit d'ADN à double brin.

Pendant chaque cycle de thermocyclage, les produits d'amplification se dissocient en brins simples sous l'effet de la température élevée, permettant à l'amorce de s'hybrider et s'étendre lorsque la température baisse. L'amplification exponentielle du produit est obtenue grâce au cycle répété entre températures élevées et basses, entraînant l'amplification au milliardième ou plus des séquences cibles. Les deux cibles (VIH-1 et le contrôle interne) sont amplifiées simultanément au cours de la même réaction.

La séquence cible du test Abbott Real Time VIH-1 se situe dans la région intégrase pol du génome VIH-1, une région hautement conservée.

Les amorces sont conçues pour s'hybrider avec la région pol tout en maintenant le nombre de mésappariement (mismatches) aussi faible que possible entre les différents sous-types.

La séquence cible du contrôle interne est dérivée du gène hydroxypyruvate réductase provenant de la citrouille, *Cucurbita pepo*. Il est présent dans une particule d'ARN encapsulé (Armored RNA®) diluée dans du plasma humain négatif.

Détection

Pendant les cycles de lecture sur l'Abbott m2000rt, la température est encore abaissée de manière à permettre la détection par fluorescence des produits d'amplification au cours de l'hybridation des sondes VIH-1 et du contrôle interne avec leurs cibles respectives (détection par fluorescence en temps réel). La sonde VIH-1 possède une fraction fluorescente liée de manière covalente à l'extrémité 5'.

Un oligonucléotide court (Quencher) est complémentaire à l'extrémité 5' de la sonde VIH-1 et possède une molécule de désactivation à son extrémité 3'. En absence de cible VIH-1, la fluorescence de la sonde VIH-1 est désactivée par hybridation au "Quencher". En présence d'une séquence cible VIH-1, la sonde VIH-1 s'hybride de préférence avec la séquence cible, la dissociant du "Quencher" et permettant ainsi la détection par fluorescence.

La sonde du contrôle interne est un oligonucléotide ADN simple brin comportant un fluorochrome à l'extrémité 5' et un "Quencher" à l'extrémité 3'. En absence de séquence cible du contrôle interne, la fluorescence des sondes est désactivée. Si les séquences cibles du contrôle interne sont présentes, l'hybridation des sondes avec des séquences complémentaires sépare le fluorochrome du Quencher et permet l'émission d'une fluorescence qui sera détectée.

Les sondes du VIH-1 et les sondes spécifiques du contrôle interne sont chacune marquées par un fluorochrome différent, ce qui permet de détecter simultanément les deux produits amplifiés lors de chaque cycle. Le cycle d'amplification au cours duquel le signal fluorescent est détecté par l'Abbott m2000rt est proportionnel au log de la concentration d'ARN VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine.

METHODOLOGIE

III. METHODOLOGIE

1. Cadre et Lieu d'étude

Notre étude a été réalisée dans le service de Laboratoire-Banque de sang de l'hôpital de Sikasso

Service laboratoire banque de sang

Bloc du laboratoire

Rez-de-chaussée

- 1 salle accueil-orientation ;
- 1 salle d'attente.
- 1 Bureau pour le Chef de service ;
- 1 Bureau pour le surveillant de service ;
- 1 salle de garde ;
- 1 salle d'examen d'urgence
- salles de prélèvement ;
- vestiaires ;
- 2 salles d'arrangements ;

A l'étage

- 2 salles de virologie;
- 1 salle pour la préparation des échantillons et l'amplification
- 1 salle pour l'amplification et la détection
- 2 salles de biochimie;
- 1 salle de bactériologie;
- 1 salle de parasitologie;
- 1 salle de sérologie ;
- 1 salle d'hématologie ;
- 1 salle de stérilisation ;
- 1 salle de stockage des produits ;

Bloc banque de sang

Rez-de-chaussée

- salle d'accueil-orientation ;
- 1 salle d'attente;
- 1 salle de donneurs ;
- 1 salle de stérilisation ;
- 1 salle de stockage des consommables.

A l'étage

- 1 salle d'analyse ;
- 1 chambre froide ;
- 1 bureau pour le biologiste ;
- 1 salle d'arrangement ;
- 1 aire de repos.

2. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude prospective descriptive de 12 mois allant de janvier à décembre 2016.

3. Population d'étude

Tous les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitement ARV ayant bénéficié d'une charge virale plasmatique dans notre laboratoire pendant la période d'étude. Les patients provenaient de tous les sites de prise en charge de la région de Sikasso (CERKES, Hôpital de Sikasso, USAC Koutiala, Cs réf Sikasso, le Cs réf Kigan)

4. Critères d'inclusion

Nous avons inclus tout patient adulte infecté VIH-1 sous ARV d'au moins un (1) an et ayant au préalable une charge virale plasmatique.

5. Critères de non inclusion

N'ont pas été inclus :

- Les patients VIH-2
- les patients ne répondant pas aux critères d'inclusion

6. Aspect d'éthique

L'anonymat et la confidentialité des dossiers ont été respectés.

7. Paramètres étudiés

Données sociodémographiques

- L'âge
- Le sexe

Donnée virologique

- La charge virale plasmatique

Donnée thérapeutique

- Le traitement antirétroviral

8. Technique utilisée

La charge virale a été effectuée sur ‘‘Abbott RealTime HIV-1 Quantitative assay’’ avec des kits prêt à l’emploi pour la technique de RT-PCR

8.1 Prélèvement

- Plasma: Tube EDTA
- 1 ml minimum
- Ne pas utiliser de plasma hépariné : inhibe la PCR

L'échantillon étiqueté de plasma est stocké à -80°C dans un congélateur avant analyse.

8.2 Organisation du local de la charge virale

La section virologique du Laboratoire de l'hôpital de Sikasso est subdivisée en zone. La zone 1 (préparation des réactifs), la zone 2 (préparation des échantillons) sont installées dans la même pièce, séparée de la zone 3 (amplification détection). Et une salle de conservation des produits moléculaires équipée d'un congélateur de -80°C.

8.3 Matériels et réactifs utilisés

❖ **PCR en temps réel Abbott (m2000 rt) m2000rt**

❖ **Coffret amplification**

- Réactifs d'activation Manganèse
- Amorces, Sondes et oligonucléotides
- Enzyme rTth Polymerase

❖ **Abbott RealTime HIV-1 Contrôle interne,**

- Non compétitif avec la PCR du test
- ARN encapsidé
- Ajouté lors de l'extraction pour chaque échantillon (contrôles et calibrateurs compris)
- Permet de vérifier la qualité de l'extraction
- Permet le contrôle de la présence d'inhibiteurs potentiels
- Pas utilisé pour la quantification

❖ **Contrôles**

- Abbott RealTime HIV-1/ Negative Control, Plasma humain négatif.
- Abbott RealTime HIV-1/Low Positive Control,
- Abbott RealTime HIV-1/ High Positive Control,

Inclus dans chaque série, ARN encapsidé, l'extraction dans les mêmes conditions que les échantillons.

Les contrôles sont indispensables à la VALIDATION DE LA SÉRIE

❖ **Calibrateurs**

- Calibrateur A, log 3, trois réplicats
- Calibrateur B, log 6, trois réplicats

ARN encapsidé, l'extraction dans les mêmes conditions que les échantillons et les contrôles.

Permettent l'étalonnage de la courbe de calibration

❖ **Kit d'extraction**

- mLysis (solution de lyse) (100 mmol/l de solution TRIS contenant du thiocyanate de guanidinium et détergent)
- mWash 1 (solution de lavage 1) (50 mmol/l de solution acétate contenant du thiocyanate de guanidinium et détergent)
- mWash 2 (solution de lavage 2) (eau sans nucléase)
- mElution Buffer (Tampon d'elution) (20 mmol/l de solution phosphate avec un conservateur)
- mMicroparticles (Microparticules) (1,5% de microparticules dans 50 MD 130A)

8.4 Technique Abbott HIV-1

Protocole de préparation manuelle des échantillons :

(Zone de préparation des échantillons)

1. Allumez les bains à sec chauffants
 - Réglez le bain des tubes de 12×75 mm à 50°C
 - Réglez le bain des tubes de 1,5 ml à 75°C
- 2a. Décongelez les échantillons à une température comprise entre 15 et 30°C
 - Passez au vortex 3 fois
 - les échantillons sont centrifugés à 2 000 × g pendant 5 minutes avant être analysés.
- 2b. Décongelez les calibrateurs et les contrôles
 - Mélangez le contenu des flacons en les passant au vortex
 - Tapotez les flacons afin d'en faire tomber le contenu au fond
 - Changez de gants
3. Etiquetez tous les tubes
Tubes requis pour l'échantillon :
 - Un tube en polypropylène de 12 × 75 mm
 - Deux tubes microfuges à bouchon à vis de 1,5 ml
4. Préparez les supports de capture magnétique
 - Le support rouge pour tubes de 75 mm
 - Le support bleu pour tubes de 1,5 ml
5. Décongelez le contrôle interne
 - Décongelez le contrôle interne à une température comprise entre 15 et 30°C
 - Mélangez le contenu des flacons en les passant au vortex
 - Tapotez les flacons afin d'en faire tomber le contenu au fond
6. Préparez le tampon mLysis
 - Vérifiez qu'il n'y a pas de cristaux. Si vous observez des cristaux, amenez la solution à température ambiante jusqu'à ce qu'ils disparaissent.
 - N'utilisez pas la solution avant la dissolution des cristaux
 - Ajoutez 500 µl de contrôle interne par flacon de tampon de lyse et mélangez doucement en retournant le flacon 5 à 10 fois. Evitez la formation de mousse !

REMARQUE : utilisez une pipette réservée au contrôle interne !

Changez de gants

7. Remettez les microparticules mMicroparticules en suspension
 - Secouez doucement d'avant en arrière jusqu'à ce que les particules soient en suspension !
Aucun culot ne doit plus être visible au fond du flacon !
Ne pas passer au vortex !
8. Préparez le tampon de lavage mWash 1
 - Mélangez en retournant doucement 5 à 10 fois
 - Vérifiez qu'il n'y a pas de cristaux. si vous observez des cristaux amenez la solution à la température ambiante jusqu'à ce qu'ils disparaissent.
 - N'utilisez pas la solution avant la dissolution des cristaux !
9. Préparez le tampon de lavage mWash 2
 - Mélangez en retournant doucement 5 à 10 fois
10. Préparez le tampon d'éluion mElution
 - Mélangez en retournant doucement 5 à 10 fois
 - Vérifiez qu'il n'y a pas de cristaux. si vous observez des cristaux amenez la solution à la température ambiante jusqu'à ce qu'ils disparaissent.
 - N'utilisez pas la solution avant la dissolution des cristaux !

LYSE

11. Ajoutez 100 µl de microparticules mMicroparticules à chaque tube de 12 × 75 mm à l'aide d'une pipette à répétition

REMARQUE : Travaillez aussi vite que possible afin d'éviter que les microparticules ne se déposent à l'intérieur de l'embout de pipette !

12. Mélangez le tampon de lyse mLysis
 - Retournez doucement 5 à 10 fois
13. Ajoutez 2,4 ml de tampon MLysis contenant du contrôle interne à chaque tube de lyse
 - Utilisez une pipette stérile jetable de 5 ml ou une pipette à répétition
Changez de gants
14. Transférez les échantillons (prélèvements, calibrateurs et contrôles) vers les tubes de lyse
REMARQUE : le volume d'échantillon est de 600µl
 - Utilisez des embouts de pipettes étendus munis de protection contre les aérosols.
 - Mélangez les échantillons avec du tampon de lyse par aspiration .Ne passez pas au vortex ! Evitez la formation de mousse !!
 - N'ouvrez qu'un tube à la fois
 - Changez les embouts après tout transfert de liquide
15. Placez les tubes de lyse dans le bain chauffant à 50°C
 - Incubez à 50°C pendant 20 minutes
 - Démarrez la minuterie lorsque vous avez placé le dernier tube dans l'incubateur
Changez de gants

16. Retirez les tubes du bain chauffant et placez-les dans le support de capture magnétique (rouge) pendant 2 minutes.
17. Retirez soigneusement le lysat de chaque tube à l'aide de pipettes pasteur stériles jetables
 - Essayez de retirer autant de fluide que possible
 - Ne dérangez pas les particules magnétiques capturées !
 - N'ouvrez qu'un tube à la fois
 - Utilisez une pipette pasteur neuve pour chaque tube
- Premier lavage 1 (wash 1)**
18. Transférez les tubes de 12 × 75 mm vers un support non-magnétique immédiatement après le retrait du tampon de lyse
 - Ajoutez 700 µl de mWash 1 dans chaque tube et remettez les particules magnétiques en suspension par aspiration
 - Rincez les particules des parois du tube, si nécessaire.
 - Evitez la formation de mousse !
 - Transférez le liquide de lavage et les particules dans un tube à vis de 1,5 ml étiquetéChangez de gants
19. Placez les tubes de 1,5 ml dans un support de capture magnétique (bleu) pendant 1 minute
20. Retirez avec soins la solution mWash 1 de chaque tube à l'aide d'embouts de pipettes étendus munis de protection contre les aérosols
 - Essayez de retirer autant de fluide que possible
 - Ne dérangez pas les particules magnétiques capturées !
 - N'ouvrez qu'un tube à la fois
 - Changez les embouts après tout transfert de liquide
- Second lavage 1 (Wash 1)**
21. Transférez les tubes de 1,5 ml vers un portoir non-magnétique
 - Ajoutez 700 µl de solution mWash 1 dans chaque tube et remettez les particules magnétiques en suspension par aspiration
 - Rincez les particules des parois du tube, si nécessaireEvitez la formation de mousse !!
22. Placez les tubes de 1,5 ml dans un support de capture magnétique (bleu) pendant 1 minute
23. Retirez la solution mWash 1 et jetez le liquide
 - Essayez de retirer autant de fluide que possibleNe dérangez pas les particules magnétiques capturées !
Changez de gants

Premier lavage 2 (Wash 2)

24. Transférez les tubes de 1,5 ml vers un portoir non-magnétique
 - Ajoutez 700 µl de solution mWash 2 et remettez les particules magnétiques en suspension par aspiration
 - Rincez les particules des parois du tube, si nécessaire.
Évitez la formation mousse !
25. Placez les tubes de 1,5 ml dans un support de capture magnétique (bleu) pendant 1 minute
26. Retirez la solution mWash 2 et jetez le liquide
 - Essayez de retirer autant de fluide que possible
Ne dérangez pas les particules magnétiques capturées !!
Changez de gants

Second lavage 2 (Wash 2)

27. Transférez les tubes de 1,5 ml vers un portoir non-magnétique
 - Ajoutez 700 µl de solution mWash 2 et remettez les particules magnétiques en suspension par aspiration
 - Rincez les particules des parois du tube, si nécessaire. Évitez la formation de mousse !
28. Placez les tubes de 1,5 ml dans un support de capture magnétique (bleu) pendant 1 minute
29. Retirez la solution mWash 2 et jetez le liquide
 - Essayez de retirer autant de liquide que possible
Ne dérangez pas les particules magnétiques capturées !

Elution

30. Transférez les tubes de 1,5 ml vers un portoir non-magnétique
 - Ajoutez 25 µl de tampon mElution et remettez les particules magnétiques en suspension par aspiration
 - Rincez les particules des parois du tube, si nécessaire
Évitez la formation de mousse !
31. Placez les tubes de lyse dans le bain chauffant à 75°C
 - Incubez à 75°C pendant 20 minutes
 - Démarrez la minuterie lorsque vous avez placé le dernier tube dans l'incubateur !
Changez de gants
32. Transférez les tubes de 1,5 ml vers un portoir non-magnétique
REMARQUE : Ne pas tourner les tubes à grande vitesse afin d'éviter l'apparition d'inhibiteurs !

- Ajoutez 63 µl de solution mWash 2 et remettez les particules magnétiques en suspension par aspiration
 - Rincez les des parois du tube, si nécessaire
Évitez la formation de mousse !
33. Placez les tubes de 1,5 ml dans un support de capture magnétique (bleu) pendant 1 minute
34. Retirez l'éluât et transférez –le dans un tube neuf de 1,5 ml sans RNAses ou dans un plateau de réaction en polypropylène à 96 puits
- Essayez de retirer autant de fluide que possible
Ne dérangez pas les particules magnétiques capturées !

Transférez vers la zone de préparation des réactifs

Le mélange du master mix d'amplification et des éluats d'échantillons dans la plaque de réaction optique à 96 puits Abbott (96-Well Optical Reaction Plate) doit être commencé dans l'heure suivant la fin de la préparation des échantillons.

Préparation du Master Mix :

(Zone de préparation des réactifs)

REMARQUE : Le m2000rt (zone d'amplification) doit être allumé et initialisé pendant au moins 15 minutes préalablement à l'amplification.

1. Décongelez le coffret-réactifs de dosage à une température comprise entre 15 et 30°C
 - Tapotez les flacons sur la paillasse afin d'en faire tomber le contenu au fond
2. Préparez le master mix en utilisant une pipette exclusivement réservée aux réactifs :
 - a. Ajoutez 271 µl du réactif d'activation VIH-1 (HIV-1 Activation Reagent) (réactif 1) dans le flacon d'enzyme ADN rTth polymérase thermostable (Thermostable rTth DNA Polymerase Enzyme) (réactif 3)
 - b. Ajoutez 949 µl réactif d'oligonucléotides VIH-1 (HIV-1 Oligonucleotide Reagent) (réactif 2) dans le flacon d'enzyme ADN rTth polymérase thermostable (Thermostable rTth DNA Polmerase Enzyme) (réactif 3)
3. Pipetez le master mix contenu dans le flacon d'enzyme dans tube à usage unique sans RNase/DNase et passez au vortex pour homogénéiser
Changez de gants
REMARQUE : Si vous effectuez de 25 à 48 réactions, préparez une seconde solution de master mix à l'aide d'un autre coffret-réactifs pour amplification et mélangez-la à la première solution de master mix dans un tube à usage unique sans RNase/DNase
REMARQUE : Le traitement par le m2000rt doit être initialisé dans les 40 minutes suivant l'addition du réactif d'activation dans le premier flacon d'enzyme rTth (flacon 3)
4. Préparez une plaque de réaction optique à 96 puits

- Placez une plaque de réaction optique à 96 puits Abbott dans un Stratacooler 96, en la conservant comme l'indique le Manuel Technique du Stratacooler 96,
REMARQUE : Ne touchez pas la surface ou le fond de la plaque réaction optique à 96 puits !

5a. Distribuez le master mix d'amplification

- A l'aide d'une pipette réservée à cet usage, distribuez des aliquots de 50 µl de master mix d'amplification dans la plaque à 96 puits
- Changez les embouts après tout transfert de liquide
- Vous pouvez également utiliser une pipette de répétition

5b. vérifiez le niveau de remplissage

- Vérifiez visuellement que 50 µl (et pas plus !) ont bien été distribués dans chaque puits
Changez de gants
Transférez la plaque à 96 puits placée sur le stratacooler 96 vers la zone de préparation des échantillons

Préparation de l'amplification :

(Zone de préparation des échantillons)

7a. addition de l'ARN

- Transférez 50 µl d'éluat d'échantillon vers la plaque à 96 puits placée sur le Stratacooler 96
- Homogénéisez le mélange réactionnel en aspirant et rejetant la solution 3 à 5 fois
- Utilisez un embout de pipette différent pour chaque transfert d'éluat d'échantillon !

7b. vérifiez le niveau de remplissage

- Vérifiez visuellement qu'un total de 100 µl (et pas plus) a bien été distribué dans chaque puits

8. Scellez la plaque à 96 puits

- Utilisez un couvercle adhésif optique Abbott m2000rt et fixez-le à l'aide de l'applicateur pour couvercles adhésifs optiques Abbott m2000rt

REMARQUE : Ne touchez pas la surface du couvercle. Manipulez-le uniquement en le tenant par les bandes perforées situées sur les bords !

9. Séparez les bandes situées sur les bords en utilisant la ligne perforée

- 10. Retirez la plaque à 96 puits du stratacooler 96 et placez-la sur la base de support anti-éclaboussures Abbott

REMARQUE : Ne transférez pas le Stratacooler vers la zone d'amplification !

Changez de gants

Transférez la plaque à 96 puits placée sur la base de support anti-éclaboussures vers la zone d'amplification

Démarrage de l'amplification et la détection :

(Zone d'amplification)

11. Centrifugez la plaque à 96 puits placée sur la base de support anti-éclaboussures pendant 5 minutes à 5000g

12a. Démarrez l'amplification et la détection

- Assurez-vous que l'appareil Abbott m2000rt est initialisé
 - Placez la plaque à 96 puits sur le m2000rt
- Changez de gants

12b. Démarrez l'amplification et la détection

- Dans l'écran de protocole, sélectionnez le fichier d'application approprié correspondant au paramètre et au volume devant être analysés
- Initialisez le protocole comme le décrit le Manuel Technique Abbott m2000rt au chapitre Mode opératoire

Maintenance post-analyse :

- Retirez la plaque PCR de l'appareil et jetez-la dans un sac en plastique hermétique avec les gants utilisés pour sa manipulation.
- Faites tremper la base du support anti-éclaboussures dans de l'hypochlorite de sodium à 0,1% pendant 10 minutes, rincez-la avec de l'eau purifiée et laissez-la sécher à l'air.
- Effectuez une vérification de la contamination du m2000rt.
- Nettoyez le bain et le support de plaque, si besoin est. Pour obtenir des instructions, consultez le Manuel Technique m2000rt.

Nettoyez les composants du stratacooler 96 avec de l'eau chaude et un détergent doux. N'utilisez pas de solvants alcoolisés (tels qu'acétone, alcool ou chloroforme)

8.5 Analyse des données

Nos données ont été saisies et analysées dans Microsoft Word, Excel et Epi info 7.

RESULTATS

IV. Résultats

Résultats globaux

Notre étude nous a permis d'inclure 319 patients dont les charges virales ont été effectuées au service Laboratoire de l'hôpital de Sikasso. Ces patients provenaient du CERKES, de l'USAC de Koutiala, du service de médecine de l'hôpital.

La tranche d'âge 30-44 ans était la plus représentée, les femmes étaient plus représentées avec 64,5 %. La majorité des patients étaient mariés, le protocole thérapeutique le plus utilisé était 2INTI + INNTI. Dans la population d'étude 80% résidaient à Sikasso. Le taux d'échec virologique était de 19%.

Tableau 1 : Répartitions des patients en fonction de l'âge

Age (Année)	Effectif	Pourcentage
≤ 29	58	18,2
30-44	162	50,8
≥45	99	31
Total	319	100

50,8% des patients avaient un âge compris entre 30 et 44 ans.

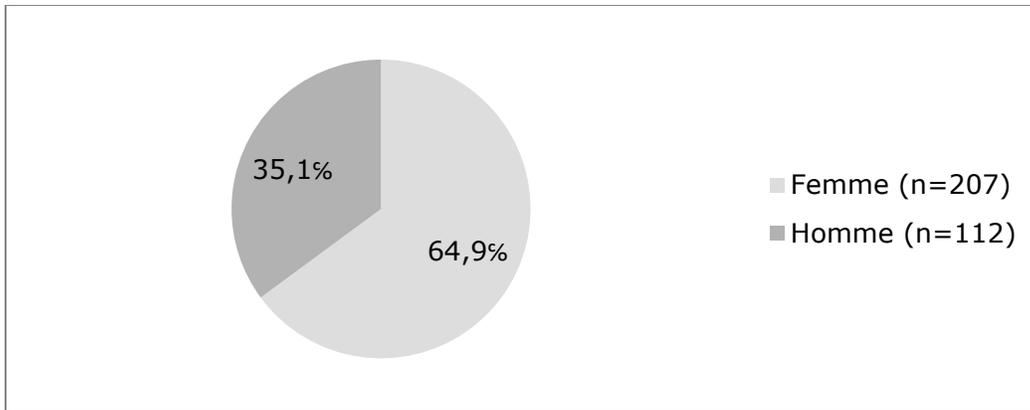


Figure 1 : Répartition des patients en fonction du sexe

Les femmes étaient majoritaires avec un sexe ratio de 0,54.

Tableau 2 : Répartition des patients en fonction du service demandeur.

Service	Effectif	Pourcentage
CERKES	148	46,4
Hôpital de Sikasso	106	33,3
USAC Koutiala	61	19,1
CS Réf Sikasso	3	0,9
CS Réf Kigan	1	0,3
Total	319	100

La majeure partie de nos patients provenait du CERKES soit 46,4% suivi de l'hôpital de Sikasso avec 33,3 %.

Tableau 3 : Répartition des patients en fonction de la profession

Profession	Effectif	Pourcentage
Ménagère	133	41,7
Commerçant	70	22
Chauffeur	39	12,2
Cultivateur	35	11
Salarié	26	8,1
Manœuvre	16	5
Total	319	100

La couche socio professionnelle la plus représentée était les ménagères avec 41,7% suivies des commerçants avec 22%.

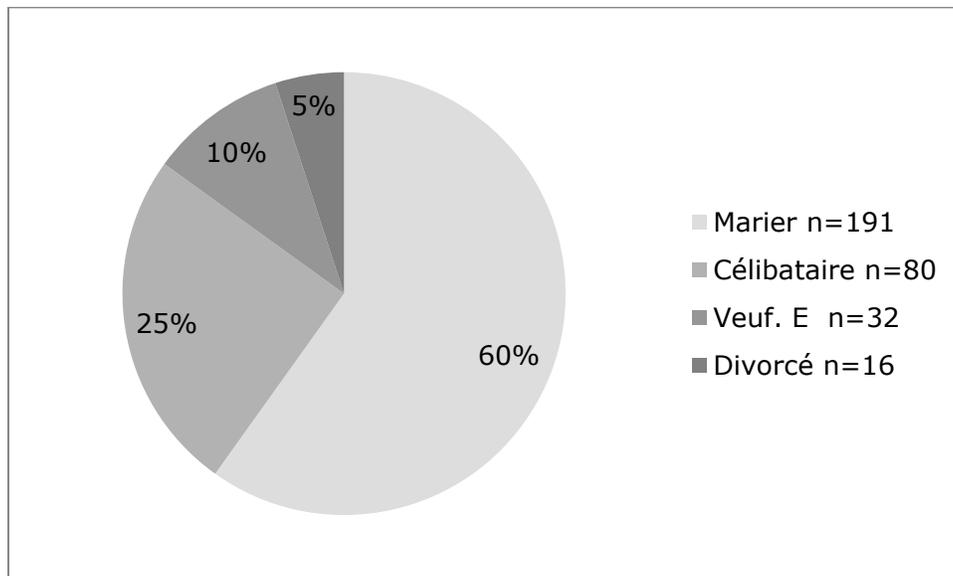


Figure 2 : Répartition des patients selon le statut matrimonial

Dans la population d'étude, 60% étaient mariés suivis des célibataires avec 25%

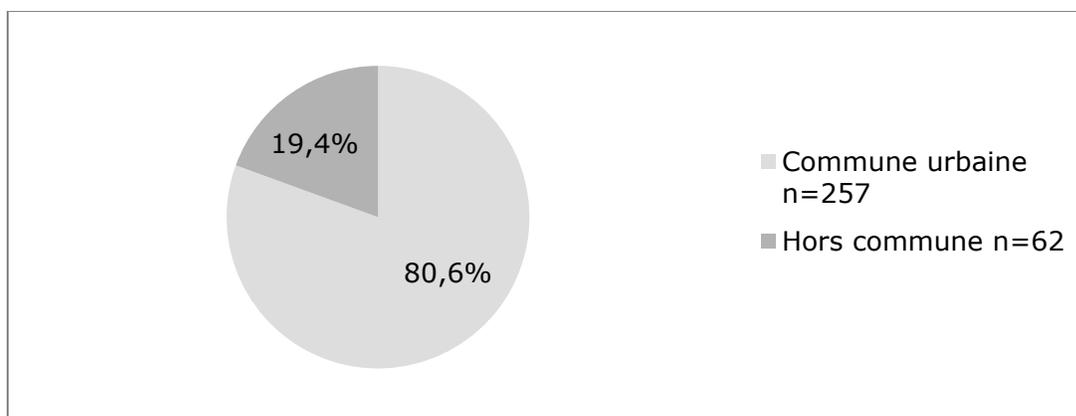


Figure 3 : Répartition des patients selon la résidence

Les patients résidant à Sikasso étaient plus représentés avec 80,6%

Le terme hors commune urbaine est utilisé pour les résidences hors de la ville de Sikasso.

Tableau 4 : Répartition des patients selon les lignes thérapeutiques

Traitement ARV	Effectif	Pourcentage
1ere ligne	301	94,4
Trioday (TDF + 3TC + EFV)	272	85,3
Duovir-N (AZT + 3TC + NVP)	29	9,1
2eme ligne	18	5,6
Tenolam + Kaletra (TDF + 3TC + LPV/r)	11	3,4
Duovir + Kaletra (AZT + 3TC + LPV/r)	7	2,2
Total	319	100

Le schéma comportant 2INTI + 1INNTI était le plus observé (94,4%) avec 85,3% sous Trioday (TDF + 3TC + EFV).

La combinaison de traitement antirétroviral contenant 2 INTI + 1 IP représentait 5,6%.

Tableau 5: Répartition des patients en fonction de la durée du traitement antirétroviral

Mois	Effectif	Pourcentage
12	54	17
24	82	25,7
36	75	23,5
>36	108	33,8
Total	319	100

33,8% des patients étaient à plus de 3 ans de traitement antirétroviral.

Tableau 6 : Répartition des patients en fonction de la charge virale plasmatique

CVp copies/ml	Effectif	Pourcentage
< 40	223	70
40-999	35	11
≥ 1000	61	19
Total	319	100

70% des patients avaient une charge virale plasmatique indétectable.

19% des patients étaient en échec virologique.

Tableau 7 : Répartition des charges virales plasmatiques en fonction de la durée du traitement antirétroviral

Mois	12		24		36		>36		Total
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	
CV copie/ml									Nbre
<40	31	57,4	61	74,4	63	84	68	63	223
40-999	8	14,8	5	6,1	3	4	19	17,6	35
≥ 1000	15	27,8	16	19,5	9	12	21	19,4	61
Total	54	100	82	100	75	100	108	100	320

L'échec virologique était estimé à 27,8% chez les patients ayant un (1) an de traitement et 19,5% à deux (2) ans de traitement antirétroviral.

A 3 ans le taux d'échec virologique était de 12% et 19,4% après trois (3) ans

Tableau 8 : Répartition des charges virales plasmatiques en fonction de l'âge

Age	≤ 29		30-44		≥ 45		Total
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	
CV copie/ml							Nbre
<40	37	63,8	113	69,8	73	73,7	223
40-999	7	12	17	10,5	11	11,1	35
≥1000	14	24,2	32	19,7	15	15,2	61
Total	58	100	162	100	99	100	320

24,2% des patients ayant un âge inférieur ou égale à 29 ans (≤ 29 ans) étaient en échec virologique.

19,7% des patients ayant un âge compris entre 30 et 44 ans étaient en échec virologique

15,2% des patient ayant un âge supérieur ou égale à 45 ans (≥ 45 ans) étaient en échec virologique

On constate une légère diminution de l'échec virologique avec l'augmentation de l'âge

Tableau 9 : Répartition des charges virales plasmatiques en fonction du sexe

Sexe	Masculin		Féminin		Total
	Nbre	%	Nbre	%	
CV copie/ml					Nbre
<40	76	67,9	147	71	223
40-999	13	11,6	22	10,6	35
≥1000	23	20,5	38	18,4	61
Total	112	100	207	100	320

20,5% des patients de sexe masculin étaient en échec virologique

18,5% des femmes étaient en échec virologique

Tableau 10 : Répartition des charges virales plasmatiques selon les lignes thérapeutique

Sexe	1 ^{ere} ligne		2 ^{eme} ligne		Total
	Nbre	%	Nbre	%	
CV copie/ml					Nbre
<40	210	69,8	13	72,2	223
40-999	32	10,6	3	16,7	35
≥1000	59	19,6	2	11,1	61
Total	301	100	18	100	320

Parmi les patients sous première ligne 19,6% étaient en échec virologique

Parmi les patients sous seconde ligne 11,1% étaient en échec virologique

Tableau 11 : Répartition des charges virales plasmatiques en fonction du traitement antirétroviral

Mois	Trioday		Duovir-N		Tenolam + Kaletra		Duovir + Kaletra		Total
	(TDF + 3TC + EFV)		(AZT + 3TC + NVP)		(TDF + 3TC + LPV/r)		(AZT + 3TC + LPV/r)		
	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre	%	Nbre
CV									
copie/ml									
<40	192	70,6	18	62	9	81,8	4	57,1	223
40-999	27	9,9	5	17,2	2	18,2	1	14,3	35
≥ 1000	53	19,5	6	20,7	00	00	2	28,7	61
Total	272	100	29	100	11	100	7	100	320

Parmi les patients sous Trioday 19,5% étaient en échec virologique.

Parmi les patients sous Duovir-N 20,7% étaient en échec virologique.

Sous Tenolam + Kaletra aucun échec virologique observé chez les patients.

Parmi les patients sous Duovir + Kaletra 28,7% étaient en échec virologique.

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

V. Commentaire et discussion

1. Données démographiques

Parmi les 319 patients inclus dans notre étude 18,2% avaient un âge inférieur ou égal à 29 (≤ 29 ans), 50,8% avaient un âge compris entre 30-44, et 31% avaient un âge supérieur ou égal à 45 ans (≥ 45 ans). Les femmes représentaient 64,9% de notre population d'étude. La thèse d'Aliou Baldé trouve une forte prévalence soit 68% des femmes dans leurs études sur les échecs virologiques des patients VIH-1 au centre CEREF0 au point G [11]. La couche socio professionnelle la plus représentée était les ménagères avec 41,7% suivies des commerçants avec 22%. Dans la population d'étude, 60% étaient mariés suivis des célibataires avec 25%. Les patients résidant à Sikasso étaient plus représentés avec 80,6% par rapport au résidant hors commune avec 19,4%.

2. Le traitement antirétroviral

Parmi les 319 patients 17% étaient à un an (1 an) de traitement antirétroviral ; 25,7% étaient à deux ans (2 ans) ; 23,5% étaient à trois ans (3 ans) de traitement antirétroviral et 33,8% étaient à plus de trois (3 ans) de traitement antirétroviral.

94,4% des 319 patients étaient sous première ligne le schéma comportant 2INTI + 1INNTI notamment Trioday (TDF + 3TC + EFV) largement majoritaire avec 85,3% suivi de Duovir-N (AZT + 3TC + NVP) avec 9,1%.

5,6% étaient sous deuxième ligne la combinaison de traitement antirétroviral comportant 2 INTI + 1 IP, Tenolam + Kaletra (TDF + 3TC + LPV/r) avec 3,4% et Duovir + Kaletra (AZT + 3TC + LPV/r) avec 2,2%

Ces schémas sont en accord avec les nouvelles normes et protocole nationale de prise en charge antirétrovirale du VIH et du SIDA au Mali juillet 2016. Le régime préférentiel en première intention sous première ligne étant Trioday (TDF + 3TC + EFV) ce qui explique cette forte prévalence.

3. La charge virale plasmatique

Parmi les 319 patients 70% avaient une charge virale plasmatique indétectable ;

11% avaient une charge virale comprise entre 40-999 et 19% étaient en échec virologique. Notre prévalence d'échec virologique était inférieure à celui de Gora et al. ont trouvé 56,2% d'indéfectabilité et un taux d'échec virologique de 31,2% dans une étude à Dakar sur l'efficacité virologique du traitement antirétroviral par la mesure de la charge virale [13].

Au Mali face à une charge virale comprise entre 50 et 1000 copies/ml (Blips* cas de charge virale faible) les normes et protocoles de prise en charge antirétrovirale du VIH et du SIDA juillet 2016 recommande de vérifier et de renforcer l'observance, de contrôler la charge virale trois mois plus tard, si la charge virale reste inférieure à 1000 copies/ml, maintenir le traitement.

Parmi les patients ayant un âge inférieur ou égale à 29 ans (≤ 29 ans) 63,8% des charges virales étaient indétectables, 12% avaient une charge virale comprise entre 40 -999, et 24,2% étaient en échec virologique.

Parmi les patients ayant un âge compris entre 30 et 44 ans 69,8% des charges virales étaient indétectables, 10,5% avaient une charge virale comprise entre 40 -999, et 19,7% étaient en échec virologique.

Parmi les patients ayant un âge supérieur ou égale à 45 ans (≥ 45 ans) 73,7% des charges virales étaient indétectables, 11,1% avaient une charge virale comprise entre 40 -999, et 15,2% étaient en échec virologique.

Parmi les hommes 67,9% des charges virales étaient indétectables, 11,6% avaient une charge virale comprise entre 40 -999, et 20,5% étaient en échec virologique.

Parmi les femmes 71% des charges virales étaient indétectables, 10,6% avaient une charge virale comprise entre 40 -999, et 18,4% étaient en échec virologique.

4. Charge virale et traitement antirétroviral

A un an (1an) de traitement antirétroviral 57,4% des charges virales étaient indétectable, 14,8% avaient une charge virale comprise entre 40-999, et 27,8% étaient en échec virologique. Ce résultat est légèrement inférieur à celui de Dagnra et al. Au Togo qui ont trouvé chez des patients d'un an de traitement ARV 30,8% d'échec virologique [14]

A deux ans (2 ans) de traitement antirétroviral 74,4% des charges virales étaient indétectable, 6,1% avaient une charge virale comprise entre 40-999, et 19,5% étaient en échec virologique. Péré et al. ont trouvé 28,5% d'échec virologique dans leur étude à Bangui au Centrafrique [15]. Leye et al. ont trouvé chez 197 patients à 24 mois de traitement à Dakar au Sénégal, 10,25% d'échec virologique, ce qui est largement inférieur au nôtre [16].

A trois ans (3 ans) de traitement antirétroviral 84% des charges virales étaient indétectable, 4% avaient une charge virale comprise entre 40-999, et 12% étaient en échec virologique. Ce résultat est inférieur à celui de la Thèse Baldé avec 33,3% d'échec virologique à trois ans de traitement antirétroviral [11].

A plus de trois ans (>3 ans) de traitement antirétroviral 63% des charges virales étaient indétectable, 17,6% avaient une charge virale comprise entre 40-999, et 19,4% étaient en échec virologique. Ce résultat est inférieur à celui de la Thèse Baldé avec 33,3% d'échec virologique à plus de trois ans de traitement antirétroviral [11].

Parmi les patients sous première ligne 19,6% étaient en échec virologique.

Le taux d'échec parmi les patients de deuxième ligne était de 11,1%.

Parmi les 272 patients sous Trioday (TDF + 3TC + EFV) 19,5% étaient en échec virologique.

Parmi les 29 patients sous Duovir-N (AZT + 3TC + NVP) 20,7% étaient en échec virologique.

Parmi les 11 patients sous Tenolam + Kaletra aucun échec virologique observé.

Parmi les 7 patients sous Duovir + Kaletra (AZT + 3TC + LPV/r) 28,7% étaient en échec virologique.

5. Limites de notre étude

L'un des facteurs ayant contribué à limiter la taille de notre échantillon sont la disponibilité des tests de charge virale. Dans notre étude, nous nous sommes basés seulement sur la mesure de la charge virale, sans mesurer l'observance au traitement antirétroviral chez nos patients qui, si elle n'est pas effective, pourrait signifier l'augmentation des charges virale dans certains cas.

CONCLUSION

Conclusion

Nous avons mené une étude sur 319 patients infectés par le VIH-1 ayant demandé un test de charge virale plasmatique après au moins un an de traitement et quel que soit le schéma thérapeutique (1^{ère} ligne ou 2^{ème} ligne). Ces patients provenaient essentiellement de cinq sites dans la région de Sikasso (le CERKES, l'hôpital de Sikasso, USAC Koutiala, CS réf de Sikasso, et le CS réf de Kigan).

La prévalence des échecs était de 27,8% à un an, 19,5% à deux ans, 12% à trois ans, et de 19,4% à plus de trois ans de traitement antirétroviral.

La fréquence de la charge virale indétectable était de 57,4% à un an, 74,4% à deux ans, 84% à trois ans, et de 63% à plus de trois ans.

Parmi les patients sous Trioday (TDF + 3TC + EFV) la prévalence de l'échec virologique était de 19,5%.

Chez les patients sous Duovir-N (AZT + 3TC + NVP) la prévalence de l'échec virologique était de 20,7%.

Aucun échec virologique n'a été observé chez les patients sous Tenolam + Kaletra (TDF + 3TC + LPV/r).

Parmi les patients sous Duovir + Kaletra (AZT + 3TC + LPV/r) la prévalence de l'échec virologique était de 28,7%.

La réalisation de test génotypique et de l'évaluation de l'observance décentralisés permettront d'améliorer nos connaissances sur les échecs virologiques et leurs causes au Mali.

RECOMMANDATIONS

Recommandations

Au terme de notre étude et au vu de nos résultats, nous formulons les recommandations suivantes :

Aux cliniciens

Organiser une meilleure gestion des patients en termes de suivi biologique

Au Ministère de la santé

- Rendre les moyens disponibles (ressources humaines, matérielles et financières) pour la continuité et la vulgarisation des tests de charge virale et également des tests de génotype de résistance
- Faciliter l'accès des tests de charge virale aux patients à l'inclusion et sous traitement antirétroviral comme se fait dans les pays développés pour prévenir les échecs virologiques,

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Cinquième enquête démographique et de santé au Mali 2012 (EDSV), CPS/MSHP.
2. Norme et protocole de prise en charge antirétrovirale du VIH et du SIDA au Mali. 2016.
3. ONUSIDA. RAPPORT ONUSIDA sur l'épidémie mondiale de SIDA. 2016. WWW.unaids.com.
4. Mellors JW, Rinaldo C, Gupta P et al. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996 , 272: 1167-70.
5. Barre-Sinoussi F, Chermann J. C. Rey F Nugeyre, M T Chamaret, S., Gruest, J., Dauguet, C. Axler-Blin , C., Vezinet-Brun, F Rizioux C. and other isolation of a T-Lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS) . *Science* 1983 ,
6. Huraux JM, Agut , H, Nicolas JC and Peigne–Lafeuille, H. , traité de virologie médicale Estem 2003.
7. Derache A. étude des bases moléculaires de la résistance du VIH-1 de sous type non B aux ARV. Thèse Doctorat (PhD) virologique. Université Pierre et Marie Curie 6. 2009
8. Barre-Sinoussi F, *Virologie Fondamentale de l'infection à VIH*. VIH2011. Doin 2011. Paris;
9. Maïga AI. Caractérisation des bases moléculaires de la résistance des Virus de l'ImmunoDéficience Humaine de type 1 (VIH-1) de sous-type non-B aux antirétroviraux. Thèse de Doctorat (PhD) virologie. Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, 2010.
10. Esther. Monitoring biologie de l'infection à VIH pour les pays à ressources limitées. Groupe de travail biologie, Novembre 2008. www.esther.fr
11. Thèse de Doctorat en pharmacie Aliou Baldé : Echecs virologiques des patients VIH-1 d'au moins un an de traitement antirétroviral au SEREFO, Mali
12. Congo M, Sangaré L, Idrissa G, Pierre I, et al. Comparaison des méthodes d'extraction Abbott et Nuclisens easyMag (Biomérieux) pour la quantification plasmatique du VIH-1. ICASA, Addis ABABA 2011, Abstract TUAA0205.

13. Lô G, Diawara PS, N'Dèye C, M'Boup S. Efficacité virologique du traitement antirétroviral dans un contexte de moyens limités, expérience d'un Hôpital décentralisé de Dakar : Hôpital militaire de Ouakam. ICASA, Addis ABABA 2011,Abstract WEPE002.
14. Dagnra AY, Vidal N, Mensah A, Patassi A, Aho K, Salou M, et al. High prevalence of HIV-1 drug resistance among patients on first-line antiretroviral treatment in Lome, Togo. *J Int AIDS Soc*,14:30.
15. Péré H,Charpentier C, Mbelesso P, Moussa S, Abraham B, Bélec L et al. Virological response and resistance profiles after 24 months of first line of antiretroviral treatment in adults living in Bangui, Central African Republic. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2011,27:221-230.
16. Leye N,N'Diaye O, N'diaye H, M'Boup S et al. Echec virologique et résistance du VIH-1 aux ARV après 12 et 24 mois de traitement de 1^{ère} ligne au Sénégal (Projet ANRS 12186). ICASA, Addis ABABA 2011,Abstract MOAB0103.

SERMENT DE GALIEN

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples.

D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur Enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec Conscience et de respect non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, la probité et du Désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers les Malades et de sa dignité humaine.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et Mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes Criminels.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidele à mes Promesses.

Que je sois couvert d'opprobres et méprisé de mes confrères si j'y manque.

Je le Jure !

ANNEXE

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom: KONATE

Prénom : Cheickna

Tel: + (223) 63 24 90 89 / 70 38 61 96 **Email:** cheicknako@outlook.fr

Titre de la thèse : Prévalence des échecs virologiques chez les patients adultes sous traitement ARV à l'hôpital de Sikasso

Nationalité: Maliénne

Année universitaire: 2017 –2018

Ville de soutenance : Bamako/Mali

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Secteur d'intérêt : Santé publique, Maladies infectieuses, Epidémiologie, Virologie.

RESUME

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est l'agent étiologique du Syndrome d'Immunodéficience Acquise (SIDA).

La charge virale permet d'estimer la réplication virale, à savoir le nombre de particules virales présent dans le plasma ou dans les liquides biologiques.

L'échec virologique est défini par la persistance d'une charge virale supérieure ou égale à 1000 copies sur la base de 2 charges virales consécutives à 3 mois d'intervalle, après 6 mois de traitement bien conduit.

Au Mali le taux de prévalence du VIH a baissé de 1,3% à 1,1% (EDSM, 2012-2013). Les femmes sont plus touchées que les hommes respectivement 1,3% et 0,8%.

La région de Sikasso réunit des facteurs favorables à la propagation et à la potentialisation de l'impact de l'épidémie

Après l'accès élargi aux antirétroviraux, il est donc important d'estimer la prévalence des échecs dans les protocoles thérapeutiques particulièrement à Sikasso. D'où l'intérêt de cette étude.

Notre étude a été réalisée dans le service de Laboratoire de l'hôpital de Sikasso.

Il s'agit d'une étude prospective descriptive de 12 mois allant de janvier à décembre 2016.

Etaient inclus dans notre étude tout patient adulte infecté VIH-1 sous ARV d'au moins un (1) an et ayant au préalable une charge virale plasmatique.

N'y ont pas été inclus les patients VIH-2, les patients ne répondant pas aux critères d'inclusion

Les charges virales ont été réalisées par RT-PCR en temps réel sur Abbott M2000rt avec un seuil de détection de 40 copies/ml.

L'anonymat et la confidentialité des dossiers utilisés ont été respectés.

Nous avons mené une étude sur 319 patients infectés par le VIH-1 ayant demandé un test de charge virale plasmatique après au moins un an de traitement et quel que soit le schéma thérapeutique (1^{ère} ligne ou 2^{ème} ligne). Ces patients provenaient essentiellement de cinq sites dans la région de Sikasso (le CERKES, l'hôpital de Sikasso, USAC Koutiala, CS réf de Sikasso, et le CS réf de Kigan).

La prévalence des échecs était de 27,8% à un an, 19,5% à deux ans, 12% à trois ans, et de 19,4% à plus de trois ans de traitement antirétroviral.

La fréquence de la charge virale indétectable était de 57,4% à un an, 74,4% à deux ans, 84% à trois ans, et de 63% à plus de trois.

Parmi les patients sous Trioday (TDF + 3TC + EFV) la prévalence de l'échec virologique était de 19,5%.

Chez les patients sous Duovir-N (AZT + 3TC + NVP) la prévalence de l'échec virologique était de 20,7%.

Aucun échec virologique n'a été observé chez les patients sous Tenolam + Kaletra (TDF + 3TC + LPV/r).

Parmi les patients sous Duovir + Kaletra (AZT + 3TC + LPV/r) la prévalence de l'échec virologique était de 28,7%.

La réalisation de test génotypique et de l'évaluation de l'observance décentralisés permettront d'améliorer nos connaissances sur les échecs virologiques et leurs causes au Mali.

IDENTIFICATION SHEET

Last Name: KONATE

First name: Cheickna

Tel: + (223) 63 24 90 89/70 38 61 96

Email: cheicknako@outlook.fr

Title of the thesis: Prevalence of virological failures in adult patients receiving ARV treatment at Sikasso Hospital

Nationality: Malian

Academic year: 2017 -2018

City of defense of thesis : Bamako / Mali

Place of deposit: Library of the Faculty of Medicine, Pharmacy and Odonto-Stomatology

Focus Area: Public Health, Infectious Diseases, Epidemiology, Virology.

Summary

The Human Immunodeficiency Virus (HIV) is the etiological agent of Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS).

The viral load makes it possible to estimate the viral replication, ie the number of viral particles present in the plasma or in biological fluids.

Virologic failure is defined as the persistence of a viral load greater than or equal to 1000 copies based on 2 consecutive viral loads 3 months apart, after 6 months of well-conducted treatment.

In Mali, the HIV prevalence rate dropped from 1.3% to 1.1% (EDSM, 2012-2013).

Women are more affected than men respectively 1.3% and 0.8%.

The Sikasso region brings together factors favorable to the spread and potentiation of the impact of the epidemic

After expanded access to antiretrovirals, it is therefore important to estimate the prevalence of failures in therapeutic protocols especially in Sikasso. Hence the interest of this study.

Our study was conducted in the Laboratory Department of Sikasso Hospital.

This is a descriptive prospective study of 12 months from January to December 2016.

Included in our study were any adult HIV-1 infected patients on ARV who were at least one (1) year old and who had prior plasma viral load.

HIV-2 patients were not included, patients not meeting the inclusion criteria

The viral loads were carried out by RT-PCR in real time on Abbott M2000rt with a detection threshold of 40 copies / ml.

The anonymity and confidentiality of the files used have been respected.

We conducted a study of 319 HIV-1 infected patients who had requested a plasma viral load test after at least one year of treatment and some regimens (1st line or 2nd line).

These patients came mainly from five sites in the Sikasso area (CERKES, Sikasso Hospital, USAC Koutiala, CS ref Sikasso, and CS ref Kigan).

The prevalence of failure was 27.8% at one year, 19.5% at two years, 12% at three years, and 19.4% at more than three years of antiretroviral treatment.

The frequency of undetectable viral load was 57.4% at one year, 74.4% at two years, 84% at three years, and 63% at more than three.

Among the patients under Trioday (TDF + 3TC + EFV) the prevalence of virologic failure was 19.5%.

In patients taking Duovir-N (AZT + 3TC + NVP) the prevalence of virologic failure was 20.7%.

No virological failure has been observed in Tenolam + Kaletra patients (TDF + 3TC + LPV / r).

Among patients taking Duovir + Kaletra (AZT + 3TC + LPV / r) the prevalence of virologic failure was 28.7%.

The implementation of genotypic test and evaluation of decentralized observance will improve our knowledge on virological failures and their causes in Mali.