

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 DE BAMAKO

Année universitaire : 2017-2018

N°

Faculté de Pharmaci

THESE

EVOLUTION DE LA CHARGE VIRALE PLASMATIQUE CHEZ LES PV VIH 1 APRES 6 MOIS DE TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL A L'HOPITAL DE SIKASSO.

Présentée et soutenue publiquement le / ... /2018 devant la Faculté de
Médecine et d'Odontostomatologie

Par :

Mme SIDIBE Malado BOCOUM

Pour l'obtention du grade de Docteur en Pharmacie
(DIPLOME D'ÉTAT)

Jury

Président :

Pr. Daouda K MINTA

Membre :

Dr. Oumar KASSOGUE

Co-directeur de thèse : Dr. Almoustapha MAIGA

Directeur de thèse : Pr. Souleymane DIALLO

DEDICACES :

Je dédie ce travail à :

ALLAH

« Au nom de Dieu Le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux. Louange à Dieu, Seigneur de l'univers. Le Tout Miséricordieux, le Très Miséricordieux. Maître du Jour de la Rétribution.

C'est toi (seul) que nous adorons, et c'est toi (seul) dont nous implorons secours.

Que ta bénédiction soit sur notre prophète (PSL), sur ces compagnons et sur tous ceux qui le suivent sur le droit chemin.

J'ai eu la chance d'être soutenu après ce long cycle, tu t'es occupé de moi sans aucune condition.

Par tes plus beaux noms, je te demande de mettre de la sincérité dans ce travail et que tu m'en fasses bénéficier dans ce monde et dans l'au-delà.

C'est pourquoi je te dédie en premier lieu ce travail en guise de reconnaissance. Merci pour tout.

A Mon Père

Oumarou Bocoum

Ce travail est aussi le votre

Ma mère

Djeneba dite Nènè Koita

Attentive, modeste, généreuse, Maman par Amour pour nous, tu as enduré l'inacceptable, tu as sacrifié l'inséparable, tu as compris l'inimaginable, tu as incarné la sérénité là où le trouble régnait, tu as passé des nuits blanches à prier et nous bénir quand le repos était impérieux. Maman, par mon biais, tous tes enfants te disent merci en sachant que nous ne pourrons jamais assez te remercier. Aujourd'hui, Maman, nous souhaitons que tu sois comblée de joie.

Une bataille est gagnée certes, mais tes bénédictions sont encore indispensables pour gagner la lutte.

Que dieu te prête longue vie parmi nous dans la santé parfaite (Amine).

Je t'aime **MAMAN**.

TRES SENTIMENTALEMENT A Mon Mari: ALY SIDIBE

Par ALLAH :

- ✚ Nous nous sommes très sincèrement aimés
- ✚ Nous nous sommes acceptés
- ✚ Nous nous sommes réunis
- ✚ Nous formons une famille
- ✚ Nous surmonterons les obstacles ensemble
- ✚ Nous vivrons éternellement **l'AMOUR VRAI**
- ✚ Nous sommes unis pour le meilleur et le pire

Qu'**ALLAH** soit l'unique guide de notre union afin que nous jouissions de sa clémence, ses bénédictions et sa protection (AMINE).

Cette thèse est le fruit de vos efforts et c'est l'occasion pour moi de vous rappeler mes affections et toutes mes reconnaissances.

Je t'aime et je t'aimerai éternellement.

A Mes enfants ANA ; OUMOU ; Modibo ce travail est aussi le votre

A Dr Hammadoun Sangho

Dr, Je ne saurais vous remercier assez pour tout ce que vous avez fait pour moi.

J'espère que vous n'aurez pas à regretter un seul instant à travers mes conduites. Je prie le bon Dieu le Tout Puissant et Miséricordieux pour qu'il vous en récompense.

REMERCIEMENTS

Au personnel du service de laboratoire/banque de sang et proches,

Dr Kassogue, Dr Guindo et tous les personnels,

Une de vos qualités qui m'a beaucoup impressionné c'est votre unité.

Que Dieu le Tout Puissant vous protège et vous accorde une longue vie couronnée de santé et de bonheur.

Recevez tout mon respect et toute ma reconnaissance pour le soutien sans faille que vous m'avez accordé.

A Docteur Madou Traoré (service Médecine) ; Dr Seydina Diarra

Ce travail est aussi le vôtre.

Votre esprit de tolérance, de partage et votre grande qualité humaine font de vous une personne admirable.

Soyez rassurés de notre profonde gratitude de nous avoir accepté à vos côtés pour la réalisation de ce travail.

Que Dieu vous bénisse.

A mes oncles, tantes, cousins, cousines, de la famille KOITA

Bamako, Djénné,

Je ne citerai pas de nom sinon je risquerais de vexer même si c'est une personne, pour cela retrouvez toutes et tous mon affection et ma profonde reconnaissance pour votre soutien moral et financier. Que dieu unifie notre lien de parenté.

A mes oncles, tantes, cousins, cousines, de la famille BOCOUM

Sikasso, Bamako, Djénné,

Les mots me manquent pour exprimer ce que je ressens. Recevez ici ma Profonde reconnaissance . Qu'Allah le Tout Puissant vous accorde une longue vie.

Mention spéciale au membre de la Famille SIDIBE et AMIS,

Bassirou Sidibé, Yero Sidibé, Madou Diakité, Amadou Traoré, Chiaka Berthé,

Recevez mes reconnaissances les plus sincères.

A YACOUBA DENA,

Tu es plus qu'un ami, tu es un grand frère pour moi. Tu m'as soutenu tout le long de mon cycle universitaire et de ma thèse. Tu es la personne qui me rendait régulièrement visite étant au Point G, avec tes aides (financière et matériel).

Je t'en suis très reconnaissante. Que Dieu consolide notre parenté.

A la grande famille RASERE, Vous m'aviez accueilli comme une sœur, sachez que, je ne vous oublierai jamais, et recevez ma profonde gratitude.

Hommages AUX Membres DU JURY

A notre Maître et Président du Jury Professeur Daouda K MINTA

Chef de services des Maladies infectieuses au CHU Point-G

Président du Comité Scientifique de lutte contre le VIH SIDA au Mali

Chers Maître

Homme de sciences réputé et admiré par tous, nous avons été impressionnée par votre simplicité, votre grande disponibilité et votre amour du travail bien fait.

Nous avons suivi avec un grand intérêt vos enseignements de qualité et toujours d'actualités ;

Grande est notre fierté de compter parmi vos élèves.

Puisse Allah le Tout Miséricordieux vous rendre vos bienfaits et nous permettre de suivre vos pas.

A notre Maître et Juge

Dr Oumar KASSOGUE

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

Cher Maître,

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de juger ce travail malgré vos multiples occupations. Auprès de vous, nous avons appris la modestie, la patience, et l'amour de la recherche.

Nous avons été touchée par votre simplicité et vos qualités intellectuelles qui font de vous un bon maître. Nous gardons de vous l'image d'un homme de sciences rempli d'esprit de recherche.

Recevez ici l'expression de nos vifs remerciements et notre profond respect.

A notre maître et co-directeur

Docteur Almoustapha Issiaka MAIGA

- **Pharmacien et PhD en virologie à l'école doctorale Complexité du vivant (EdV) de l'Université Pierre et Marie Curie (UPMC), Paris 6 à Paris**
- **Responsable de l'unité d'épidémiologie moléculaire de la résistance du VIH aux ARV à SEREFO**
- **Chef de service du laboratoire d'analyses biomédicales du CHU Gabriel Touré.**
- **Chargé de recherche en virologique**

Cher Maître,

Vous nous faites un honneur en acceptant de codiriger cette thèse. Plus qu'initiateur de ce travail vous avez été pour nous un guide permanent. C'est le lieu pour nous de vous témoigner toute notre reconnaissance et notre profond respect. Nous avons été fascinée par vos immenses qualités d'homme de sciences.

Auprès de vous, nous avons appris la modestie, la patience, et l'amour de la recherche.

Votre contact facile et votre sympathie nous ont beaucoup marqué.

Cher Maître, nous sommes fiers de faire partie de vos élèves.

A notre Maître et Directeur de Thèse

Pr Souleymane DIALLO

- **Pharmacien Biologiste, Colonel des Force Armée du Mali.**
- **Maitre de conférences en Bactériologie à la Faculté de Pharmacie**
- **Ancien Directeur Général du centre d'infectiologie Charles Mérieux**

Chers 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.

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure morphologique du VIH-1

Figure 2 : Cycle de multiplication du VIH

Figure 3 : Courbe de température par cycle pendant la PCR

Figure 4 : Représentation schématique des trois (03) étapes de la PCR

Figure 5 : Amplification exponentiel : Nombre de copies par cycle pour 35 cycles

Figure 6 : Schémas de la capture et de l'élution de l'ARN

Figure 7 : Suivi en temps réel d'une réaction de PCR

Figure 8 : Les sondes d'hybridation Abbott RealTime HIV-1

Figure 9 : répartition des patients selon le sexe

Figure 10: répartition des patients selon le statut matrimonial

Figure 11 : répartition des patients selon la résidence

Figure 12 : répartition des patients selon la ligne de traitement ARV

Figure 13 : répartition des charges virales < 40 copies/mL en fonction du traitement à M6.

Figure 14 : répartition des charges virales < 40 copies/mL en fonction du traitement à M12

Figure 15 : répartition des charges virales >1000 copies/mL en fonction du traitement à M12

Figure 16 : répartition des charges virales < 40 copies/mL en fonction du traitement à M18

Figure 17 : répartition des charges virales < 40 copies/mL en fonction du traitement à M24

Figure 18 : répartition des charges virales < 40 copies/mL en fonction du traitement à M>24

Figure 19 : répartition des charges virales comprises entre 40-1000 copies/mL en fonction du traitement à M>24

Figure 20 : répartition des charges virales >1000 copies/mL en fonction du traitement à M>24

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Liste des molécules commercialisées

Tableau II: Les alternatives de seconde ligne possibles en fonction des schémas utilisés en 1^{er} ligne et en cas de contre indications ou de toxicité de l'une des molécules du schéma préférentiel

Tableau III: Trousses de mesure en temps réel de la charge virale

Tableau IV: Performance Abbott Real Time HIV_ 1 Quantitative AssayTM

Tableau V : répartition des patients en fonction de l'âge

Tableau VI: répartition des patients selon le schéma actuel

Tableau VII : répartition des patients selon la durée du traitement

Tableau VIII: répartition des patients selon le service demandeur

Tableau IX : répartition des patients selon la charge virale

Tableau X : répartition des charges virales Plasmatique en fonction de l'âge

Tableau XI : répartition des patients selon la charge virale et le sexe

Tableau XII : répartition des patients selon la charge virale et la résidence

Tableau XIII : Répartition des Charges virales plasmatiques en fonction de la durée de traitement antirétroviral

LISTE DES ABREVIATIONS

- ✓ **Liste des abréviations**
- ✓ **3TC** : Lamivudine
- ✓ **ABC** : Abacavir
- ✓ **ADN** : Acide désoxyribonucléique
- ✓ **AES** : Accident d'exposition au sang
- ✓ **AIDS** : "Acquired Immuno Deficiency Syndrome"
- ✓ **ARN** : Acide Ribonucléique
- ✓ **ARV** : Antirétroviraux
- ✓ **AZT** : Zidovudine
- ✓ **CCR5** : Récepteurs de chimiokines CCR5
- ✓ **CD** : " Cluster of Differentiation "
- ✓ **CDC**: " Center for Disease Control and Prevention "
- ✓ **CHU-GT**: Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré
- ✓ **CRFs**: "Circulating Recombinant Form"
- ✓ **CSref**: Centre de santé de référence
- ✓ **CXCR4**: Récepteurs de chimiokines CXCR4
- ✓ **d4T** : Stavudine
- ✓ **EDS**: Enquête démographique et de santé
- ✓ **EFV**: Efavirenz
- ✓ **ELISA**: " Enzyme Linked Immunosorbent Assay "
- ✓ **FTC**: Emtricitabine
- ✓ **gag**: "group antigen "
- ✓ **GP**: glycoprotéine
- ✓ **GRID**: " Gay-Related immune Disorder "
- ✓ **IF**: Inhibiteur de fusion
- ✓ **Ig**: Immunoglobuline
- ✓ **INNTI**: Inhibiteur Non-Nucléosidique de la transcriptase inverse

- ✓ **INTI:** Inhibiteur Nucléosidique de la transcriptase inverse
- ✓ **IP:** Inhibiteur de la protéase
- ✓ **IST:** Infection Sexuellement Transmissible
- ✓ **LEMP:** Leucoencéphalopathie Multifocale progressive
- ✓ **LPV /r :** Lopinavir/ritonavir
- ✓ **NVP :** Nevirapine
- ✓ **OMS :** Organisation mondiale de la Santé
- ✓ **PCR :** " Polymerase Chain Reaction "
- ✓ **Pol :** Polymérase
- ✓ **PTME :** Prévention de la transmission Mère-Enfant
- ✓ **RT-PCR :** " Reverse Transcriptase Polymérase chain Réaction "
- ✓ **Sida :** Syndrome d'immunodéficience acquis
- ✓ **TAR :** Traitement Antirétroviral
- ✓ **TDF :** Ténofovir
- ✓ **TDR :** Test de Diagnostic Rapide
- ✓ **UFRs :** " Unique Recombinant Forms "
- ✓ **VHB :** Virus de l'Hépatite B
- ✓ **VIH :** Virus de l'immunodéficience Humaine
- ✓ **WB :** Western Blot
- ✓ **CERKES :** Centre de Référence Kenedougou Solidarité

SOMMAIRE

| | |
|--|-----------------------------|
| INTRODUCTION : | 15 |
| OBJECTIFS | 4 |
| OBJECTIF GENERAL : | 17 |
| OBJECTIFS SPECIFIQUES : | 17 |
| I. GENERALITES | 18 |
| 1. Historique [4,5] | 18 |
| 2. Virus de l'immunodéficience Humaine (VIH) | 20 |
| 3. Cycle de multiplication | 21 |
| 4. Cellules cibles et Réservoir viral : | 23 |
| 5. Pouvoir pathogène | 24 |
| 6- Epidémiologie du VIH | 25 |
| 7- Modes de transmission et risques de l'infection VIH..... | 27 |
| 8. Diagnostics biologiques au laboratoire..... | 27 |
| 9. Polymérase Chain Réaction (PCR) ou Réaction de Polymérisation en Chaîne | 29 |
| II. METHODOLOGIE : | 59 |
| 1. Cadre et lieu d'étude : | 59 |
| 2. Type et période de l'étude : | 61 |
| 3. Population d'étude : | 61 |
| 4. Critères d'inclusion : | 61 |
| 5. Critères de non inclusion : | 61 |
| 6. Aspect d'éthique : | 62 |
| 7. Paramètres étudiés :..... | 62 |
| 8. Résultats et interprétation :..... | Erreur ! Signet non défini. |
| III. RESULTATS : | 70 |
| 1. Resultats globaux | 70 |
| 2. Resultats descriptifs | 71 |
| IV. COMMENTAIRES ET DISCUSSION | 80 |
| V. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS: | 84 |
| Références | 86 |

INTRODUCTION :

Avec plus de 36 millions de morts à ce jour, le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) demeure une priorité sanitaire. Ce virus responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) est un rétrovirus infectant l'homme en le rendant vulnérable à de multiples maladies opportunistes qui affecte les pays à revenu faible ou intermédiaire plus particulièrement en Afrique subsaharienne [1].

Cependant, malgré le progrès récent concernant l'épidémie du sida, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) et l'Organisation des Nations Unies contre le SIDA (ONUSIDA) estimaient dans leur rapport annuel de Juin 2016, que 36.7 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde, 2,1 millions de personnes ont été nouvellement infectées en fin 2015 [1].

Parallèlement le nombre de décès annuel liés au sida diminue régulièrement à travers le monde d'un pic de 1.1 millions en 2005 soit 46% depuis le pic de 2005 [1].

Selon les estimations, un peu plus de la moitié de l'ensemble des personnes vivant avec le VIH sont les femmes et des filles. L'Afrique subsaharienne reste la région la plus touchée avec 1.4 millions le nombre de personnes contaminées en 2014, ce qui porte à 2.5 millions de personnes vivant avec le VIH ; soit 70% du total mondial [1].

Les effets du traitement antirétroviral sont visibles dans le monde; on estimait 18,2 millions de personnes qui étaient sous traitement antirétroviral en juin 2016 contre 15,8 millions en 2015 et 13,6 millions en 2014. De nos jours, plus de 11 millions de personnes vivant avec le VIH en Afrique subsaharienne ont accès aux traitements ARV [1].

Le Mali est aussi confronté à la problématique de l'infection à VIH. Les résultats de la dernière étude de séroprévalence de l'infection à VIH réalisée en juin 2012 dans la population générale adulte au cours de la cinquième Edition de l'Enquête Démographique et de Santé (EDMS V), ont montré une baisse du taux de prévalence du VIH de 1.3% à 1.1% faisant du Mali un pays à épidémie généralisée du VIH basse avec tendance à la stabilisation. De plus, le pays réunit tous les facteurs de propagation et de potentialisation de l'épidémie : grande pauvreté, illettrisme, flux migratoire importants, le tourisme, comportement sexuel, les pratiques socioculturelles [2].

Dans la région de SIKASSO, la séroprévalence de l'infection à VIH est de 0,7%.

Au plan thérapeutique, c'est un traitement à vie qui nécessite une excellente observance de la part des patients. Le traitement antirétroviral est une thérapie associant généralement deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse à un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse ou

un inhibiteur de la protease. L'avènement des ARV a permis d'atteindre l'objectif du traitement antirétroviral. Cet objectif à long terme est de réduire durablement 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) [3].

Malgré tout, il arrive souvent que le traitement échoue du fait de l'inobservance des patients ou de la résistance du virus. Donc, il nous a paru nécessaire d'étudier la prévalence des échecs virologiques du VIH après 6 mois de traitement antirétroviral à l'Hôpital de Sikasso.

OBJECTIFS

OBJECTIF GENERAL :

Etudier l'évolution de la charge virale plasmatique chez les patients infectés par le VIH-1 après 6 mois de traitement ARV.

OBJECTIFS SPECIFIQUES :

1. Décrire le profil sociodémographique des patients ;
2. Déterminer la prévalence des échecs virologiques après 6 mois, 12, 18, 24 mois et plus de 24 mois en fonction du traitement ARV ;
3. Identifier les schémas thérapeutiques utilisés dans le traitement des ARV.

I.GENERALITES

1. Historique [4,5]

-1981 : 1^{ière} définition du SIDA ;

-Juin 1982 création de la 1^{ière} association de lutte contre le SIDA aux Etats- Unis, « la GAYMEM HEALTH CRISIS »

-1983 identifications du VIH-1,

-Septembre 1983 : 1^{ière} résultats du test Elisa mis au point par Christine Rouzioux et Françoise Brun-Vezinet,

-1985 : déclaration du 1^{ier} cas de SIDA observé au Mali,

-Avril 1985 : 1^{ière} conférence internationale sur le VIH Atlanta (Etats-Unis),

-1986 : identification du VIH-2,

-Janvier 1993 nouvelle définition des Etats-Unis : classification CDC d'Atlanta,

-1999 : 5^{ème} conférence sur les rétrovirus (à Chicago), l'accent a été mis sur l'importance des tests de résistance de routwine,

-2000 : 13^{ème} conférence internationale à Durban (Afrique du sud), les laboratoires pharmaceutiques ont annoncé des mesures concrètes afin d'aider les pays pauvres.

Au Mali:

La prise en charge ARV a débuté en 1998 au CESAC avec le système de parrainage des Patients du sud par ceux du nord. L'Initiative Malienne d'Accès aux Antirétroviraux (IMAARV) a débuté en novembre 2001 à partir de 3 sites prescripteurs situés à Bamako (l'hôpital du Point G, l'hôpital Gabriel Touré et le CESAC) et d'un laboratoire de référence, l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP).

- De 2001 à 2007, plusieurs évènements ont marqué la lutte contre le Sida au Mali
- De 2001 à 2004, la mise à disposition de fonds nationaux, permettant le financement massif de médicaments antirétroviraux.
- En Avril 2004, la déclaration de politique nationale, faisant du Sida une priorité nationale;
- En 2004, l'élaboration du plan sectoriel du VIH et du Sida du Ministère de la Santé et de l'hygiène publique permettant la décentralisation des soins aux régions et aux cercles;
- En Juillet 2004, la lettre circulaire N° 1118/MS/S -G instaurant la gratuité des soins et des ARV;

- En Mars 2005, le décret N°05 147 P-RM instaurant la gratuité des soins, des ARV, des médicaments IO et du suivi biologique permettant l'accès de la prise en charge aux plus démunis;
- En Janvier 2006, l'élaboration de la Politique et des Protocoles de prise en charge antirétrovirale des PVVIH, fixant les normes de traitement ;
- En Avril 2008, première révision du document de politique et des protocoles de prise en charge des PV VIH ;
- En Juin 2010, seconde révision du document de politique et des protocoles de prise en charge des PV VIH

_En 2013, troisième révision du document de politique et des protocoles de prise en charge des PV VIH.

_En 2015, Dernière révision du document de politique et des protocoles de prise en charge des PV VIH.

2. Virus de l'immunodéficience Humaine (VIH)

Rappel sur le virus : [5, 6, 7, 8]

Il s'agit d'un virus à ARN appartenant à la famille des rétrovirus appelé ainsi en raison de la présence de la transcriptase inverse, qui a la propriété de transcrire le matériel génétique sous forme d'ARN en ADN pro viral. Le virus du SIDA (Syndrome d'immunodéficience acquise) est le deuxième rétro virus découvert après le HTLV1 (HumantLeukaemiaVirus1) responsable de leucémie/lymphome T de l'adulte. Les rétrovirus composent une famille au sein de laquelle on peut les classer en 3 groupes selon Weiss et COL :

- Spimavirus, groupe très répandu dont le pouvoir pathogène est inconnu ;
- Oncovirus sont responsables des leucémies, lymphomes, des tumeurs ou sarcomes;
- Les lentivirus sont responsables des maladies chroniques avec atteinte du système nerveux central (exemple encéphalite de visna virus.

2.1. Structure du VIH: [9]

2.1.1. Morphologie

Le VIH-1 est un virus à ARN, de 90-120 nm de diamètre, de forme sphérique comprenant une enveloppe de type D et composé de 2 molécules d'ARN reliées entre elles par leur extrémité 5' covalente. Les particules virales ou virions contiennent également différentes enzymes excentrées sur le plan de la coupe.

2.1.2. Génome viral :

Le génome du VIH est une molécule d'ARN qui contient l'information génétique nécessaire à la synthèse des protéines virales.

Il est constitué en un peu moins de 9700 nucléotides et est par conséquent 100 000 fois plus petit que le génome humain. Il comporte 3 gènes qui portent les fonctions communes à l'ensemble des rétrovirus :

- Gène gag (groupe antigène) code pour les protéines internes des virions.
- Gène Pol (polymérase) code pour le polypeptide possédant l'activité transcriptase inverse et RN Ase H, mais également pour un polypeptide à activité endonucléase indispensable aux premiers stades de la réplication d'ARN viral ainsi qu'à l'intégration de l'ARN pro viral dans l'ADN cellulaire.
- Gène env (enveloppe) code pour les deux glycoprotéines de l'enveloppe virale.

En plus des 3 gènes classiques (gag, pol, env), il existe aussi des gènes supplémentaires spécifiques: (tat, rev, vif, nef, Vpr et Vpx)

- Les gènes tat et rev sont des gènes régulateurs.

- Le gène *tat* (Transactivator of transcription) c'est un transactivateur et augmente le niveau de production des protéines virales, agirait en augmentant la transcription.
 - Le gène *Rev* (régulation of expression of viral proteins) c'est le régulateur de l'expression des virions et intervient en augmentant le niveau des ARN messagers.
 - Le gène *nef* (négative factor) serait impliqué dans le maintien en phase de latence du virus.
 - Le gène *vif* (virion infectivity factor) aurait un rôle au niveau de l'infectiosité du virus libre.
 - Les gènes *Vpr*, et *Vpx* (Viral protéine x et r) ont des fonctions non encore élucidées.
- Le gène *nef* (négative factor) serait impliqué dans le maintien en phase de latence du virus.
- Le gène *vif* (virion infectivity factor) aurait un rôle au niveau de l'infectiosité du virus libre.
 - Les gènes *Vpr*, et *Vpx* (Viral protéine x et r) ont des fonctions non encore élucidées.
 - Le gène *Vpx* n'est présent que dans le VIH 2 et les virus simiens.

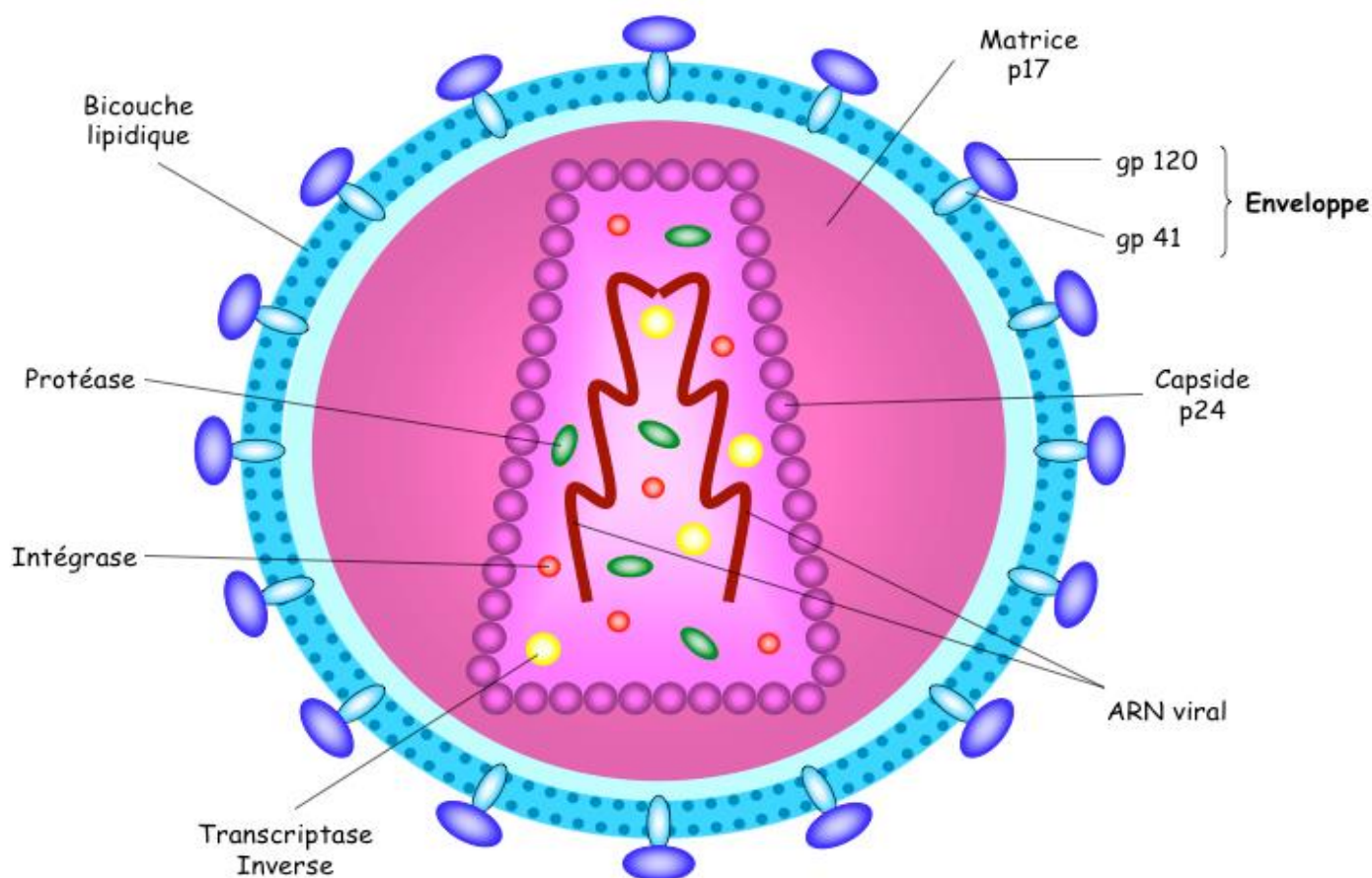


Figure1 : Structure morphologique du VIH-1 [9].

Source : Genetic variability of the Aids virus: nucleotide sequence analysis of two isolates from Africans patient. Cell, 1986, 46: 63-74.

3. Cycle de multiplication

Cibles des molécules antirétrovirales, les principales étapes du cycle répliatif du VIH sont communes aux Rétrovirus. 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'à une époque récente, il a été admis que la transcription inverse de l'ARN viral n'avait lieu qu'après la décapitation. Or, de récentes études ont montré que cette étape pouvait avoir lieu également dans la capsid, présente dans le cytoplasme [10].

L'ARN génomique y est ainsi rétrotranscrit 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 grâce à l'intégrase. L'ADN pro viral 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 clivée par une protéase cellulaire en gp120 et gp41, protéines qui vont ensuite migrer vers la membrane cellulaire. Les précurseurs gags et gag-Pol vont ensuite être clivés par la protéase virale, qui se 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 grâce à la protéase pour aboutir à un virus mature dont la capsid est définitivement assemblée [11]

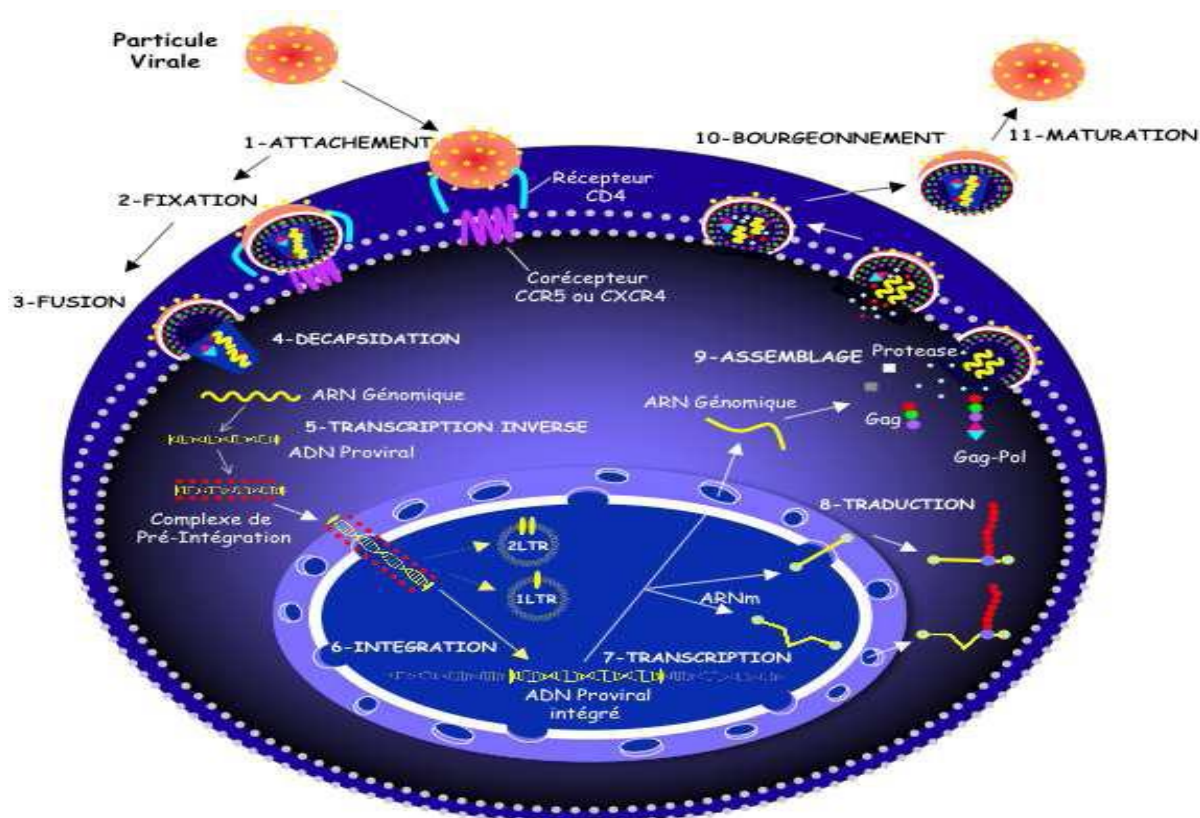


Figure 2:Cycle de multiplication du VIH [11]

Source: HIV-1assembly and maturation. Arch virol 2004; 149: 1067-1082

4. Cellules cibles et Réservoir viral :

Les cellules sensibles à l'infection par le VIH expriment le récepteur CD4 à la surface de leur membrane. Ce récepteur, découvert en 1984, s'avère ne pas être suffisant pour permettre l'entrée du virus. Dix ans plus tard, les récepteurs aux chimiokines, CXCR4 et CCR5, ont été désignés comme co-récepteurs indispensables à l'entrée du VIH-1 dans sa cellule cible. Parmi les cellules cibles, on retrouve principalement les lymphocytes T CD4 auxiliaires, mais également les cellules présentatrices d'antigènes, telles que les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules de Langerhans et les cellules microgliales du cerveau. La majorité des infections (99%) a lieu dans les cellules lymphocytaires activées CD4+ des organes lymphoïdes, réservoir principal du virus. En effet, il semble que le processus de pathogénicité du VIH soit initié précocement dans les organes lymphoïdes. De plus, une des particularités du VIH est de persister sous forme d'ADN pro viral dans les cellules T4 mémoires. Certaines d'entre elles entrent en phase quiescente après infection et intégration du provirus; la réplication cellulaire, donc celle du provirus, est inhibée par un certain nombre de facteurs cellulaires, résultant en un ADN proviral silencieux dans la cellule, et ce jusqu'à plusieurs mois. Ce n'est que lors d'une stimulation immunitaire que les réplifications cellulaire et virale aboutissent ainsi à la production de virions capables d'infecter de nouvelles cellules [12].

5. Pouvoir pathogène

5.1. Infection humaine :

La durée de l'infection par le VIH et la diversité des tableaux cliniques rencontrés ont très vite conduit à diverses classifications du virus. Le Sida représente la forme compliquée et tardive de l'infection par le VIH. Le Sida correspond à un ensemble de syndromes, il est défini par la survenue de maladies dites opportunistes qui apparaissent en raison du déficit immunitaire engendré par le VIH. En 1982, le Sida était défini comme une maladie touchant l'immunité à médiation cellulaire. En 1987, cette définition a été révisée et de nouvelles pathologies furent ajoutées : Manifestations neurologiques, tuberculoses disséminées.

A partir de 1993, les CDC ont présenté une classification modifiée de l'infection par le VIH, divisée en trois catégories de sévérité croissante. Celle-ci se fonde sur la numération des lymphocytes CD4+ ainsi que sur des paramètres cliniques.

5.2. Pouvoir pathogène expérimental

Les VIH ont une spécificité d'hôte étroite. Parmi les primates, seul le chimpanzé peut être infecté par le VIH-1. Cependant, la progression très lente voire l'absence de progression clinique, ainsi que la protection de cette espèce font que le chimpanzé ne constitue pas un modèle satisfaisant. Le HIV-2 peut infecter les singes Rhésus et *Cynomolgus*, mais du fait du pouvoir pathogène différent de ce virus, il ne constitue pas non plus un modèle idéal.

Le modèle expérimental le plus étudié est le modèle SIV. Les virus simiens SIVmac et SIVsm sont associés au développement rapide du Sida chez le macaque. Ce modèle permet donc de réaliser des études visant à une meilleure connaissance de la physiopathologie de l'infection ainsi que l'évaluation de certaines approches thérapeutiques [13].

5.3- Physiopathologie

Dès la primo-infection, le virus se réplique activement et diffuse dans l'organisme. Des réservoirs viraux sont ainsi constitués, avec intégration du virus dans les cellules (ganglions, tissu lymphoïde du tube digestif) lui permettant d'échapper ainsi à la reconnaissance par le système immunitaire. Les cellules cibles du virus sont :

- Les lymphocytes CD4 ;
- Les monocytes/macrophages;
- Les cellules de la microglie cérébrale.

Le VIH détruit progressivement le système immunitaire en infectant les lymphocytes TCD4 (mécanisme direct) et en entraînant une activation immunitaire qui conduit à de multiples phénomènes immunitaires pathologiques dont la destruction des lymphocytes CD4 (mécanisme indirect). Lorsque les lymphocytes

TCD4 sont inférieurs à 200/mm³, surviennent alors les infections opportunistes avec l'apparition du sida clinique.

En raison de l'établissement précoce de réservoirs viraux, de la persistance d'une répllication à minima du virus conduisant à la sélection de virus échappant aux réponses immunes de l'hôte, les traitements antirétroviraux même hautement efficaces (HAART) n'ont pas permis à ce jour l'éradication du virus. En outre, la répllication persistante du virus entraîne une activation constante du système immunitaire, insuffisante cependant pour contrôler le virus VIH et délétère pour de nombreux organes (cœur, os, vaisseaux, rein...). Les lymphocytes TCD4 se renouvellent rapidement jusqu'à ce que les altérations des organes lymphoïdes centraux (thymus) ne permettent plus leur régénération [14].

6-Epidémiologie du VIH

6.1. Dans le monde

L'infection à VIH/SIDA est une pandémie qui constitue un véritable désastre humain, social, économique, en particulier dans les pays en développement (PED) qui sont les plus touchés. Selon le rapport 2015 de l'Organisation des Nations Unies pour le SIDA(Onusida) il y'avait 36,7 millions de personnes vivant avec le VIH à la fin de 2015 contre 35 millions en 2013. Le nombre annuel de nouvelles infections à VIH diminue régulièrement depuis la fin des années 2001, 2,1 millions de personnes ont été nouvellement infectées par le VIH en 2015 contre 3,4 millions de personnes en 2001. Cette diminution est contrebalancée par une réduction régulière du nombre de décès annuel lié au SIDA à travers le monde d'un pic de 2,4 millions en 2015. Cette baisse de nouvelles infections et de décès liés au SIDA se traduit par la disponibilité accrue des traitements antirétroviraux ainsi que des soins et de l'appui pour les personnes vivant avec le VIH, notamment dans les pays à revenu faible ou intermédiaire.

En Juin 2016 approximativement 18,2 millions de personnes dans le monde recevaient un traitement antirétroviral, contre 15,8 millions en juin 2015, et 7,5 millions en 2010.

Environ 46% de l'ensemble des adultes avaient accès au traitement en 2015. Les 77% des femmes enceintes avaient accès au traitement pour prévenir la transmission à leur bébé en 2015 [1].

6.2. Epidémiologie du VIH en Afrique

L'ONU/sida confirme le recul du VIH/Sida dans 22 pays d'Afrique subsaharienne ou les taux de VIH ont reculé de plus de 25%. Dans cette région, les épidémies les plus importantes (Afrique du sud, Cote d'Ivoire, Ethiopie, Nigeria, Zambie, Zimbabwe) se sont stabilisées ou sont en régression C'est surtout le nombre de nouvelles infections qui est en baisse significative depuis 2009, soit 1800000 nouveaux cas contre 880 000 en 2005.

Cependant l'Afrique subsaharienne reste la région la plus largement touchée par le VIH et représente 70 % du total des PVVIH, 75% des nouvelles infections et 60% des décès dus au SIDA en 2015.

6.3. Epidémiologie au Mali

Au Mali, le premier cas de sida a été identifié en 1985 au Centre Hospitalo-universitaire (CHU) Gabriel Touré. Le Mali pourrait être considéré au premier regard comme un pays à faible prévalence de 1,3 % contre 1.1% selon les résultats de l'Enquête Démographique et de Santé (EDS-V) conduit en 2015 dans la tranche d'Age de 15-49 ans. Toutefois, l'examen de cette étude révèle des caractéristiques variables. Globalement les femmes sont plus touchées que les hommes (respectivement 1,5% et 1%) avec un pic dans la tranche d'Age de 30-34 ans (2,2%) [2].

On note une disparité inter régionale de la séroprévalence au Mali, Bamako demeure la région la plus touchée (1,7 %), suivie de Ségou (1,2%), Mopti (0,7%). Par contre les régions de Sikasso (0,8%) Kayes (1%), Koulikoro (1%).

L'épidémie frappe plus le milieu urbain (1,1%) que le milieu rural (0,8%). La séroprévalence chez les groupes à risques selon EDS-V reste toujours préoccupante.

Le plus fort taux a été enregistré chez les professionnelles de sexe (24,3%), suivi des vendeuses ambulatoires (3,7%), les routiers (2,7%), les aides familiales et coxeurs 3,5% chacun. Enfin 0,9% des femmes enceintes sont séropositives au VIH. Les risques de contamination par le VIH sont potentiellement très élevés dans la population malienne pour des raisons multifactorielles [2].

En effet, nous constatons une relative stabilité de l'infection à VIH, cela pourrait être du aux efforts des autorités maliennes dans la lutte contre le VIH/SIDA depuis 2003 (implication des autorités par la création d'un organe de coordination, implication de la communauté, le renforcement des services de santé et le renforcement des activités de prévention). Les premières études montraient une prédominance du VIH-2 par rapport au VIH-1 [15,16].

En revanche, actuellement, le VIH-1 est plus fréquent soit 97,5% des personnes VIH positives depuis 2007 [17]. Les sous types A et G du VIH-1 sont ceux qui prédominent [18].

7-Modes de transmission et risques de l'infection VIH

Le VIH se transmet selon trois différents modes principaux, avec des risques variables selon le mode de transmission. Comme dans les autres pays d'Afrique, la transmission du VIH semble se faire surtout par voie hétérosexuelle au Mali [14,15].

7.1. Transmission par rapport sexuel

La transmission sexuelle du VIH est le mode de contamination de loin le plus fréquent (supérieur à 90% à l'échelle mondiale). Cette transmission peut s'effectuer lors de rapports hétérosexuels ou homosexuels avec une personne contaminée.

Le risque de transmission du VIH est variable selon la nature du rapport aussi, ainsi en cas de rapport oral (fellation réceptive) le risque est estimé à 0,4% ; en cas de rapport anal.

Réceptif entre hommes (pénétration par un partenaire VIH +), est estimé à 0,82% et en cas de rapport vaginal est estimé à 0,1% [19].

7.2. Transmission par sang et ses dérivés

Les transfusions de sang contaminé, les injections au moyen de seringues et d'aiguilles contaminées et l'utilisation d'instruments non stérilisés pour percer la peau permettent la transmission par voie sanguine. Dans d'autres pays du monde comme la Russie et l'Ukraine, la consommation de drogues par injection constitue le mode de transmission courant [1].

7.3. Transmission mère-enfant (TME)

Le risque de transmission verticale varie selon l'état clinique et biologique de la mère, il est corrélé à l'intensité de sa charge virale. Cette transmission peut se faire de trois façons : in utero c'est à dire le dernier trimestre de la grossesse avec un risque à 5 %, en per-partum, et par allaitement maternel (10-15% des transmissions de la mère à l'enfant, avec 1% de risque additionnel par mois d'allaitement les six premiers mois).

8. Diagnostics biologiques au laboratoire

Le diagnostic de l'infection VIH est fondé sur une méthode sérologique indirecte c'est-à-dire sur la détection des anticorps, et reste dans la majorité des cas l'approche diagnostic la plus pertinente et la plus accessible. La mise en évidence du virus par la méthode directe se fait par extraction et RT-PCR de l'ARN viral plasmatique.

8.1. Diagnostic indirect[20]

- Dépistage

Les tests de dépistage de l'infection par les VIH reposent, d'une part, sur la mise en évidence des anticorps anti-VIH-1 et -2 par méthode Immuno-enzymatique de type ELISA

Ou par test rapide, et, d'autre part, sur la mise en évidence couplée des anticorps anti-VIH1 et -2 et l'antigène p24 du VIH-1 grâce aux trousse ELISA dites « combinées ». Si le sérum et le plasma restent les liquides biologiques utilisés en priorité pour des questions de qualité, d'autres matrices biologiques telles que le sang total capillaire, les urines ou la salive ont été proposées.

- Confirmation

La technique de référence utilisée des tests sérologiques de confirmation est le Western-blot, où les protéines virales sont séparées par électrophorèse avant d'être transférées sur une membrane de nitrocellulose. La présence d'anticorps contre une protéine donnée est révélée par une réaction immunoenzymatique qui matérialise la position de la protéine sous la forme d'une bande colorée.

8.2. Diagnostic direct[20]

Il permet la détection directe du virus dans les prélèvements. Les méthodes utilisées sont :

- La détection de l'antigène 24 : les antigènes viraux circulants correspondent aux particules et aux protéines virales libres. Des méthodes ELISA commercialisées permettent de détecter ces antigènes.
- L'isolement du VIH en culture de cellules : l'isolement du VIH-1 en culture cellulaire est une méthode longue, coûteuse, nécessitant des laboratoires de haute sécurité.
- La Détection des acides nucléiques viraux : l'amplification génique (PCR ou amplification multienzymatique de type NASBA) permet de détecter l'ARN génomique contenu dans les particules virales.

9. Polymerase Chain Réaction (PCR) ou Réaction de Polymérisation en Chaîne

Mise au point en 1983 par Karry Mullis, la PCR est une technique de biologie moléculaire qui permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précis, même présent en quantité infime dans un mélange, puis de l'amplifier exponentiellement.

Les réactifs nécessaires à la réalisation d'une réaction de PCR sont :

- L'ADN généralement sous forme de double brin contenant le fragment à amplifier ;
- Deux amorces sens et anti-sens qui sont de petits brins d'ADN (d'environ 20 bases) appelés oligonucléotides. Ils sont capables de s'hybrider de façon spécifique, grâce à la complémentarité des bases sur le brin d'ADN ou sur son brin complémentaire ;
- Une enzyme l'ADN Polymérase qui est une ADN polymérase thermorésistante extraite de la bactérie *Thermus aquaticus*.
- La température optimale d'action de la Taq est de 72° et elle est capable de résister à des passages successifs à 95°, ce qui permet l'automatisation de la procédure.
- Quatre nucléotides : dGT, dATP, dTTP, dCTP, appelés globalement dNTPs qui sont des éléments de base utilisés par la Taq polymérase pour synthétiser les brins d'ADN complémentaires ;
- Le MnCl₂ permet une meilleure dissociation de l'ADN double brin et fidélise l'action de la polymérase [21].

9.1. Principe de la PCR

La PCR est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire d'un ADN servant de matrice. Pour initier le processus, un segment d'acide nucléique doit s'y associer afin de servir d'amorce. Cette amorce (ou primer), de séquence complémentaire à celle du brin à amplifier, est un oligonucléotide synthétique d'une longueur de 17 à 30 bases. Son association à l'ADN aboutissant ainsi à la synthèse d'un ADN double brin. La PCR consiste en une succession cyclique de trois étapes.

Le milieu tamponné comprend tous les éléments indispensables : les précurseurs trinuécléotidiques (dATP, dCTP, dTTP, dGTP), le cation Mg⁺⁺ indispensable au bon fonctionnement de l'enzyme et à l'incorporation correcte des précurseurs, l'ADN polymérase et les amorces. A ce milieu, est ajouté l'ADN extrait du milieu biologique à étudier [21].

9.2. Réaction de PCR

Une réaction de PCR correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes :

- Dénaturation de l'ADN (94-9°) : les doubles brins d'ADN se séparent.
- Hybridation ou anelage des amorces (55-5°) : les amorces reconnaissent leur séquence complémentaire et s'hybrident chacune sur leur brin respectif.

- Elongation ou extension des amorces (7°) : la Tag Polymérase permet d'ajouter des nucléotides aux amorces hybridées, dans le sens 5'- 3'[22].

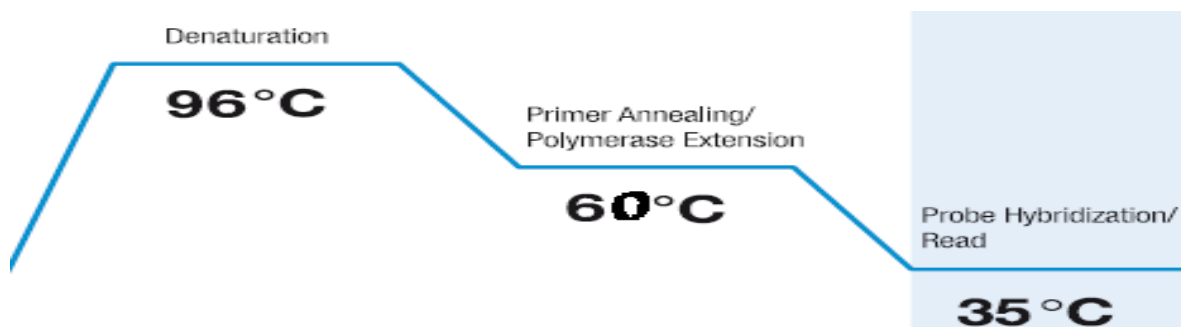


Figure 3 : Courbe de température par cycle pendant la PCR[22]

Source: Detection and quantification of human immunodeficiency virus RNA in patients serum by use of the polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1990, **163**: 862-6.

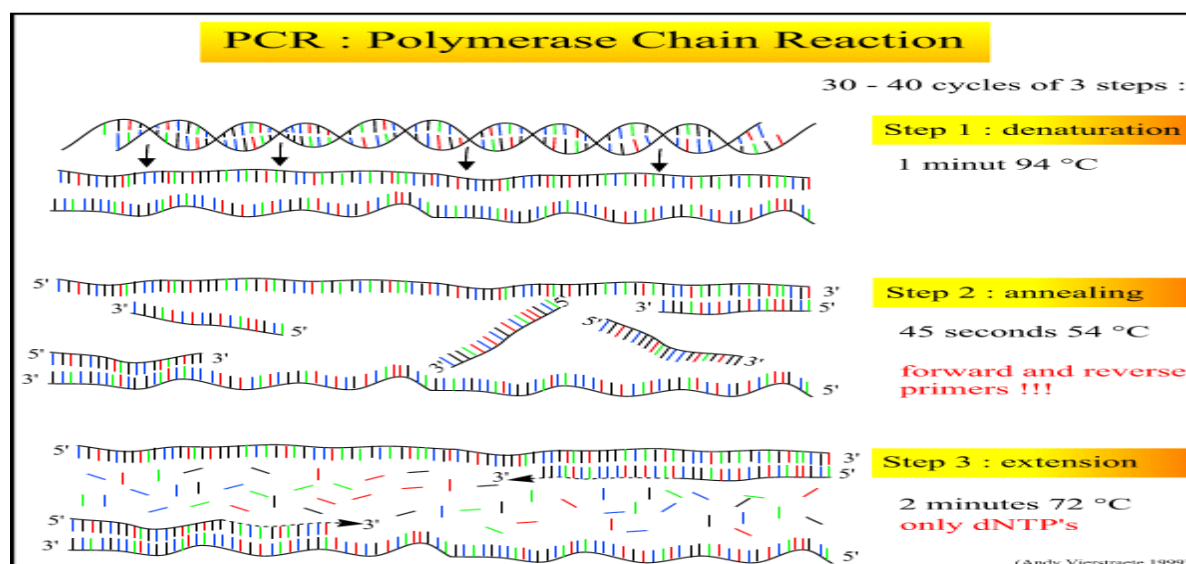


Figure 4 : Représentation schématique des trois (03) étapes de la PCR[22]

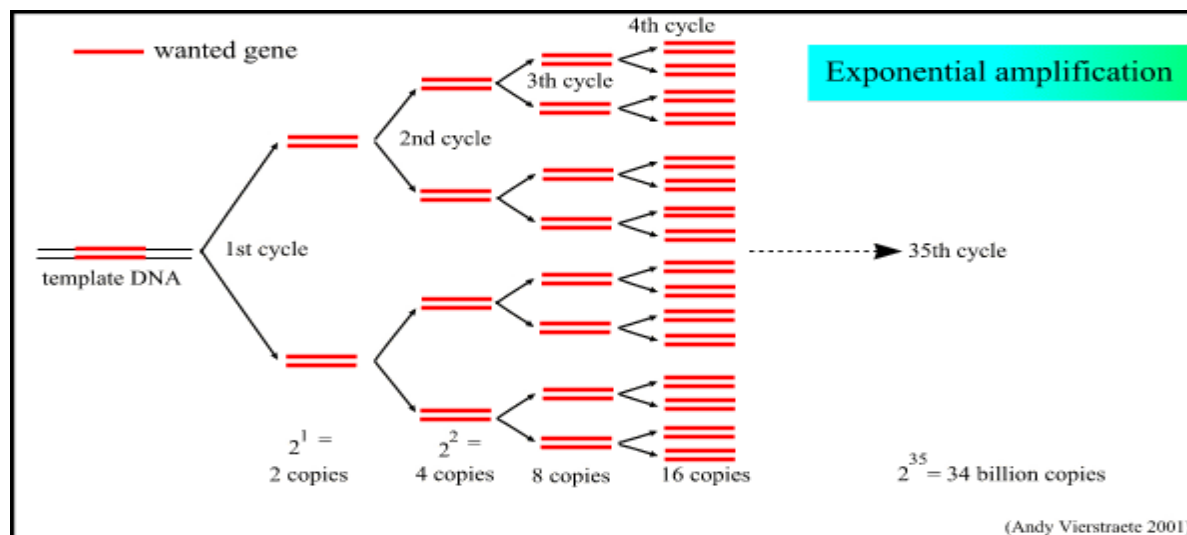


Figure 5 : Amplification exponentiel : Nombre de copies par cycle pour 35 cycles[22]

9.3. RT-PCR

La PCR est une technique qui amplifie de l'ADN. Par conséquent, pour étudier l'ARN par PCR, il faut passer par une étape intermédiaire, la transcription inverse ou *reverse transcription* (RT), qui transforme l'ARN en son ADN complémentaire (ADNc).

On peut alors réaliser une PCR.

Une enzyme, la transcriptase inverse, qui est une ADN polymérase ARN-dépendante, transforme l'ARN en son ADNc. Cet ADNc pourra être amplifié par la technique de PCR déjà décrite. Pour agir, cette enzyme a besoin, de la même manière que l'ADN polymérase, d'une amorce [23].

Le domaine d'application de la RT-PCR pour le diagnostic clinique comprend l'étude de la charge virale des virus à ARN, l'analyse du produit de l'expression des gènes [24].

10. Traitement antirétroviral

Les ARV actuels, molécules virostatiques, agissent au niveau des trois enzymes nécessaires à la réplication du VIH et à l'entrée du virus dans la cellule.

En 1996 arrive le concept de trithérapie, avec la disponibilité de nouvelles molécules antirétrovirales telles que les inhibiteurs de la protéase, montrant une réduction significative de la mortalité liée au SIDA. En effet, l'objectif principal du traitement antirétroviral est d'empêcher la progression vers le SIDA en restaurant le nombre de lymphocytes T C D4+; il doit rendre la charge virale plasmatique indétectable permettant une meilleure restauration du système immunitaire [25].

10.1. Objectifs du traitement antirétroviral[26]

L'objectif principal du traitement antirétroviral, quelle que soit la situation (première ligne, lignes ultérieures, y compris après multiéchec) est l'obtention et le maintien d'une charge virale plasmatique < 50 copies/ml permettant d'empêcher la progression vers le SIDA et de restaurer un nombre de lymphocytes CD4 > 500/mm³. Le maintien d'une charge virale < 50 copies/ml permet une meilleure restauration immunitaire et limite au maximum le risque d'échec thérapeutique.

Si l'efficacité immunovirologique du traitement est essentielle, d'autres objectifs doivent être recherchés simultanément :

- La meilleure tolérance possible, à court, moyen et long terme ;
- L'amélioration ou la préservation de la qualité de vie ;
- La réduction de la transmission mère-enfant du VIH.

10.2. Obstacles

Les avancées thérapeutiques ne doivent, cependant, laisser place aux triomphalismes car les raisons suivantes peuvent constituer des obstacles:

- une minorité de patients infectés par le VIH dans le monde entier ont accès aux antirétroviraux. En Afrique subsaharienne, seulement 30% des personnes ayant besoin d'ARV en bénéficient réellement[1].
- les difficultés d'accès aux soins (précarité sociale, désorganisation des structures sanitaires, contexte psychologique...), concernent un nombre significatif de patients,
- les contraintes de traitement au long cours sont réelles,
- les phénomènes de résistance acquise aux antirétroviraux actuellement disponibles surviennent chez un nombre croissant de patients,
- les complications métaboliques (syndrome lypodystrophique, anomalies glucidolipidiques) laissent présager une incidence accrue de complications vasculaires à moyen ou à long terme.

10.3. Différentes classes thérapeutiques

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

- ✓ Les inhibiteurs de la transcriptase inverse
 - Les inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidique (INTI)

Les INTI (ou NRTI pour nucléoside reverse transcriptase inhibitor) sont des promédicaments qui doivent être triphosphorylés dans la cellule pour être actifs.

Ils subissent une activation en nucléoside triphosphate par les kinases cellulaires.

Les formes triphosphates (et diphosphate pour le ténofovir) possèdent une forte affinité pour la transcriptase inverse du virus VIH-1 et entrent 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 nucléotides en formation où ils servent de terminateur de chaîne [27].

Les analogues nucléosidiques sont à des degrés divers, des inhibiteurs de l'ADN polymérase mitochondriale. D'où une toxicité mitochondriale mise en évidence dès les phases précliniques de leur développement. Cette toxicité a 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 [28].

- Les inhibiteurs non nucléosidiques de la Transcriptase inverse (INNTI)

Ces sont des composés de structure chimique complètement différentes de celles 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 catalytiques (en relation avec le site de liaison) de la polymérase de telle façon qu'il ne peut plus se lier à un substrat nucléotide, rendant ainsi l'enzyme inactif [29].

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 inhibent la transcriptase inverse du VIH-1 de façon irréversible mais pas celle du VIH-1 de groupe O et du VIH-2.

✓ Les inhibiteurs de la protéase (IP)

Les inhibiteurs de la protéase (IP ou PI pour protease 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 sont immatures et incapables d'infecter de nouvelles cellules. Métabolisés 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 [30].

✓ 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 co-récepteurs protéiques, faisant partie de la famille de chimiokines, en particulier le CCR5 et le CXCR4 [31].

Les antagonistes du CCR5 (Maraviroc[®]) sont de petites molécules qui se fixent de façon non compétitives sur la partie transmembranaire du co-récepteur et induisent alors une modification des domaines extracellulaires du co-récepteur qui empêche la fixation de la gp120 [32].

- 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 région).

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 de 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 [33].

✓ Les inhibiteurs de l'intégrase

L'intégrase est une enzyme nécessaire à la catalyse 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 [34].

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 la protéase (IP) et aux inhibiteurs d'entrée. Les inhibiteurs d'intégrase disponibles ou en développement empêchent le transfert de brins. L'ADN non intégré est ensuite dégradé.

Tableau I: liste des molécules ARV commercialisées[35]

Source : BMS-626529, the parent of BMS-663068. CROI 2011, Abstract 518.

| Dénomination commune Internationale (DCI) | Abréviation | Nom commercial | Autorisation de mise sur le marché |
|--|-----------------|------------------------|------------------------------------|
| Zidovudine | AZT | Retrovir [®] | 1987 |
| Lamivudine | 3TC | Epivir [®] | 1996 |
| Stavudine | d4T | Zerit [®] | 1996 |
| Didanosine | DdI | Videx [®] | 1992 |
| Abacavir | ABC | Ziagen [®] | 1999 |
| Emtricitabine | FTC | Emtriva [®] | 2003 |
| Dolutegravir | DTG | Tivicay [®] | 2013 |
| Tenofovir | TDF | Viread [®] | 2002 |
| Tenofovir Alafenamide Fumarate | TAF | Genvoya [®] | 2016 |
| Nevirapine | NVP | Viramune [®] | 1998 |
| Efavirenz | EFV | Sustiva [®] | 1999 |
| Etravirine | ETR | Entelence [®] | 2008 |
| Rilpivirine | RPV | Edurant [®] | 2012 |
| Zidovudine / Lamivudine | AZT / 3TC | Combivir [®] | 1998 |
| Tenofovir / Emtricitabine | TDF / FTC | Truvada [®] | 2005 |
| Abacavir / Lamivudine | ABC / 3TC | Kivexa [®] | 2004 |
| Zidovudine/Lamivudine / Emtricitabine / Abacavir | AZT / 3TC / ABC | Trivizir [®] | 2000 |
| Tenofovir / Emtricitabine / Efavirenz | TDF / FTC / EFV | Atripla [®] | 2007 |
| Stavudine / Lamivudine / | d4T / 3TC / | Triomune [®] | 2001 |

| | | | |
|-----------------------|---------|------------------------|------|
| Nevirapine | NVP | | |
| Indinavir | IDV | Crixivan [®] | 1996 |
| Ritonavir | RTV | Norvir [®] | 1996 |
| Saquinavir | SQV | Invirase [®] | 1996 |
| Nelfinavir | NFV | Viracept [®] | 1998 |
| Fosamprénavir | Fos APV | Telzir [®] | 2004 |
| Atazanavir | ATV | Reyataz [®] | 2004 |
| Lopinavir / ritonavir | LPV/ r | Kaletra [®] | 2001 |
| Tipranavir | TPV | Aptivus [®] | 2005 |
| Darunavir | DRV | Prezista [®] | 2008 |
| Enfuvirtide | T20 | Fuzeon [®] | 2003 |
| Maraviroc | MRV | Celsentri [®] | 2008 |
| | | | |
| Raltégravir | RGV | Isentress [®] | 2008 |

10.4 Indications du traitement antirétroviral [4]

10.4.1 Chez l'adulte et l'adolescent :

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

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

✓ SCHÉMAS THÉRAPEUTIQUES

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 thérapeutiques 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)

✓ Traitement de deuxième 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 boostée

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

TABLEAU IV : 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 troisième 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 |
| Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + LPV/r <u>ou</u> ATV/r | INTI ou Abacavir+Lamivudine |
| Zidovudine (ZDV, AZT) + Lamivudine (3TC) ou Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + DRV/r | Optimiser le traitement en fonction du profil génotypique |

10.4.2 Chez l'enfant

Le traitement ARV doit être initié chez tout enfant/adolescent infecté quel que soit l'âge, le stade clinique et le taux ou le nombre de CD4.

Pour les nouveau-nés ayant une première PCR positive, le traitement doit être initié en attendant la confirmation. Ce traitement sera arrêté en cas d'infirmité.

• Schémas thérapeutiques

Les principes du traitement antirétroviral de l'enfant sont identiques à ceux du traitement de l'adulte avec cependant quelques particularités:

- L'éducation thérapeutique de ceux qui ont la charge de l'enfant, garante de la bonne observance, est primordiale.
- Les posologies doivent être ajustées en permanence en fonction de l'évolution pondérale des enfants.
- Certaines molécules n'ont pas de formes galéniques adaptées à l'usage pédiatrique.

1.1.1. Schémas thérapeutiques de première ligne¹ VIH 1 chez l'enfant

Enfants de moins de 3 ans

L'option thérapeutique préférée en première ligne est une trithérapie associant deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) à un inhibiteur de protéase (IP)

Le régime préférentiel: 2 INTI + 1IP

- **Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + LPV/r**

Le régime alternatif sera 2INTI + 1INNTI

- **Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)**
- **Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)**

NB : En cas d'indéfectibilité après une période sous IP, celui-ci pourra être remplacé par la Névirapine.

Enfants âgés de 3 ans à 10 ans et les adolescents de moins de 35 Kg

L'option thérapeutique préférée en première ligne est une trithérapie associant deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) à un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI).

Le schéma préférentiel en première ligne :

- **Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)**

Les Schémas alternatifs suivants sont possibles :

- **Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)**
- **Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)**
- **Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)**

Le traitement des adolescents de plus de 35 Kg est celui de l'adulte.

• **Schémas thérapeutiques de deuxième ligne chez l'enfant**

Un traitement de deuxième ligne sera proposé en cas d'échec confirmé au traitement de première ligne (cf. échec thérapeutique). Rappelons que la première cause d'échec thérapeutique est l'inobservance et que l'éducation thérapeutique devra être renforcée chez la mère ou celui qui est le responsable du traitement de l'enfant avant d'envisager un traitement de 2^{ème} ligne.

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

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 : *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 1ère ligne.

Protocoles de deuxième ligne

Le traitement repose sur l'association de 2 inhibiteurs nucléosidiques à un inhibiteur de la protéase « boosté » par le Ritonavir.

Le régime préférentiel pour les enfants de plus 3 ans est le suivant :

Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Lopinavir / Ritonavir (LPV/r) ou Raltégravir(RAL)

Le régime préférentiel pour les enfants de moins 3 ans est le suivant :

Zidovudine (AZT) ou Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + Raltégravir(RAL)

Le tableau suivant indique les Schémas de deuxième ligne possibles en fonction des schémas utilisés en première ligne.

TABLEAU II: Différentes options thérapeutiques de deuxième ligne en fonction des Schémas de première ligne

| 1 ^{ère} ligne | Enfants/ Adolescents | Schémas 1 ^{ère} ligne | Schémas 2 ^{ème} ligne |
|--------------------------|-------------------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Regimes à base de LPV/r- | Moins de 3 ans | ABC + 3TC + LPV/r | AZT ou ABC + 3TC + RAL |
| | | AZT + 3TC + LPV/r | |
| | 3 ans et plus | ABC + 3TC + LPV/r | AZT + 3TC + RAL |
| | | AZT + 3TC + LPV/r | ABC + 3TC + RAL |
| Regimes à base de NNRTI- | A tout âge | ABC + 3TC + EFV (ou NVP) | AZT + 3TC + LPV/r |
| | | AZT + 3TC + EFV (ou NVP) | ABC + 3TC + LPV/r |

NB : Les solutions buvables lopinavir/ritonavir nécessitent une chaîne de froid.

▪ Traitement de troisième ligne chez les enfants

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

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, faire le 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 enfants se feront au niveau du centre d'excellence pédiatrique du CHU Gabriel Touré.

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.

Nouveau traitement :

L'objectif du nouveau traitement est de réduire la CV d'au moins 2log à trois mois et indétectabilité à six mois. Pour ce faire :

- 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 de nouvelles molécules, si non continuer avec une combinaison bien tolérée.

Protocoles de troisième ligne

| Enfants | Schémas 2 ^{ème} ligne | Schémas 3 ^{ème} ligne |
|----------------|--------------------------------|--------------------------------|
| Moins de 3 ans | AZT ou ABC + 3TC + RAL | AZT ou ABC + 3TC + DTG |
| Plus de 3 ans | AZT + 3TC + RAL | AZT ou ABC + 3TC + DRV/r |
| | ABC + 3TC + RAL | |
| Tout âge | AZT + 3TC + LPV/r | DRV/r+DTG ± (AZT ou ABC) ± 3TC |
| | ABC ou TDF + 3TC + LPV/r | |

NB : Optimiser le traitement en fonction du profil génotypique.

Le DTG est recommandé pour les enfants de plus de 12 ans et à partir de 40 Kg

10.5. Echec virologique

10.5.1 CHEZ L'ADULTE ET L'ADOLESCENT

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.

10.5.2 CHEZ L'ENFANT

L'échec virologique est défini par :

- La persistance de la CV supérieure ou égale à 1 000 copies/ml, après au moins 6 mois de traitement ARV chez un enfant observant (2 charges virales élevées à 3 mois d'intervalle) ou
- Une charge virale détectable après une période de succès virologique.

10.6. Observance

Compte tenu de la puissance antirétrovirale des traitements actuellement utilisés en initiation, l'absence de réduction de la charge virale d'au moins $1 \log_{10}$, 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.

10.7. Résistance aux ARV [36]

La résistance aux antirétroviraux est la sélection de variant portant des mutations sur les différents gènes ciblés par les traitements.

Les mécanismes de résistance diffèrent d'une classe thérapeutique à une autre.

- ✓ Les inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidique de la TI

Deux mécanismes différents sont responsables de la résistance aux INTIs. D'une part, il existe un phénomène d'excision de l'analogue nucléosidique/nucléotidique incorporé en

Présence de TAMs (Thymidine Analogs Mutations); ces mutations favorisent l'accès de l'ATP au site de polymérisation de l'ADN proviral, qui va exciser l'analogue thymidique inséré, permettant ainsi au nucléoside naturel de s'y incorporer. Les TAMs sont sélectionnées par l'AZT et le d4T, analogues de la thymidine, et elles sont responsables de la résistance à tous les INTIs, à différents niveaux.

L'autre mécanisme de résistance est la diminution de l'incorporation des analogues nucléosidiques/nucléotidique, au profit des nucléosides naturels, dans la chaîne d'ADN viral; il y a donc

reprise de la synthèse de l'ADN, donc également de la réplication virale. Ce type de résistance est régi par la mutation de résistance au 3TC/FTC.

✓ Les inhibiteurs non nucléosidiques de la TI

Une seule mutation, proche du site actif, peut entraîner une résistance croisée de haut niveau aux INNTI de première génération; ce sont des molécules qui ont une barrière génétique faible. Si une mutation apparaît dans la poche hydrophobe, l'inhibiteur ne peut plus venir s'y fixer pour bloquer l'activité de la TI.

✓ Les inhibiteurs de protéase

Il existe deux types de mutations: les mutations majeures et les mutations mineures.

Une mutation majeure va changer la conformation du site actif de la protéase, empêchant ainsi l'IP de venir s'y fixer.

Une mutation mineure ne va pas influencer la liaison de l'IP au site actif: à elle seule, elle ne confère pas de résistance. Mais l'accumulation de celle-ci avec une mutation majeure ou de nombreuses mutations mineures confèrent une résistance aux IP. De nombreuses mutations mineures sont situées au niveau de positions polymorphiques présentes dans de nombreux VIH-1 de sous-type non-B.

✓ Les inhibiteurs d'entrée

- Inhibiteurs de fusion

L'enfuvirtide ou T20 (Fuzeon®), seul représentant de la classe, est un polypeptide synthétique dont la séquence correspond à la région HR2 de la gp41 et qui se fixe sur la région HR1 de cette même glycoprotéine. Les premières études *in vitro* mirent en évidence le développement de mutations de résistance sur trois codons de cette région. Puis les études *in vivo* chez des patients en échec de T20 ont montré l'émergence de mutations sur un nombre plus large de positions. Ces mutations sont situées au niveau des codons 36 à 45 du gp 41. Ces mutations suffisent parfois à engendrer un niveau élevé de résistance traduisant ainsi la faible barrière génétique du T20 et la nécessité de l'associer à d'autres molécules pleinement actives pour éviter un échec virologique rapide.

- Inhibiteurs des corécepteurs

De petites molécules inhibitrices de l'interaction gp 120-CCR5, telles que le maraviroc, sont des antagonistes allostériques non compétitifs qui se lient au même site que la gp 120 sur le corécepteur CCR5.

In vitro, la résistance au maraviroc est liée à des changements du gp 120 qui permettent à l'enveloppe virale de s'attacher au complexe CCR5-maraviroc mais d'isolats cliniques résistants au maraviroc ont été

étudiés. La résistance semble associée à des mutations de la boucle V3, variables d'un isolat à l'autre, du maraviroc chez des patients prétraités par des antirétroviraux.

✓ Les inhibiteurs de l'intégrase

La résistance aux inhibiteurs d'intégrase est due à la sélection et à l'émergence, sous traitement, de variants viraux initialement minoritaires, portant des mutations de résistance. In vivo, deux profils majoritaires distincts comportant soit la mutation N155H, soit la mutation Q148H/K/R, associées à une ou plusieurs mutations secondaires, ont été mis en évidence en cas d'échappement virologique au raltégravir.

En ce qui concerne l'elvitégravir, différents profils peuvent être sélectionnés, notamment les mutations E92G/Q ou N155H ou Q148R/K. Il existe une résistance croisée entre raltégravir et elvitégravir.

10.8. Charge virale

10.8.1. Indications

La mesure de la charge virale n'est pas nécessaire pour poser l'indication de la mise sous traitement antirétroviral mais si les moyens existent, il est important de l'avoir avant la mise sous traitement ARV pour connaître le niveau de la charge virale.

Dans nos pays qui sont à ressources limitées, elle est plus particulièrement utile dans les circonstances suivantes :

- Evaluation virologique de l'efficacité et indirectement de l'observance après l'initiation d'un traitement ARV chez le patient naïf ;
- Suivi de l'efficacité du traitement chez les malades recevant une quelconque ligne thérapeutique [37].

10.8.2. Techniques de mesure de la charge virale en temps réel

Plusieurs trousse de mesure en temps réel de la charge virale sont commercialisées.

Tableau III: Trousses de mesure en temps réel de la Charge virale[38]

Source : *Ann. Biol. Clin* 2003, **61**: 279-93.

| Trousse | Abbott RealTime HIV-1 Quantitative Assay | Cobas Taqman HIV-1 | NucliSens EasyQ HIV-1 | GENERIC HIV Charge virale | Versant HIV RNA Assay |
|---------------------|--|--|---|--|---|
| Laboratoire | Abbott | Roche | BioMérieux | ANRS 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 | Chémi luminescence |
| 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 VIH-2 (Publication) | M (A à G) | M et O (mais ne quantifie pas O) |
| Réactifs | Stockage à +4-8°C Contrôles à -20°C | Stockage à +4-8°C Contrôles à +4 à -8°C | Stockage à +2 -30°C Contrôles à +4°C | Stockage à +4 -8°C Contrôles à -20°C | Stockage à +4°C Contrôles à -80°C |
| Extraction | Extraction manuelle ou sur automate Abbott m 2000 Sp | Extraction sur Automates Cobas Ampliprep | Extraction sur Automate mini Mag ou NucliSens EasyQ | Extraction manuelle | Concentration par centrifugation et pas d'extraction |
| Durée résultat | 5,5h | 4-5h | 4-5h | 4-6h | 23h (temps technique=4h incubation=16 h 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 CE IVD | Oui Oui | Oui Oui | Non Oui | Non Non | Oui Oui |

10.8.3. Techniques utilisées

Il s'agissait de faire la charge virale pour tous les patients en demande à l'Hopital de Sikasso.

La charge virale a été effectuée sur "Abbott RealTime HIV-1 Quantitative Assay" avec des kits prêts à l'emploi.

Les données sur les paramètres démographiques, comme l'âge et le sexe, les renseignements sur les traitements reçus ont été obtenus à partir des fiches de demande de charge virale adressées au laboratoire.

10.8.4. Technique Abbott HIV-1 RealTime™[37]

✓ Principe

La RT-PCR en temps réel sur Abbott HIV-1 RealTime Quantitative Assay est un test d'amplification de l'ARN cible converti en ADN_c grâce à l'activité de transcription inverse de la polymérase thermostable rTth ADN pour la quantification directe d'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 ADN_c double brin : ARN, une deuxième amorce s'hybride avec le brin de l'ADN_c 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 températures élevées et basses du thermocycleur pour obtenir une amplification des séquences cibles d'un milliard ou plus.

La technologie Abbott HIV-1 RealTime™ 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 l'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, se séparant du quencher permettant ainsi la détection de la fluorescence.

✓ **Extraction**

L'extraction d'ARN est un sujet plus complexe car les ribonucléotides sont des molécules vulnérables, facilement dégradées. Elle se fait en trois temps en général : la lyse, l'extraction proprement dite et la précipitation ou l'éluion.

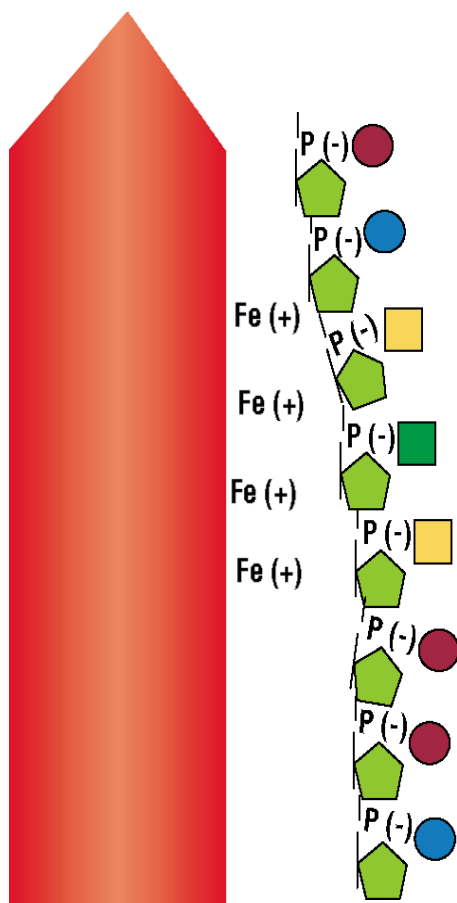
La plupart des systèmes d'extraction utilise des agents chaotropiques (Iodure de sodium ou Thiocyanate de guanidinium) ou une solution de détergent/protéinase K pour la lyse ; des agents absorbants (silice) ou des particules magnétiques (Fe^{2+}) pour capturer l'acide nucléique et puis éthanol/isopropanol ou une solution de sels (Phosphate) pour la précipitation. [37]

Abbott utilise un agent chaotropique (Thiocyanate de guanidinium) pour la lyse et des billes magnétiques (Fe^{2+}) pour capturer l'ARN viral après lyse des particules virales.

L'éluion de l'ARN purifié après lavage est réalisée à l'aide d'une solution tampon de phosphate.

RNA capture

Basic pH, high salt concentration.
Backbone well exposed to surface.



25 µl mMPhosphate Buffer, pH 8.4 Competitive removal of Nucleic Acids from positively charged Fe²⁺

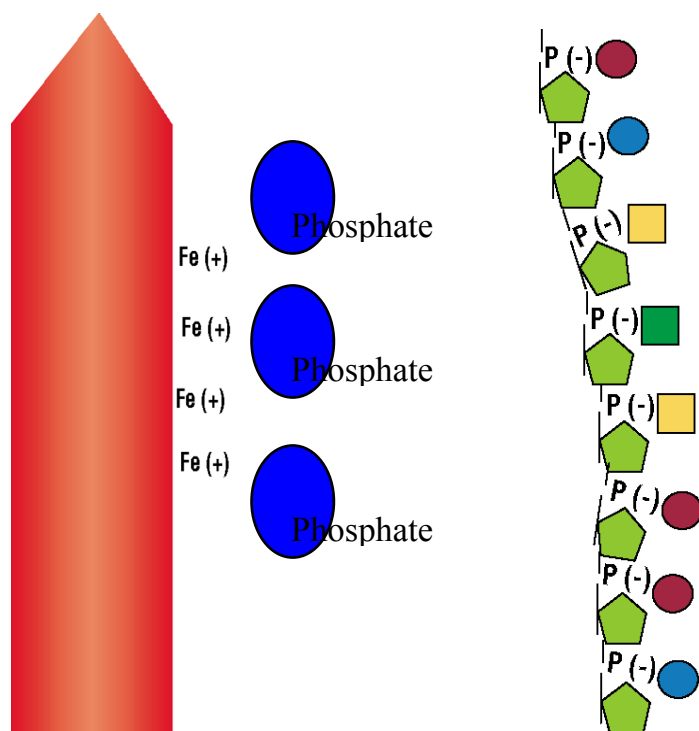


Figure 6 : Schémas de la capture et de l'éluion de l'ARN[37]

Source : PowerPoint, Kinshasa 10-13 Mars, 2008.

Il existe des automates permettant l'extraction des ADN et des ARN. Ils sont basés sur l'utilisation de particules de silice ou de billes magnétiques.

Il existe une diversité d'extracteur automatique actuellement dont:

- Biorobot 3000, Biorobot 800 et Biorobot 96404 de Qiagen
- ABI Prism 6100et ABI Prism 6700de Applied Biosystems
- Magnapure et Ampliprepde Roche Diagnostics
- Extractorde Technika/ bioMérieux
- m1000spet m2000spd' Abbott
- Nuclisens mini MAG de bio Mérieux[38].

✓ Détection en temps réel

La PCR quantitative en temps réel repose sur un nouveau principe de quantification: on ne regarde plus combien mais quand. En effet, si la quantité obtenue à la fin d'une PCR n'est pas toujours significative, seule la phase exponentielle est représentative du nombre de copies initiales. Ce principe repose sur le suivi cycle par cycle de la réaction d'amplification enzymatique au moyen d'une molécule reporter fluorescente capable d'émettre dans des conditions bien définies un rayonnement fluorescent dont l'intensité sera directement mesurée à un moment donné au cours de chaque cycle PCR. L'intensité de la fluorescence émise par la molécule reporter augmente à chaque cycle PCR. Par ce suivi, il est alors possible de tracer une courbe, de caractériser les différentes phases de la cinétique PCR et de mesurer la quantité de produit d'amplification généré en un point de la phase exponentielle. C'est uniquement au cours de cette phase qu'il sera possible d'extrapoler la quantité de matrice cible initialement présente avant amplification. Au cours des premiers cycles d'amplification, l'intensité de la fluorescence émise est très faible et va permettre de définir la ligne de base de la courbe (c'est le moment où le signal sort du bruit de fond qui est significatif). Après un certain nombre de cycles, l'accumulation des produits de PCR entraîne une variation mesurable de l'intensité de la fluorescence émise.

Le point de départ de la phase exponentielle, phase au cours de laquelle l'efficacité d'amplification est supposée rester constante, est appelé cycle seuil optique. Plus précisément, le cycle seuil optique est le nombre fractionnaire de cycles pour lequel l'intensité de la fluorescence émise a dépassé une valeur seuil (ou seuil de détection optique) significativement différente du bruit de fond. Selon l'algorithme utilisé pour son calcul, il est symbolisé par les lettres Ct (threshold cycle) ou Cp (crossing point). Le cycle seuil est un point remarquable de la cinétique d'amplification car il se trouve inversement proportionnel au logarithme du nombre X_0 de molécules d'acide nucléique cible initialement présentes avant amplification par PCR[39].

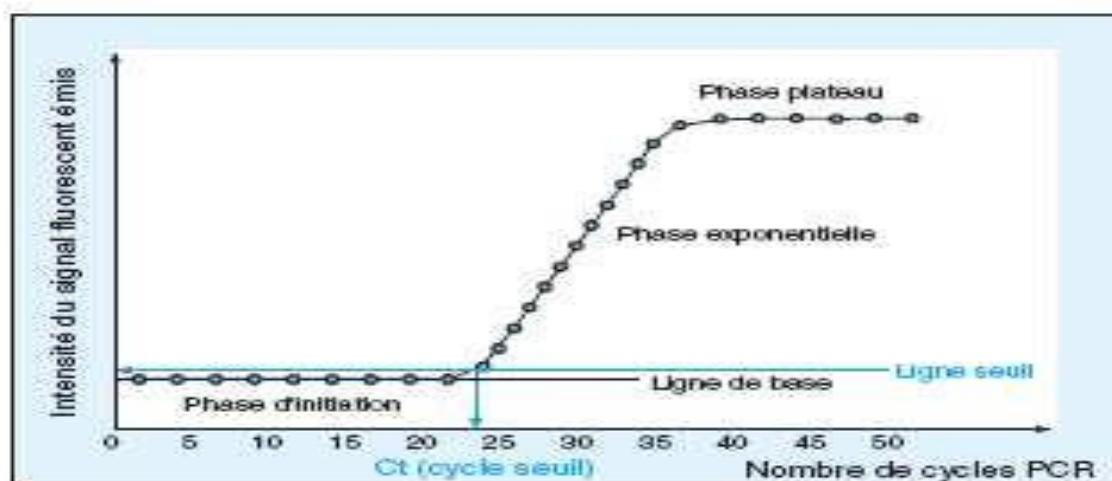


Figure 7 : Suivi en temps réel d'une réaction de PCR[39]

Source : Abbott. HIV/HCV2010

✓ **Les sondes fluorogéniques**

Une sonde fluorogénique est un fragment d'ADN mono-brin, non extensible par l'ADN polymérase, spécifique du fragment cible amplifié et portant un ou deux groupements fluorophores.

- a. À l'heure actuelle, les stratégies de détection les plus employées sont celles utilisant comme sonde fluorogénique, les sondes TaqMan™ ou sondes d'hydrolyse, les sondes FRET en tandem ou sondes LightCycler™ et les sondes Beacon™ ou sondes d'hybridation [38].

- Sonde d'hybridation partiellement Double brin (Sonde VIH)
- Sonde courte simple brin (sonde contrôle interne)

1



Figure 8 : Les sondes d'hybridation Abbott RealTime HIV-1[37]

✓ Description module *m2000rt* [40]

Les systèmes fonctionnant avec un thermocycleur, combinent une résistance électrique comme système de chauffage et un groupe froid comme système de refroidissement.

Le *m2000rt* est équipé d'un thermocycleur 96 puits muni d'un module thermoélectrique à effet Peltier et d'un couvercle chauffant contribuant à limiter la formation de gradients de température au sein des tubes.

Il est également composé d'une source lumineuse d'excitation et d'un système de détection allant capter les signaux de fluorescence émise. Les sources lumineuses d'excitation employées sont de trois types : source laser-argon, lampe électronique LED (*Light Emitting Diode*) et lampe halogène à filament de tungstène. L'émission de fluorescence est ensuite dirigée via les fibres optiques vers le système de détection.

Les signaux de fluorescence émis sont ensuite détectés par l'intermédiaire d'une caméra CCD Hamamatsu (*Charge Coupled Device*).

Le logiciel d'analyse *m2000* installé sur la station de travail informatique assure le pilotage du thermocyclage, l'acquisition et l'analyse des données brutes de fluorescence ainsi que l'exploitation de ces données pour obtenir le résultat final.

Tableau IV :Performance Abbott RealTime HIV-1 Quantitative AssayTM[40]

Source : Impact of genotypic drug resistance mutations on clinical and immunological outcomes in HIV-infected adults on HAART in West Africa. *AIDS* 2007, 21:1157-1164.

| | |
|-------------------------------|---|
| Sensibilité | 40 copies/ml |
| Plage linéaire | 40 à 10 millions copies/ml |
| Spécificité | > 99 % |
| Détection des sous-types | Tous les sous-types du groupe M, groupe N et groupe O |
| Echantillons | Plasma ACD et EDTA |
| Volume | Volume 1.0 ml (0.2 ml et 0.5 ml)* |
| Contrôle interne | ARN encapsulé |
| Calibration | 2 points |
| Précision | < 0.5 log copies/ml (IC à 95%) (E.T<0.15) |
| Préparation échantillon | m2000sp |
| Durée obtention des résultats | 5.5 heures |

| | |
|------------------------------|--|
| Format de rendu de résultats | Copies/ml, log copies/ml, IU/ml, log IU/ml |
| Standardisation | Standard VQA |
| Région ciblée | Région intégrase conservée du gène Pol |

* Marqué CE en Protocole 0,5 ml sensibilité 75 copies/ml.

Protocole 0,2 ml sensibilité 150 copies/ml

II. METHODOLOGIE :

1. Cadre et lieu d'étude :

Notre étude s'est réalisée dans le service de laboratoire d'analyse médicale/ Banque de Sang à l'hôpital de Sikasso.

1.1. Présentation de l'Hôpital de Sikasso :

L'hôpital de Sikasso couvre une superficie d'environ huit hectares et compte 15 services. Il occupe le 1^{er} rang dans la référence, ce qui le met au sommet de la pyramide sanitaire de la région. La structure est dotée de 3 missions (Soins, Formation, et Recherche). L'hôpital emploie 225 personnes et est géré par 3 organes :

-Un conseil d'administration

-Un comité de direction

-Et une direction générale.

1.2. Présentation du service de laboratoire /banque de sang :

1.2.1. Bloc du laboratoire

Rez-de-chaussée

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

1.2.2. 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 bureau pour le médecin ;
- 1 salle d'arrangement ;
- 1 aire de repos.

2. Type et période de l'étude :

Nous avons conduit une étude prospective longitudinale qui s'est déroulée de février 2015 à avril 2016.

3. Population d'étude :

Elle était constituée de tous les patients infecté par le VIH-1 ayant bénéficié d'une charge virale dans notre laboratoire pendant la période d'étude.

4. Critères d'inclusion :

Ont été inclus dans notre étude, tout patient infecté par le VIH-1 sous traitement ARV depuis plus de 6 mois. Patients d'origines diverses exposés au traitement ARV de plus de 6 mois ayant au moins une charge virale.

5. Critères de non inclusion :

Les patients infectés par le VIH-2 ;

Les patients ayant des dossiers incomplets ;

Les patients VIH 1 exposés au traitement ARV depuis moins de 6 mois ;

Les patients VIH 1 non traités aux ARV de plus de 6 mois de traitement.

6. Aspect d'éthique :

L'accord d'autorisation des dossiers par des autorités techniques administratives et le chef de service

L'anonymat et la confidentialité ont été respectés.

7. Paramètres étudiés :

Les variables mesurées étaient relatives aux données sociodémographiques (âge, sexe, profession statut matrimonial), virologiques (charge virale), thérapeutique (ARV), et le circuit du patient.

8. Organisation du local de Charge virale

L'unité de charge virale est subdivisée en 2 salles (salle 1 salle 2).

La salle 1 (S1) est dédiée à l'extraction des acides nucléiques et à l'ajout des acides nucléiques purifiés au master mix.

La salle 2 (S2) est uniquement réservée à la phase d'amplification et de détection.

8.1. Réactifs et matériels

Les réactifs et matériels ont été stockés dans une salle dénommée (salle de réactifs).

· Réactifs

- Réactifs d'extraction ARN : "*Abbott mSample Preparation System*

• Solution de lyse mLysis : 100 mmol/L de solution TRIS contenant du thiocyanate de guanidinium et du détergent (Tween 10%).

• Solution de lavage mWash1 : 50 mmol/L de solution acétate contenant du thiocyanate de guanidinium et du détergent (Tween)

• Solution de lavage mWash2 : eau sans RNases (nucléases) ;

• Tampon d'élution mElution : 20 mmol/L de solution phosphate avec conservateur ;

• Microparticules : 1,5% de microparticules (particules d'oxyde de fer

Fe₂O₃) dans 50% de solution de lyse ;

- Contrôles HIV: "*Abbott RealTime HIV-1 control kit*":

• CONTROL - = contrôle négatif, flacon de 1,8 ml de plasma humain négative, analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN

VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC;

• CONTROL + = "*Low Positive control*" (contrôle positif bas), flacon de 1,8 ml d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de

VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-

VIH-1/VIH-2 et anti-VHC;

• CONTROL ++ = "*High Positive control*" (contrôle positif fort), flacon de

1,8 ml d'ARN en capsulé non infectieux contenant des séquences de

VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-

VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;

- Calibrateurs HIV: "*Abbott RealTime HIV-1 calibrator kit*";

• CAL A = Calibrator A (Calibrateur A), flacon de 1,8 ml d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN

VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;

• CAL B = Calibrator B (Calibrateur A), flacon de 1,8 ml d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN

VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et

anti-VHC ;

- Ethanol 70%;

- Hypochlorite de sodium ;

- Eau distillée.

· Matériels et consommables

- Deux bains secs pour des tubes de 1,5 ml (75°C) et des tubes de 12 x

- Trois pissettes, une pour l'éthanol, une pour l'hypochlorite de sodium et une pour l'eau distillée ;

- Un chronomètre ;

- Des poubelles et sacs plastiques ;

- Deux congélateurs ;

- Des marqueurs de tubes ;

-Vortex ;

- Supports (portoires) magnétiques (rouge) pour des tubes de 12 x 75 mm

- Supports (portoires) magnétiques (bleu) pour tubes de 1,5 ;

- Portoires (4) non magnétiques pour les échantillons, les contrôles, les calibrateurs, les tubes de 1,5 ml et les tubes de 12 x 75 mm ;

- Portoires métalliques (2) pour contrôles et calibrateurs ;

-Multipettes plus ou micropipette à répétition ;

- Pipettes pasteur stériles à bout fin ;

- Supports de plaques optiques (supports anti-éclaboussures) ;
- Films optiques ou « *optical adhesive cover* » ;
- Applicateurs pour films optiques ou « *adhesive cover applicator* » ;
- Embouts Combitips plus de 10 ml ;
- Pointes à filtre de 1000 µL ; Pointes à filtre de 100 µL ;
- Tubes de 12 x 75 mm et des bouchons ; Tubes microfuges à bouchon à vis de 1,5 ml ;
- Tubes DNase/RNase free 1.5 ml de type Beckman ;
- Cryotubes DNase/RNase free de 2 ml pour la conservation des aliquotes

Salle1

- Réactifs :
 - Kit de réactifs d'amplification "*Abbott RealTime HIV-1 Amplification Reagent kit*"
 - Réactif 1 = 0,40 ml de réactif d'activation "Activation Reagent", 30 mm de solution de chlorure de manganèse ;
 - Réactif 2 = 1,10 ml de réactif d'oligonucléotides de VIH-1 = 4 amorces, 2 sondes et 1 oligonucléotide désactivateur, et de dNTPs dans une solution tampon contenant un fluorochrome de référence ;
 - Réactif 3 = 0,141 ml d'enzyme rTth polymérase thermostable dans une solution tampon. Toutes dans le réfrigérateur.

Salle 2

Equipements :

- "*m2000rt instrument system*" = Ordinateur + module d'amplification/détection;
- Une imprimante de marque OKI B4600 pour l'impression des résultats de charge virale ;
- Des onduleurs pour assurer un débit normal pour le thermocycleur, l'ordinateur et l'imprimante en cas de coupure d'électricité ;
- Réactifs
 - Kit de calibration optique qui comprend les éléments suivants :
 - 1 Plaque de calibration de la région d'intérêt (ROI) ; 96 puits, 0,1 ml/puits, 0,2 µL de fluorochrome dans une solution tampon ;
 - 1 plaque de comptage du bruit de fond ; 96 puits, 0,05 ml/puits, solution tampon ;
 - Plaques de fluorochromes purs (CyTM5, FAMTM, JOETM, NEDTM, ROXTM, SYBR®, TAMRATM et VIC®) ; 1 plaque par fluorochrome, 96 puits, 0,05 ml/puits, 0,2 µL de fluorochrome dans une solution tampon.
 - Ethanol 70% ;
 - Eau distillée et de l'hypochlorite de sodium.

- Matériels et consommables
- Micropipette de 100 μ L ;
- Pointes à filtres, RNase free 100 μ L ;
- Gants non poudrés ;
- Sacs poubelles;
- Ecouvillons.

8.2. Procédure de prélèvement de sang pour la charge virale

Prélever au niveau du pli du coude 5ml de sang veineux sur tube EDTA (Tube violet).

Le volume minimum à prélever 3 ml,

Stabilité avant la centrifugation : 6 heures,

Stabilité après la centrifugation : jusqu'à 24 heures entre 15 et 30° ;

Pour une durée prolongée une température inférieure ou égale à -20C°.

Centrifuger le plus rapidement possible et décantation impérative du plasma dans un tube de polypropylène.

Les échantillons étiquetés de plasma sont stocker à -80°C dans un congélateur.

8.3. Procédure de la technique

· Consignes de sécurité :

Prener les précautions universelles en tout temps. Tous les échantillons, y compris les contrôles, doivent être traités comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

L'équipement de protection du personnel (blouse, gants) est obligatoire.

· L'extraction des ARN du VIH-1

La préparation des échantillons a pour objectifs d'extraire et d'isoler les molécules cibles d'ARN, afin de rendre les cibles accessibles pour l'amplification, et d'éliminer tout inhibiteur potentiel de l'amplification de l'extrait. Le système de préparation des échantillons "Abbott *mSample*

Preparation system" utilise la technologie des particules magnétiques afin de capturer les acides nucléiques et laver les particules afin d'éliminer tout composant non lié de l'échantillon. Les acides nucléiques liés sont élués et transférés dans les tubes de 1,5 ml. Le contrôle interne est soumis à l'intégralité de la procédure de préparation des échantillons, avec les calibrateurs, les contrôles et les échantillons. Le temps moyen d'extraction quelques soit le nombre d'échantillons (24 ou 48) est de 1 heures.

Mode opératoire

La procédure d'extraction des ARN du VIH-1 est réalisée dans le

Salle 1.

1. Nettoyer le petit matériel avec de l'hypochlorite de sodium, puis à l'eau distillée et enfin à l'éthanol 70%. Utiliser du papier buvard pour le nettoyage ;
2. Allumer les bains à sec chauffant;
3. Décongeler les échantillons, les contrôles, les calibrateurs et le contrôle interne congelés à une température comprise entre -20°C et -80°.
4. Etiqueter tous les tubes (nombre requis pour la manipulation, de 24 à 52);
5. Préparer le tampon *mLysis* et ajouter 500 µL de contrôle interne par flacon de tampon de lyse;
6. Remettre les particules *mMicroparticules* en suspension en secouant doucement d'avant en arrière jusqu'à ce que les particules soient en suspension ;
7. Préparer les tampons de lavage *mWash 1* et *mWash 2* et le tampon d'éluion *mElution*;

8. **Lyse :**

Adapter un Combitips de 10 ml à la pipette à répétition ;

Ajouter rapidement 100 µL de particules *mMicroparticules* à chaque tube de 12 x 75 mm à l'aide d'une pipette à répétition ; et ajouter 2,4 ml (800 µLx 3);

Transférer les échantillons (prélèvements, calibrateurs et contrôles) vers les tubes de lyse la quantité étant fonction du protocole utilisé ;

Placer les tubes de lyse dans le bain sec chauffant à 50°C pendant 20 minutes.

9. Retirer les tubes du bain sec chauffant et placer-les dans le support de capture magnétique des tubes de 12 x 75 mm (rouge) pendant 2 mm

10. Retirer soigneusement le lysat de chaque tube ;

11. Premier lavage Wash 1 : Transférer les tubes de 12 x 75 mm vers un support non magnétique immédiatement après le retrait du tampon de lyse;

12. Retirer avec soins la solution de *mWash 1* de chaque tube à l'aide d'embouts de pipettes à filtre ;

13. Second lavage Wash 1 : Transférer les tubes 1,5 ml vers un portoir non-magnétique;

14. Retirer la solution de *mWash 1* et jeter le liquide

15. Premier lavage Wash 2 :

Transférer les tubes de 1,5 ml vers un portoir non-magnétique ajouter 700 µL de solution *mWash 2* dans chaque tube;

16. Retirer la solution de *mWash 2* et jeter le liquide

17. Second lavage Wash 2 : transférer les tubes de 1,5 ml vers un portoir non-magnétique;

Ajouter 700 µL de solution *mWash 2* dans chaque ;

18. Retirer la solution de *mWash 2* et jeter le liquide

19. **Elution :**

Transférer les tubes de 1,5 ml vers un portoir non-magnétique :

Ajouter 25 µL de tampon *mElution* dans chaque tube ;Incuber pendant 20 minutes ;

20. Retirer les tubes de 1,5 ml du bain chauffant et les transférer vers un portoir non magnétique ;

21. ajouter 63 µL de solution *mWash 2* ;

22. Placer les tubes de 1,5 ml dans un support de capture magnétique (bleu) jusqu'à la fin de la préparation du master mix ;

23. Ensuite transférer les éluât vers les tubes 1.5 mL DNase/RNase free de type Beckman correspondants en faisant attention à ne pas toucher aux microparticules.

Cette étape se déroule au niveau du secteur 2. Changer de gants après l'étape 2. Si on effectue une série de 24 à 48,

1. Retirer le coffret-réactifs de dosage du congélateur et les décongeler à une température entre 15 et 30°C ou 2 et 8°C;

2. Préparation du master mix :

Mélanger par aspiration et ajouter 271 µL du réactif d'activation VIH-1

(Réactif 1) dans le flacon d'enzyme ADN rTth polymérase thermostable (Réactif 3);

Mélanger par aspiration et ajouter 949 µL du réactif d'oligonucléotides VIH-1 (Réactif 2) dans le flacon d'enzyme ADN rTth polymérase thermostable (Réactif 3), puis mélangé;

3. Pipeter le master mix contenu dans le flacon d'enzyme dans un tube DNase/RNase free;

Distribution du master mix dans les puits de la plaque de réaction ;

1. Retirer la base et couvercle "*StrataCooler96*" (conserver à -20°C) ;

2. Placer une plaque de réaction optique à 96 puits Abbott dans le "*StrataCooler96*" ;

3. distribuer le master mix, distribuer des aliquots de 50 µL dans la plaque à 96 puits en allant du puits A à H et de A1 à A12.

4. vérifier visuellement le niveau de remplissage ;

· Préparation de l'amplification

Cette étape est réalisée dans le secteur 1.

1. Addition de l'ARN :

Transférer 50 µL d'échantillon vers la plaque à 96 puits placés sur le "*StrataCooler96*"

2. Vérifier visuellement le niveau de remplissage;

3. Sceller la plaque à 96 puits;

4. Séparer les bandes situées sur les bords en utilisant la ligne perforée ;

5. Retirer la plaque à 96 puits du "*StrataCooler96*" et transférer vers la zone d'amplification (Salle 2).

· **Amplification/détection**

Amplification :

Au cours de l'amplification sur le *m2000rt*, l'ARN cible est converti en ADNc grâce à l'activité de transcription inverse de la polymérase thermostable rTth ADN. En premier lieu, les amorces 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. 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.

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 de s'étendre lorsque la température baisse. L'amplification exponentielle du produit est réalisée grâce aux cycles répétés entre températures élevées et basse pour obtenir une amplification des séquences cibles d'un milliard ou plus. Les deux cibles (VIH-1 et le contrôle interne) sont amplifiées simultanément au cours de la même réaction.

Détection : pendant les cycles de lecture sur le *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 du VIH-1 et du contrôle interne avec leurs cibles (détection par fluorescence en temps réel). La sonde VIH-1 possède une fraction fluorescente liée de manière covalente à l'extrémité 5' (sonde FAMTM). Un oligonucléotide court (Quencher = TAMRATM) est complémentaire de l'extrémité 5' de la sonde VIH-1 et possède une molécule de désactivation à son extrémité 3'. En présence d'une séquence cible du VIH-1, la sonde du VIH-1 s'hybride de préférence avec la séquence cible, la dissociant du "Quencher" et permettant ainsi la détection de la fluorescence. La sonde du contrôle interne est un oligonucléotide ADN simple brin comportant un fluorophore à l'extrémité 5' (VIC®) et un "Quencher" (TAMRATM) à l'extrémité 3'. En l'absence de séquences cibles du contrôle interne, la fluorescence des sondes est désactivée. Si des séquences cible du contrôle interne sont présentes, l'hybridation des sondes avec des séquences complémentaires sépare le fluorophore du quencher et permet l'émission d'une fluorescence qui sera détectée. Les sondes du VIH-1 et celles du contrôle interne sont chacune marquées avec un fluorophore 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 le *m2000rt*, est proportionnel au log de la concentration d'ARN VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. La durée des étapes de l'amplification n'est pas fonction du nombre d'échantillons et est de 3 heures.

Calibration optique :

La calibration du système doit être active après l'installation du *m2000rt* et refaite après 1000 heures d'usage de la lampe ou en cas de changement de celle-ci. Le kit peut être utilisé jusqu'à 10 fois. Les calibrations effectuées sur le *m2000rt* après l'installation sont les suivantes :

- la calibration de la lampe ;
- la calibration de la région d'intérêt (ROI) ;
- la calibration de l'uniformité (Uniformity);
- la calibration du comptage du bruit de fond (Background);
- les calibrations des fluorochromes purs (VIC®, TAMRATM, ROXTM, FAMTM)

Calibration du dosage :

Une calibration du dosage, analysant deux calibrateurs de dosage en répliques de trois pendant une série d'analyse d'échantillons, est requise pour quantifier la concentration d'ARN du VIH-1 des échantillons et des contrôles, générer une courbe de calibration

(Concentration en VIH-1 versus cycle seuil auquel un niveau réactif de signal fluorescent est détecté). La pente de la courbe de calibration et l'ordonnée à l'origine sont calculées et enregistrées sur l'appareil. La concentration en ARN du VIH-1 d'un échantillon est calculée à partir de la courbe de calibration enregistrée. Une calibration du dosage est effectuée à l'installation du *m2000rt* et à chaque nouveau lot de réactifs d'extraction ("*mSample Preparation System*").

- Procédure de démarrage de l'amplification et de détection

Cette étape est réalisée dans la zone d'amplification (Salle 2).

L'ordinateur et le module *m2000rt*, doivent être démarrés 30 minutes avant (Cela peut être réalisé pendant la phase d'incubation de l'éluion).

1. Demandes de dosage: les demandes de dosage sont définies en fonction des plaques.
2. Démarrer l'amplification et la détection ;

- Procédures post-traitement

Zones de préparation des échantillons et des réactifs

1. Au moment du traitement des échantillons, les consommables sont jetés dans un sac plastique hermétique (autoclavable) ;
2. Retirer les tubes de 1,5 ml du plan de travail et les jeter dans un sac en plastique hermétique ;
2. Décontaminer les paillasses ainsi que tout le petit matériel à l'hypochlorite de sodium, puis à l'eau distillée et enfin à l'alcool 70%. Utiliser du papier buvard pour le nettoyage ;
3. Nettoyer le "*StrataCooler96*" avec uniquement de l'éthanol 70% et le ranger dans le réfrigérateur suivant le mode de conservation ;
4. Nettoyer la base de support anti-éclaboussures en la plongeant dans de l'hypochlorite de sodium pendant au moins 15 minutes, la nettoyer ensuite à l'eau distillée et à l'éthanol 70%.

Zone d'amplification

Retirer la plaque de réaction optique à 96 puits profonds du plan de travail et la placer dans un sac plastique hermétique ainsi que les gants ayant servi à la manipulation.

· Interprétation et rendu des résultats

Les résultats sont automatiquement rendus sur la station de travail *m2000rt*. Ils sont exprimés en copies/ml, et log /ml.

Collectes des données :

Après l'admission du médecin et du pharmacien, nous avons consulté tous les dossiers des patients et élaboré une fiche d'enquête qui a servi d'outil de collectes des données, procédé par la suite à un dépouillement des dossiers de suivi des patients et nous avons sélectionné des dossiers répondants à nos critères d'inclusion. Il s'agit d'un échantillonnage exhaustif

Les résultats ont été imprimés en détails (copies/ml et log/ml]), enregistrés dans le registre et le tableur Excel de CV et ensuite gardés aux archives. Bien avant cette dernière opération, les informations sur le patient ainsi que les résultats (copies/ml et log/ml) ont été reportés sur une fiche de résultat (Microsoft Word) avec un en-tête (fiche de demande de charge virale : Hopital de Sikasso) qui sera signée par un responsable de l'unité et envoyée au site de provenance de la demande.

Supports des données :

Les données obtenues après l'analyse des dossiers (Fiche d'enquête) ont été saisies à l'aide des logiciels Microsoft Word et Excel 2007 et analysées par le logiciel Epi Info 7.

III. RESULTATS :

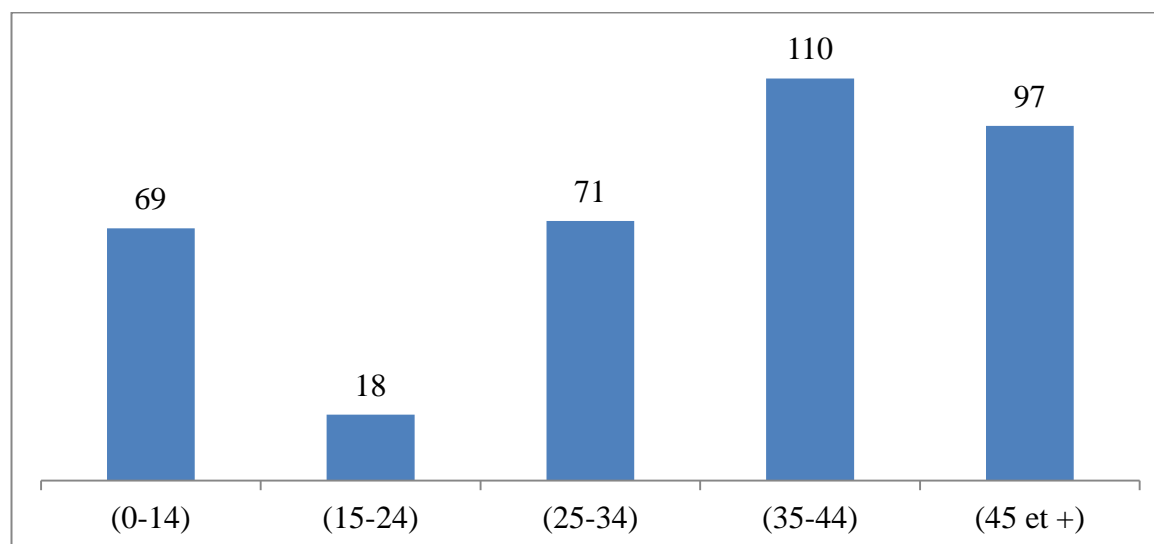
1. Resultats globaux

Notre étude a porté sur 365 patients suivis dans les services de l'Hôpital de Sikasso (médecine et pédiatrie), au CERKES et à l'USAC de Koutiala. Nous avons conduit une étude prospective longitudinale qui s'est déroulée de février 2015 à avril 2016.

La tranche d'âge 35- 44 ans était la plus représentée. Les femmes étaient majoritaires avec un sexe ratio 0,6. La plus part des patients étaient marié. Le Protocole thérapeutique le plus utilisé comprenait **2INTI + 1INNTI** et un taux d'échec virologique était de 21,4% au terme de notre étude. Les 77% des patients résidaient dans la ville de SIKASSO.

2. Resultats descriptifs

Tableau I : répartition des patients en fonction de l'âge



La tranche d'âge 35-44 ans était la plus représentée avec 44%.

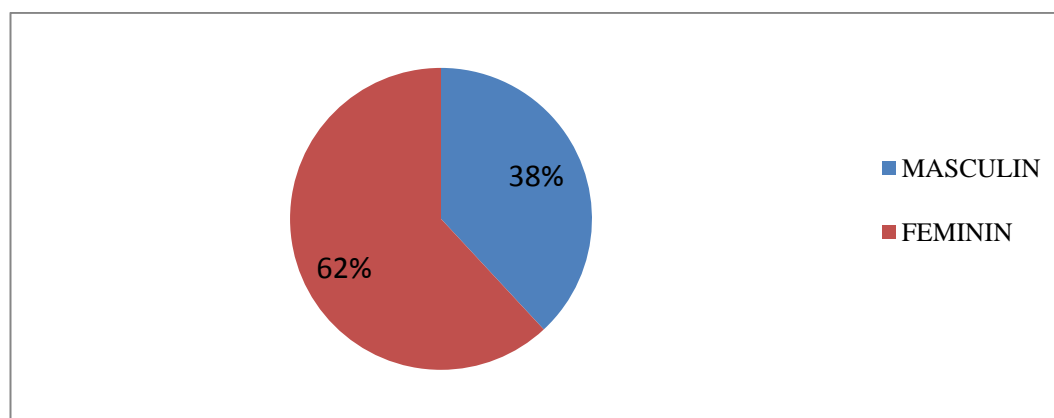


Figure 9: répartition des patients selon le sexe

Les femmes étaient majoritaires avec un sexe ratio 0,6.

Tableau V I : répartition des patients en fonction de la profession

| Profession | Effectif | Pourcentage |
|-------------|----------|-------------|
| Ménagère | 126 | 34,5 |
| Cultivateur | 29 | 7,9 |

| | | |
|-------------------|------------|--------------|
| Commerçant | 64 | 17,5 |
| Salarié | 20 | 5,5 |
| Manœuvre | 10 | 2,7 |
| Elève | 46 | 12,6 |
| Enfant | 37 | 10,1 |
| Chauffeur | 33 | 9,04 |
| TOTAL | 365 | 100,0 |

La couche socio professionnelle la plus représentée était les ménagères avec 34,5 % suivis des commerçants 17,5% des cas.

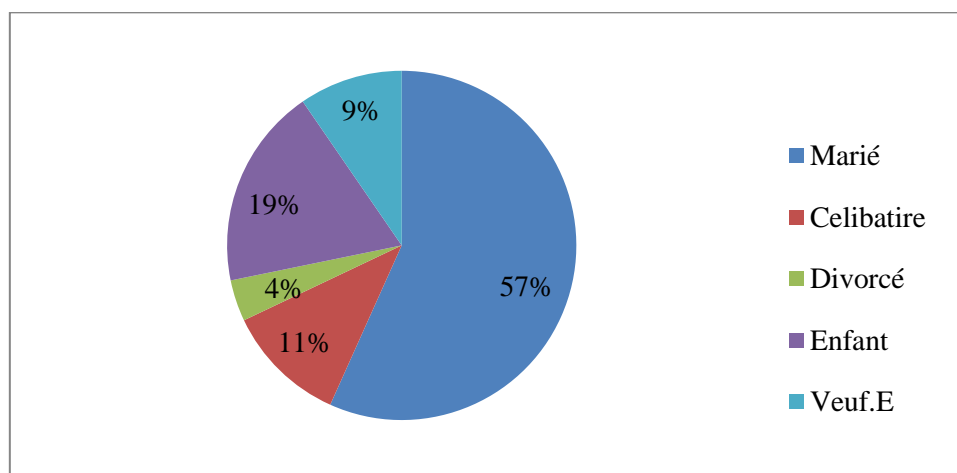


Figure 10: répartition des patients selon le statut matrimonial

Dans la population d'étude, 57% des cas étaient mariés suivi des enfants avec 19% des cas.

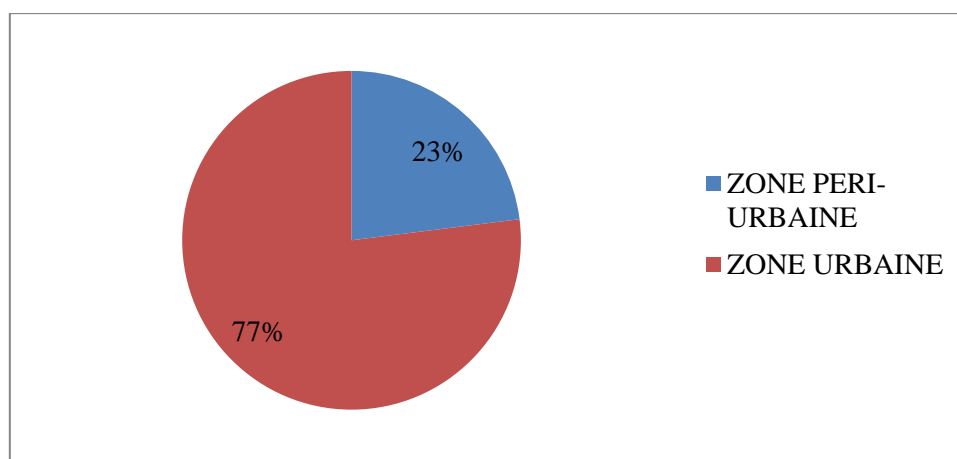


Figure 11 : répartition des patients selon la résidence

Les patients résidant dans la zone urbaine étaient plus représentés avec 77 %.

Tableau VI : répartition des patients selon le schéma actuel

| Schéma actuel | Effectif | Pourcentage |
|---|------------|--------------|
| Abacavir+Lamivudine+Efavirenz (ABC+3TC +EFV) | 13 | 3,6 |
| Tenolam/Kaletra (TDF+3TC+LPV/r) | 11 | 3,0 |
| Duovir/Kaletra (AZT+3TC+LP/r) | 17 | 4,7 |
| Duovir-N (AZT+3TC+NVP) | 39 | 10,7 |
| Trioday (TDF+3TC+EFV) | 285 | 78,1 |
| TOTAL | 365 | 100,0 |

Les patients sous le schéma thérapeutique (TDF+3TC+EFV) étaient les nombreux soit 78%.

Tableau VII : répartition des patients selon la durée du traitement

| Mois | Effectif | Pourcentage |
|---------------|------------|--------------|
| +6 | 42 | 11,5 |
| 12 | 38 | 10,4 |
| 18 | 44 | 12,1 |
| 24 | 43 | 11,8 |
| >24 | 198 | 54,2 |
| TOTAL | 365 | 100,0 |

Les 54,2% des patients étaient à plus de 2 ans de traitement antiretroviral.

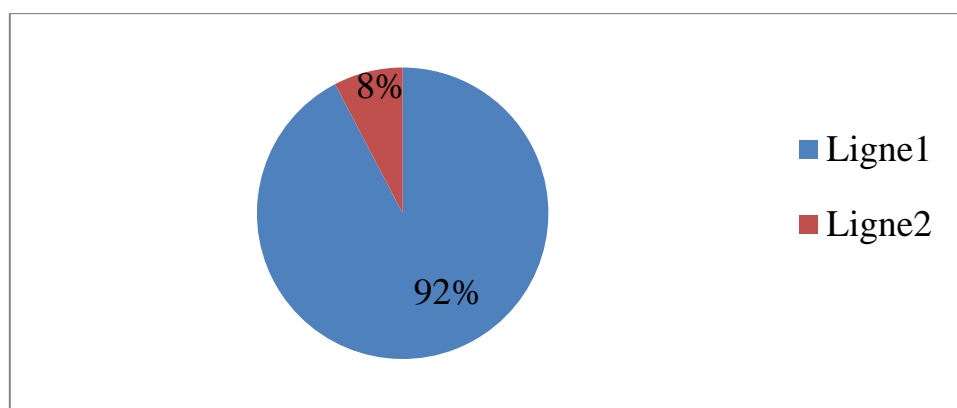


Figure 12 : répartition des patients selon la ligne de traitement ARV

Les 92% de nos patients étaient en 1^{ère} ligne traitement.

Tableau VIII: répartition des patients selon le service demandeur

| Service | Effectif | Pourcentage |
|----------------------|------------|-------------|
| Hôpital | 128 | 35,1 |
| CERKES | 149 | 40,8 |
| USAC-KOUTIALA | 79 | 21,6 |
| Cs-réf | 9 | 2,5 |
| TOTAL | 365 | 100 |

Les 40,8% de nos patients sont suivis au CERKES.

Tableau IX : répartition des patients selon la charge virale

| CVp en copies/ml | Effectif | Pourcentage |
|------------------|------------|--------------|
| <40 | 240 | 65,8 |
| 40-999 | 47 | 12,9 |
| ≥1000 | 78 | 21 |
| TOTAL | 365 | 100,0 |

Le taux d'échec virologique était de 21%.

Tableau X : répartition des charges virales Plasmatique en fonction de l'âge

| CVp (copies/ml) | ≥1000 | | <1000 | | TOTAL | |
|-------------------|------------|-------------|------------|-------------|------------|--------------|
| Age/ans | Nbre | % | Nbre | % | Nbre | % |
| 0-14 | 31 | 44,9 | 38 | 55 | 69 | 100,0 |
| 15-24 | 7 | 38,9 | 11 | 61,1 | 18 | 100,0 |
| 25-34 | 26 | 36,6 | 45 | 63,4 | 71 | 100,0 |
| 35-44 | 33 | 30 | 77 | 70 | 110 | 100,0 |
| 45 et plus | 28 | 28,9 | 69 | 77,1 | 97 | 100,0 |
| TOTAL | 125 | 34,3 | 240 | 65,7 | 365 | 100,0 |

Parmi les 240 personnes qui sont indétectables la tranche d'âge 35 - 44 ans était les plus représentées avec 65,7 %.

Tableau XI : répartition des patients selon la charge virale et le sexe

| CVp (copies/ml) | ≥1000 | | <1000 | | TOTAL | |
|-----------------|------------|--------------|------------|-------------|------------|--------------|
| Sexe | Nbre | % | Nbre | % | Nbre | % |
| Masculin | 50 | 35,9 | 89 | 64 | 139 | 100,0 |
| Féminin | 75 | 33,2 | 151 | 66,8 | 226 | 100,0 |
| TOTAL | 125 | 34,25 | 240 | 65,7 | 365 | 100,0 |

151 patients des 240 patients indétectables étaient de sexe féminin soit 66,8%.

Tableau XII : répartition des patients selon la charge virale et la résidence

| CVp (copies/ml) | ≥1000 | | <1000 | | Total | |
|--------------------------|------------|--------------|------------|--------------|------------|--------------|
| Résidence | Nbre | % | Nbre | % | Nbre | % |
| Zone urbaine | 99 | 35,23 | 182 | 64,7 | 281 | 100,0 |
| Zone Peri urbaine | 26 | 30,95 | 58 | 69,05 | 84 | 100,0 |
| TOTAL | 125 | 34,3 | 240 | 65,7 | 365 | 100,0 |

Parmi les 240 personnes indétectables 182 patients résidaient dans la commune urbaine.

Tableau XIII : Répartition des Charges virales plasmatique en fonction de la durée de traitement antirétroviral

| Mois | + 6 | | 12 | | 18 | | 24 | | >24 | | Total |
|------------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|-----------|------------|------------|------------|------------|
| | Nbre | % | Nbre | % | Nbre | % | Nbre | % | Nbre | % | |
| CVp | | | | | | | | | | | |
| Copies/ml | | | | | | | | | | | |
| <40 | 27 | 64,3 | 27 | 71,1 | 33 | 75 | 26 | 60,5 | 127 | 64,1 | 240 |
| 40-999 | 6 | 14,3 | 5 | 13,2 | 3 | 6,8 | 5 | 12 | 28 | 14,1 | 47 |
| ≥1000 | 9 | 21,4 | 6 | 15,8 | 8 | 18,2 | 12 | 28 | 43 | 22 | 78 |
| Total | 42 | 100 | 38 | 100 | 44 | 100 | 43 | 100 | 198 | 100 | 365 |

43 des 198 patients avaient une charge virale ≥ 1000 copies à M ≥ 24

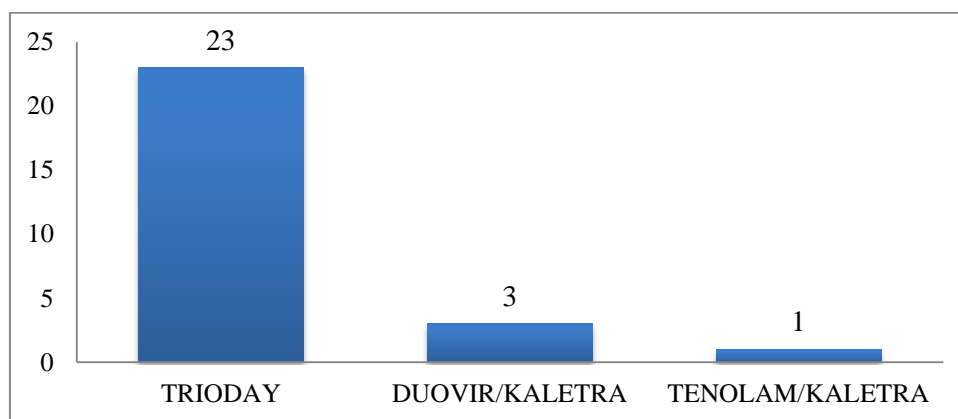


Figure 13 : Répartition des charges virales < 40 copies/ml en fonction du traitement M6

64,3% des patients à M6 étaient indétectable avec 85% sous TRIODAY(TDF+3TC+EFZ).

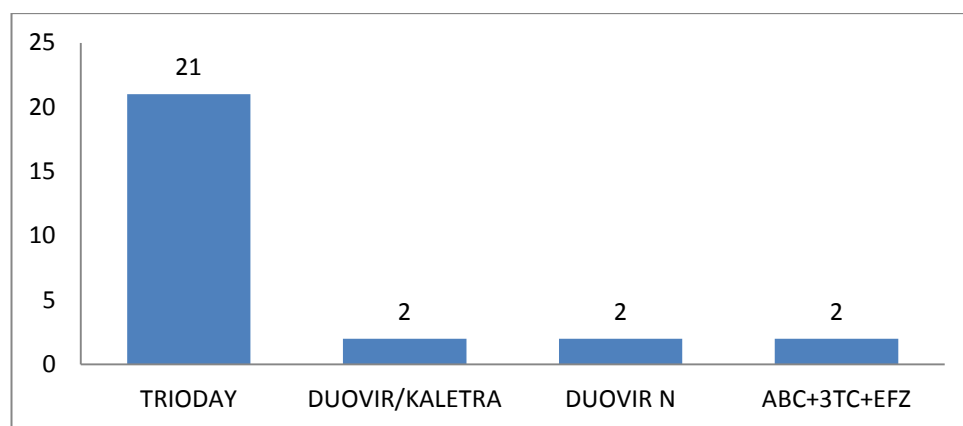


Figure 14 : Répartition des charges virales < 40 copies/ml en fonction du traitement à M12

71% des patients à M12 étaient indétectable avec 78% sous TRIODAY.

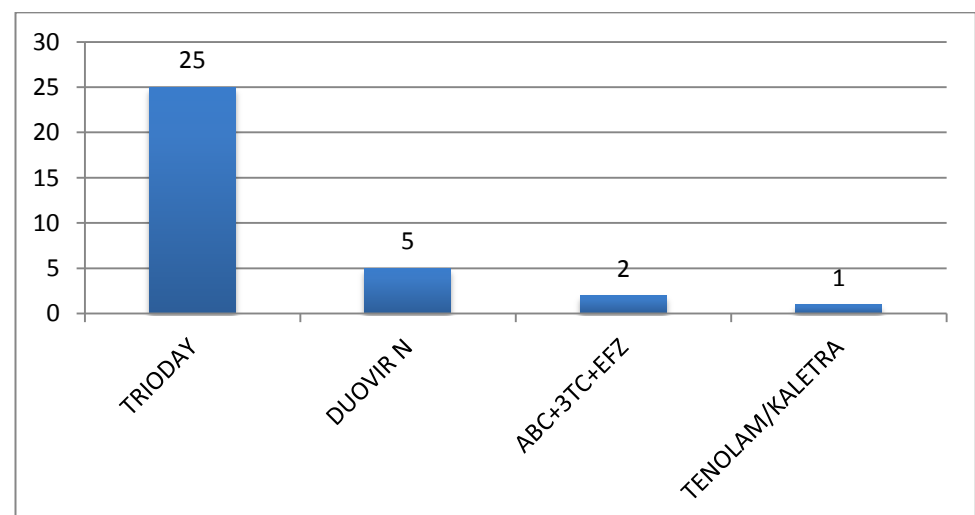


Figure 15: Répartition des charges virales < 40 copies/ml en fonction du traitement à M18

75% des patients à M18 étaient indétectable avec 75% sous TRIODAY

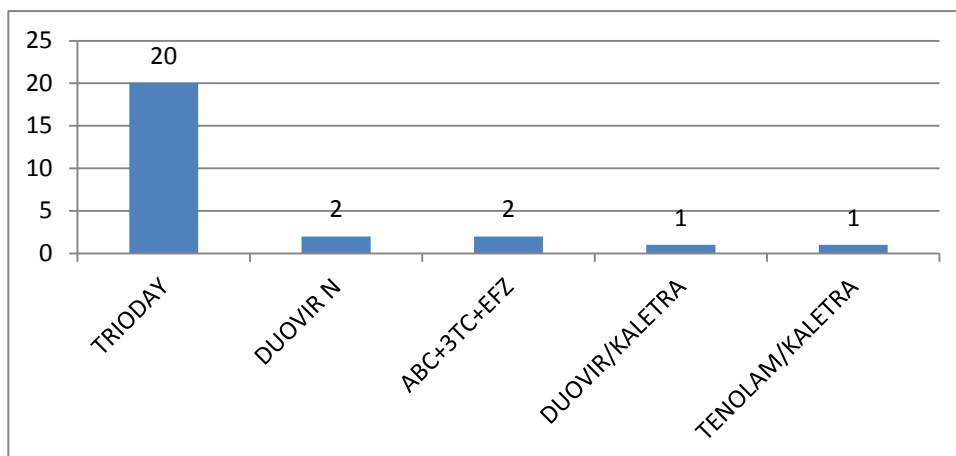


Figure 16 : Répartition des charges virales <40 copies/ml en fonction du traitement à M24

61% des patients à M24 étaient indétectable avec 77% sous TRIODAY

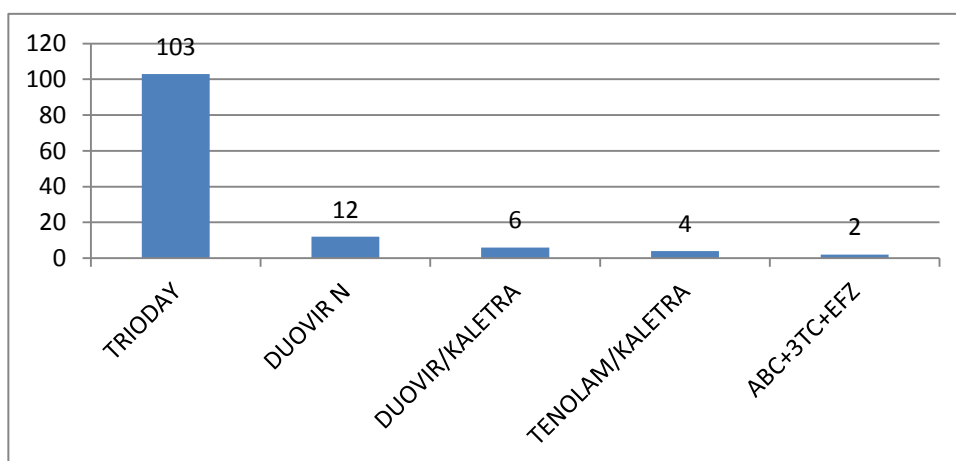


Figure 17 : Répartition des charges virales <40 copies/ml en fonction du traitement à M>24

64% des patients à M>24 étaient indétectable avec respectivement 81% sous TRIODAY.

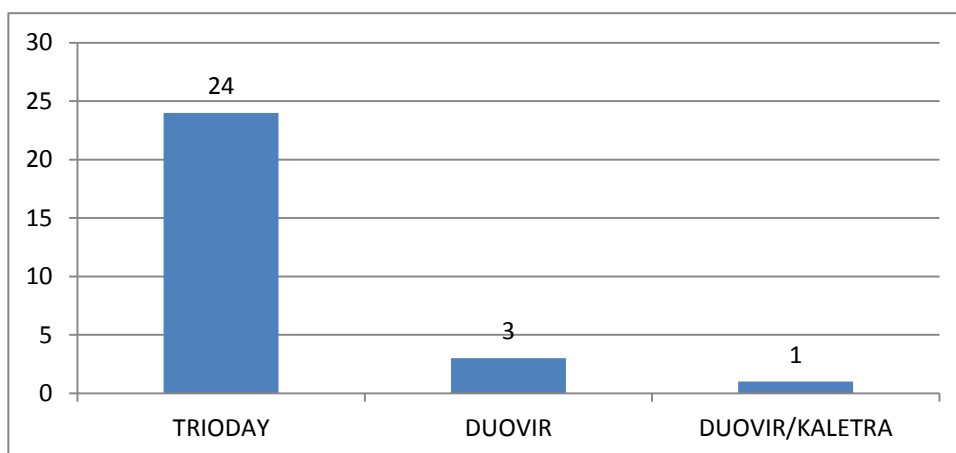


Figure 18 : Répartition des charges virales comprises entre 40-1000 copies/ml en fonction du traitement à M>24

28 patients à M>24 avaient une charge virale entre 40-999copies/ml dont 86% sous TRIODAY

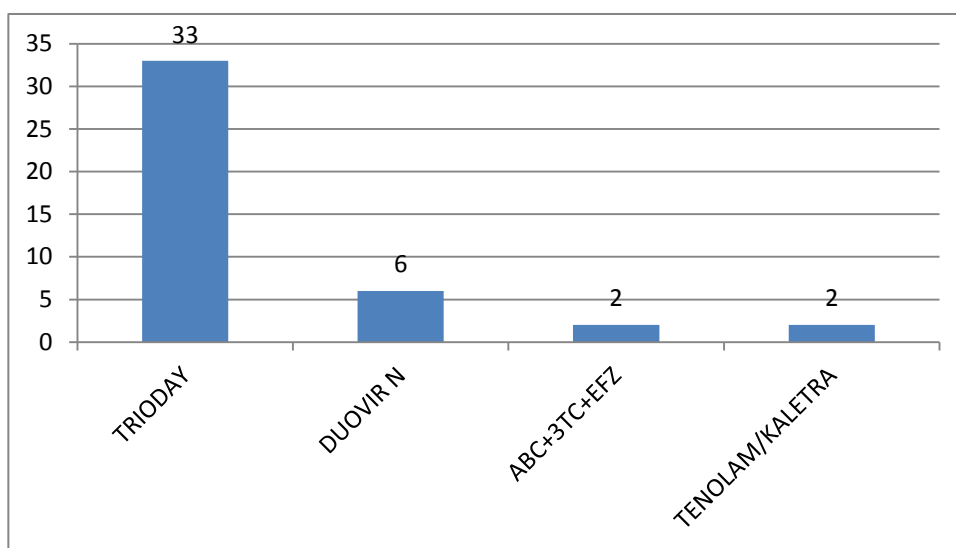


Figure 19 : Répartition des charges virales ≥ 1000 copies/ml en fonction du traitement à M>24

La prévalence de charge virale détectable à M>24 était de 22% (43 patient) parmi lesquels 77% sous TRIODAY.

IV. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Les caractéristiques sociodémographiques :

Les femmes représentaient 62% de notre population d'étude. Ceci est inférieur à celui d'A. Balde avec (P = 0,009) [41]. Testa et al. ont aussi trouvé une forte prévalence des femmes dans leur étude sur l'évolution des CV des patients suivis au CESAC, Bamako (Mali) soit 70,7% de leur population d'étude [42].

La tranche d'âge 35-44 ans était la plus représentée avec 44%. Ce résultat est comparable de celui Balde au Mali [41].

La plupart de nos patients résidaient dans la zone urbaine (77%). Cela pourrait s'expliquer par la situation géographique du site d'étude. L'Hôpital de Sikasso étant un centre régional qui reçoit également plusieurs cas de référence des autres centres de santé.

Nos résultats sont comparables à celui de Ballo qui avait trouvé 86,6% dans le cercle de Sikasso contre 13,4% dans la région de Sikasso avec une proportion (P = 0,13) [43].

Les ménagères ou femmes au foyer étaient les plus nombreuses avec 35%.

Doumbia, Maiga My, Guindo A., Fofana O, Konaré, ont tous rapporté des résultats dans le même sens [44 45].

Cela pourrait s'expliquer par le fait que les ménagères sont très vulnérables sur le plan économique et également on note un faible taux d'alphabétisation dans cette couche sociale.

6.4. Le traitement antirétroviral

La majorité des patients de cette étude étaient traités à base des combinaisons contenant 2 INTI associés à un INNTI. Trioday (TDF+3TC+EFV) suivi du Duovir N (AZT+3TC+NVP) ont été les schémas le plus prescrit à nos patients (78%, et 11% des prescriptions) et a été prescrit comme traitement de 1^{ère} ligne. Ces données sont conformes aux recommandations de la politique et protocole de prise en charge des PV VIH au Mali 2016 [4]. Plus de la moitié des patients sous traitements avaient plus de 24 mois. La combinaison TDF + 3TC +EFV continuera à son ascension car les nouvelles recommandations de l'OMS l'ont retenue comme traitement de première choix en 1^{er} intention chez l'adulte et l'adolescent [46]

6.5. Charge virale plasmatique

Sur les 365 patients de notre étude, 240 patients étaient indétectables soit 66%, 13% avaient une CV située entre 40-999 copies/ml et (78 patients) étaient détectables soit 21,4%. Les charges virales plasmatiques sont assez élevés (21,4% \geq 1000 copies/ml)

Ceci peut expliquer par l'inobservance ou des arrêts de traitement ARV ou la présence de mutations de résistance chez nos patients.

Notre étude est comparable à celui de Gora. et al ont trouvé 56,2% d'indéfectabilité et 31,2% de détectabilité dans une étude à Dakar sur l'efficacité virologique du traitement antirétroviral par la mesure de la charge virale avec des seuils d'indéfectabilité (< 40 copies/mL) et de détectabilité (> 1000 copies/ml) [47].

Au Mali, la politique nationale de prise en charge antirétrovirale recommande de vérifier l'observance et de procéder à un contrôle de la CV trois mois plus tard face à une CV comprise entre 50-1000 copies/mL [4].

Evolution des charges virales à six (6) mois de suivi sous traitement ARV

Au total 42 Patients étaient sous traitement ARV durant 6 mois, parmi lesquels 27 soit 64,3% étaient indéfectables, 6 (14,3%) avaient une CV entre 40-1000 copies/ml et 9 (21,4%) était en échec virologique.

Balde a trouvé dans son étude sur l'évolution des charges virales chez les patients suivi au SEROFO de Bamako depuis 2011 que 61% étaient indéfectable (P= 0,71), 14% avaient la CV entre 50-1000 copies/ml (P = 0,92) et 24,1% avaient une CV > 1000 copies/ml (P = 0,7[41].

Le régime TRIODAY (TDF +3TC+EFV) représentait 85% des patients indéfectable suivi de DUOVIR (AZT+3TC+NVP) 11%. Ces données sont conformes aux recommandations de la politique et protocole de prise en charge des PV VIH au Mali 2016 [4].

Le TRIODAY représentait les pourcentages les plus élevées de traitement ARV chez les 6 patients qui avaient une CV comprises 40-999 copies/ml à 6 mois.

La prévalence de l'échec à 6 mois de traitement était de 21,4% dont la majoritaire (67%)

était sous TRIODAY. Ce résultat est légèrement inférieur à celui de **Balde** qui a trouvé chez des patients d'un an de traitement ARV, respectivement 24,1% d'échec (seuil >1000 copies/ml (P = 0,7) [41].

Evolution des charges virales à un (1) an de suivi sous traitement ARV

Au total 38 Patients étaient sous traitement ARV durant un an, parmi lesquels 27 soit 71,5% étaient indéfectables, 5 (13,2%) avaient une CV entre 40-1000 copies/ml et 6 (15,8%) était en échec virologique.

Balde a trouvé dans son étude sur l'évolution des charges virales chez les patients suivi au SEROFO de Bamako depuis 2011 que 61% étaient indéfectable (P =0,24), 14% avaient la CV entre 50-1000 copies/ml (P = 0,92) et 24,1% avaient une CV > 1000 copies/ml (P = 0,33) [41].

Le régime TRIODAY (TDF +3TC+EFV) représentait 78 % des patients indéfectable. Ces données sont conformes aux recommandations de la politique et protocole de prise en charge des PV VIH au Mali 2016 [4].

Le TRIODAY représentait les pourcentages les plus élevées de traitement ARV chez les 5 patients qui avaient une CV comprises 40-999copies/ml à un an.

La prévalence de l'échec à 12 mois de traitement était de 15,8% dont les 100% était sous TRIODAY. Ce résultat est légèrement inférieur à celui de **Balde** qui a trouvé chez des patients d'un an de traitement ARV, respectivement 24,1% d'échec (seuil >1000 copies/ml (P = 0,7) [41].

Evolution des charges virales à Dix-huit (18) mois de suivi sous traitement ARV

Parmi les 44 patients suivis avec une durée de traitement de 18 mois, 33 (75%) étaient indétectables, 3 (7%) avaient une CV entre 40-1000 copies/ml et 8 (18,2%) avaient une CV >1000 copies/ml. **Testa**. Ont montré une stabilité de jusqu'à 4ans de suivi de leur étude au CESAC au Mali [42].

Le régime TRIODAY représentait 75% des 33 patients indétectables. Ces données sont conformes aux recommandations de la politique et protocole de prise en charge des PV VIH au Mali 2016 [4].

Les 3 patients qui avaient une CV entre 40-1000 copies/ml étaient cent pour cent (100%) sous TRIODAY La prévalence de l'échec virologique des patients suivis à 18mois de traitement était de 18,2 dont la majorité était sous TRIODAY. Ce résultat est supérieur à celui de **Seyler** .qui ont trouvé chez des patients d'un an de traitement ARV, respectivement 24,1% d'échec (seuil \geq 1000 copies/ml [40].

Evolution des charges virales à vingt-quatre (24) mois de suivi sous traitement ARV

Parmi les 43 patients suivis avec une durée de traitement de 24 mois, 26 (60,4%) étaient indétectables, 5 (12%) avaient une CV entre 40-1000 copies/ml et 12 (28%) avaient une CV >1000 copies/ml. Testa et al. Ont montré une stabilité de jusqu'à 4ans de suivi de leur étude au CESAC au Mali [42].

Le régime TRIODAY représentait 77% des 43 patients indétectables. Ces données sont conformes aux recommandations de la politique et protocole de prise en charge des PV VIH au Mali 2016 [4].

Les 5 patients qui avaient une CV entre 40-1000 copies/ml étaient quarante pour cent (40%) sous DUOVIR

La prévalence de l'échec virologique des patients suivis avec une durée de traitement de 24 mois était de 28% dont la majorité était sous TRIODAY soit 77%. **Péré** Ont trouvé 28,5% d'échec virologique dans leur étude à Bangui au Centrafrique [48].

Evolution des charges virales à plus de vingt-quatre (≤ 24) mois de suivi sous traitement ARV

198 Patients étaient à plus de 2 ans de traitement ARV, 127 (64%) étaient indétectables, 28(14,1%) avaient une CV entre 40-1000 copies/ml et 43 (21,72%) avaient une CV supérieure à 1000copies/ ml.

Balde a trouvé dans son étude sur l'évolution des charges virales chez les patients suivi au SEROFO de Bamako depuis 2011 que 61% étaient indétectable, 14% avaient la CV entre 50-1000 copies/ml et 24,1% avaient une CV > 1000 copies/ml [41].

Le régime TRIODAY (TDF +3TC+EFV) représentait 81% des patients indétectable. Ces données sont conformes aux recommandations de la politique et protocole de prise en charge des PV VIH au Mali 2016 [4].

Le TRIODAY représentait les pourcentages les plus élevées de traitement ARV chez les 28 patients qui avaient une CV comprises 40-1000copies/ml à 24 mois.

La prévalence de l'échec à 24 mois de traitement était de 21,7% dont la majoritaire (86%) était sous TRIODAY. Ce résultat est légèrement inférieur à celui de **Balde** qui a trouvé chez des patients d'un an de traitement ARV, respectivement 24,1% d'échec (seuil >1000 copies/ml [41].

Limites de notre étude :

Les 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 et des données biologiques de la fiche de demande, 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.

V. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS:

1. Conclusion :

Au terme de notre étude prospective qui s'est déroulée de février 2015 en avril 2016 dans le service du Laboratoire / Banque de sang de l'Hôpital de Sikasso, et qui portait sur 365 patients tous séropositifs et sous ARV.

Nos résultats montrent que le nombre de patients ayant une charge virale supérieure à 1000 copies/ml à M6, M12, M18, M24 et M \geq 24 étaient respectivement de 21,4 %, 16 %, 18,2 %, 28 % et 22%.

- Un taux de 66% de charge virale indétectable était observé contre 29,3% détectable.
- La tranche d'âge 35- 44 ans était la plus représentée
- Les femmes étaient les plus représentées avec 62%
- La majorité des patients étaient mariés
- le Protocole thérapeutique le plus utilisé était **2INTI + 1INNTI**

2. Recommandations :

Au vu de ces résultats, nous formulons les recommandations suivantes :

Aux autorités sanitaires et administratives :

- ✓ Faciliter l'accès des tests de charge virale aux patients à l'inclusion pour prévenir les échecs virologiques,
- ✓ L'approvisionnement régulier, correct des réactifs et consommables pour la charge virale, pour un meilleur suivi virologique.
- ✓ Recycler et former le personnel de laboratoire pour la bonne pratique.

Aux Patients sous ARV :

Observer les posologies et les heures de prise des médicaments.

Références

1. Rapport ONU/SIDA sur l'épidémie mondiale de SIDA.2015.
2. Samaké S, Traoré SM, et al. Enquête Démographique et de Santé Mali-V, EDM-V; 2012.
- 3.Yeni P (coord.). Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH.
- 4.Politique et protocole de prise en charge des PV VIH au Mali, version 2016
- 5.www.I France.Com/arb@htm.Historique du VIH/Sida.
- 6.CASSUTO JP, PESCEA, QUARANTA JF
Sida et infection VIH. 3ème Ed. Paris Masson 1996 :288 P.
7. ROZENBAUM W.Classification et histoire naturelle de l'infection à VIH in impact médecine guide infection à VIH.6eme Edit Flammarion2001: 208 P.
8. MONTAGNIER L, CHERMANN JC, BARRE SINOUSSE F et al. A new human T lymph tropic retro virus: characterization and possible role in lymphoadénopathie and acquired immunodeficiency syndrome. New York, cold spring harbour laboratory, 1984:1205-81.
- 9.ALIZON M, WAIN HOSBON S, MONTAGNIER L et AL
Genetic variability of the Aids virus: nucleotide sequence analysis of two isolates from Africans patient. Cell, 1986, 46: 63-74.
- 10.Arhel N, Souquere S, Munier S, Souque P and al. HIV-1 DNA Flap formation promotes uncoating of the pre-integration of at the nuclearpore. Embo J 2007; 26(12): 3025-37.
- 11.Burkurinskaya A. HIV-1assembly and maturation.
Arch virol 2004; 149: 1067-1082
12. Levy J. Acute HIV infection and cells susceptible to HIV. In: Levy JA, ed. HIV and the pathogenesis of AIDS.2nd ed. Washington DC: ASMPress, 1998, 75-96.
13. Barin F : Département de Microbiologie et Moléculaire, Hôpital Bretonneau, 37044 Tours, cedex.
Livre de Virologie, collection azay, p559
14. CMIT. Infection à VIH et sida. In E. PILL Y: Vivactus Plus 21eme Ed; 2008: 468-487.
15. Pichard E, Guindo A, Grossetete G, Fofana Y, Maiga YI, Koumare B *et al.* L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) au Mali. *Med Trop* 1988 ; 48 : 345-349.
16. Maiga MY, Diarra B, Guindo A, Maiga YI, Fofana O, Bougoudogo F. Etude de la séroprévalence de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) au Mali sur3496 sérums. *Bull Soc PatholExot*1993; 86:16-20.

17. Maiga MY, Dembelé MY, Traore HA, Kouyaté M, Traoré AK, Maiga II *et al.* Manifestations digestives du sida chez l'adulte au Mali. *BullSocPatholExot*2002; 95: 253-6.
18. Peeters M, Koumaré B, Mulanga C, Brengues C, Baby M, Bougoudogo F *et al.* Genetic subtypes of HIV type 1 and HIV type 2 strains in commercial sex workers from Bamako, Mali. *AIDS Res Hum Retroviruses*1998; 14 : 51-8.
19. Chapitre 16 : Prise en charge des situations d'exposition au risque viral. - Rationnel du traitement post-exposition (TPE) au VIH. www.trt-5.org/article148.html
20. Calvez V, Gautheret-Dejean A, Marcelin AG. Diagnostic biologique de l'infection à VIH. VIH 2011. *Doin, Paris* 2011, p14-17.
21. Bogard M, Lamorilo J. Biologie moléculaire et biologie clinique: Méthodes. Tome1. *Elsevier, Paris* 1998.
22. Holodniy M, Katzenstein DA, Sengupta S, *et al.* Detection and quantification of human immunodeficiency virus RNA in patients serum by use of the polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1990, **163**: 862-6.
23. Cave H, Acquaviva C, Bieche I, Brault D, de Fraipont F, Fina F, *et al.* [RT-PCR in clinical diagnosis]. *Ann Biol Clin (Paris)* 2003, **61**:635-644.
24. Descamps D, Perrin L, Calvez V. Prise en charge du traitement antirétroviral. Traité de virologie de Jean Marie Huraux. *Edsteim, Paris* 2003, 345-357.
25. Sluis-Cremer N, Arion D, Parniak MA. Molecular mechanisms of HIV-1 resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs). *Cell Mol Life Sci*2000, **57**:1408-1422.
26. Johnson A, Ray AS, Hanes, J. *et al.* Toxicity of antiviral nucleoside analogs and the human mitochondrial DNA polymerase. *J BiolChem*, **276**(44): 40847-57.
27. Pohlmann, S. and Doms, R. W. Evaluation of current approaches to inhibit HIV entry. *Curr Drug Targets Infect Disord*2002, **2**(1): 9-16.
28. Margolis L, Shattock R. Selective transmission of CCR5-utilizing HIV-1: the 'gatekeeper' problem resolved? *Nat Rev Microbiol*2006, **4**:312-317.
29. Tsamis F, Gavrillov S, Kajumo F, Seibert C, Kuhmann S, Ketas T, *et al.* Analysis of the mechanism by which the small-molecule CCR5 antagonists SCH-351125 and SCH-350581 inhibit human immunodeficiency virus type 1 entry. *J Virol*2003, **77**:5201-5208.
30. Cammack N. The potential for HIV fusion inhibition. *Curr Opin Infect Dis* 2001, **14**:13-16.
31. Lataillade M, Kozal MJ. The hunt for HIV-1 integrase inhibitors. *AIDS Patient Care STDS* 2006, **20**:489-501.

32. Maïga AI. Caractérisation des bases moléculaires de la résistance des Virus de l'ImmunoDéficiency 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.
33. Eron J, et al. Characterization of the resistance profile of TMC278: 48-Week analysis of the phase III studies ECHO and THRIVE. ICAAC 2010, Abstract H-1810.
34. Eron J, et al. DTG in subjects with HIV exhibiting RAL resistance: functional monotherapy results of VIKING study cohort II. CROI 2011, Abstract 151LB.
35. Nowicka-Sans B, et al. Antiviral activity of a new small molecule HIV-1 attachment inhibitor, BMS-626529, the parent of BMS-663068. CROI 2011, Abstract 518.
36. Bastard JP, Chambert S, Ceppa F, Coude M, Grapez E, Loric S, et coll. Les méthodes d'extraction et de purification des ARN. Service de Biochimie et de génétique moléculaire, Hôpital Cochin, 123, boulevard de Port Royal, 75014, Paris. 1998, p8.
37. Cissé C. Division Moléculaire Abbott, Afrique de l'Ouest et Centrale. Extraction manuelle et amplification avec Abbott RealTime HIV-1TM. *PowerPoint, Kinshasa* 10-13 Mars, 2008.
38. Tse C, Capeau J. Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel. *Ann. Biol. Clin* 2003, **61**: 279-93.
39. Abbott. Guide abrégé de préparation manuelle des échantillons pour les dosages Abbott RealTime HIV/HCV2010.
40. Seyler C, Adje-Toure C, Messou E, Dakoury-Dogbo N, Rouet F, Gabillard D, *et al.* Impact of genotypic drug resistance mutations on clinical and immunological outcomes in HIV-infected adults on HAART in West Africa. *AIDS* 2007, **21**:1157-1164.
41. A BALDE. Echecs virologiques des patients VIH 1 d'au moins un an de traitement antiretroviral au SEROFO, Thèse de pharmacie Bamako. 2011
42. Testa J, Cissé M, Lemègne L, Maïga AI, et al. Evolution des charges virales plasmatiques chez les PVVIH sous traitement ARV suivis au CESAC de Bamako. *ICASA, Addis ABABA* 2011, Abstract WEPE023.
43. Ballo. Etude de l'échec du traitement ARV de première ligne à l'Hopital de Sikasso Thèse de pharmacie Mali. 2013
44. DOUMBIA O. Etude bibliographique des recherches sur les IST/VIH au Mali Pharm, Bamako, 2001, 97p.
45. MAIGA MY, DIARRA B, GUINDO A, MAIGA YI, FOFANA O et BOUGOUDOOGO F.
Etude de la séroprévalence de l'infection par le VIH au Mali sur 3496 sérums.
Bull Soc Path Exot 1993; **16**: 16-20.

46. Impact des directives de traitement du VIH de l'OMS sur les pratiques des pays en voies de développement. [WWW.afrahiv](http://WWW.afrahiv.org) 2016.org
47. Lô G, Diawara PS, N'Dèye C, M'Bouop 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 ABABA2011*, Abstract WEPE002.
48. 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 B*

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : BOCOUM, **Prénom** : Malado

Téléphone : 66 92 44 78

Email : bocoum.malado@yahoo.com

Titre de la thèse : Evolution de la charge virale plasmatique chez les PV VIH 1 après 6 mois de traitement antiretroviral à l'hôpital de Sikasso

Année universitaire : 2017 - 2018

Ville de soutenance : Bamako, MALI

Lieu de dépôts : Faculté de pharmacie de Bamako

Secteur d'intérêt : virologie, infectiologie

Résumé

Introduction et objectifs

Afin d'évaluer l'évolution de la charge virale plasmatique chez les patients infectés par le VIH 1 après 6 mois de traitement antiretroviral à l'hôpital de Sikasso, nous avons effectué une étude prospective longitudinale qui s'est déroulée de février 2015 à Avril 2016 à l'hôpital de Sikasso

Méthodologie et résultat

Notre étude a porté sur 365 patients suivis dans les services de l'Hôpital de Sikasso (médecine et pédiatrie), au CERKES et à l'USAC de Koutiala.

La tranche d'âge 35- 44 ans était la plus représentée. Les femmes étaient majoritaires avec un sexe ratio 0,6. La plus part des patients étaient mariés. Le Protocole thérapeutique le plus utilisé comprenait **2 INTI + 1 INNTI** et un taux d'échec virologique était de 21,4% au terme de notre étude. Les 77% des patients résidaient dans la ville de SIKASSO.

Conclusion

L'infection par le VIH est un problème de santé publique, il arrive souvent que le traitement échoue du fait de l'inobservance des patients ou de la résistance du virus. Un échantillon plus large est nécessaire pour confirmer ces résultats.

MATERIAL SAFETY DATA SHEET

Name: BOCOUM, **First Name:** Malado

Telephone: 66 92 44 78

Email: bocoum.malado@ yahoo.com

Title of thesis: Evolution of plasma viral load in HIV-1 patients after 6 months of antiretroviral therapy at Sikasso Hospital

University year: 2017 - 2018

City of defense: Bamako, MALI

Place of deposits: Faculty of Pharmacy of Bamako

Focus Area: Virology, Infectious Diseases

Summary

Introduction and objectives

In order to evaluate the evolution of the plasma viral load in patients infected with HIV 1 after 6 months of antiretroviral treatment at the Sikasso hospital, we carried out a longitudinal prospective study that took place from february 2015 to april 2016 at Sikasso Hospital

Methodology and result

Our study included 365 patients followed in the departments of Sikasso Hospital (Medicine and Paediatrics), CERKES and USAC Koutiala.

The age group 35-44 was the most represented. Women were in the majority with a sex ratio of 0.6. Most of the patients were married. The most used therapeutic protocol included 2INTI + 1INNTI and a virological failure rate was 21.4% at the end of our study. The 77% of patients resided in the city of SIKASSO.

Conclusion

HIV infection is a public health problem, and treatment often fails because of patient non-compliance or virus resistance. A larger sample is needed to confirm these results.

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 de 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 respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et 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 fidèle à mes promesses.

Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

Je le jure