

AGM :	African Green Monkey
ALT :	Asymptomatique à Long Terme
APC :	Allophycocyanin
BCG :	Bacille Calmette Guérin
BSA :	Bovine Serum Albumine
CAF :	CD8 Antiviral Factor
CCR5 :	Chemiokine Receptor 5
CD :	Cluster Differentiation
Ci :	Curie
CFU :	Colony Forming Unit
CMH :	Complexe Majeur d'Histocompatibilité
CMSP :	Cellules Mononuclées du Sang Périphérique
CMV :	Cytomegalovirus
Con A :	Concanavaline A
CSB :	Cytokine Stabilisation Buffer
CTL :	Cytotoxique T Lymphocyte
DMSO :	Diméthylsulfoxyde
Env :	Enveloppe
ELISA :	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
FACS :	Fluorescence Activated Cell-Sorting
FITC :	Fluorescein Isothiocyanate
FDC :	Follicular Dendritic cells
Gag :	Group Antigen
GP :	Glycoprotéine
HIV :	Human Immunodeficiency Virus
IL :	Interleukine
IS :	Indice de Stimulation
LAV :	Lymphadenopathy Virus
LTR :	Long Terminal Repeat
mcg :	Microgramme
min :	Minute
MIP :	Macrophage Inflammatory Protein
ml:	Millilitre
Nef :	Negativity expression factor

NFS :	Numération Formule Sanguine
NK-κB :	facteur Nucléaire Kappa B
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PBMC :	Peripheral Blood Mononuclear Cell
PBS :	Phosphate Buffered Saline
PCR :	Polymerase Chain Reaction
PE :	Phycoerythrin
PerCP :	Peridinin-chlorophyll-protein complex
PFA :	Paraformaldéhyde
Pol :	Polymérase
PPD :	Purified Protein Derivative
RANTES :	Regulated on Activation Normal T Cell Expressed / Secreted
Rev :	Regulation of Expression of Viral Proteins
rpm :	Round per minute
SIDA :	Syndrome d'Immunodéficience Acquise
SIV :	Simian Immunodeficiency Virus
SVF :	Sérum de Vœu foetal
TA :	Température Ambiante
Tat :	Transactivator of Transcription
TCID ₅₀ :	Tissue cell Dose Infectious
Th :	T Helper
TMB :	Tétraméthylbenzidine
TNF :	Tumor Necrosis Factor
V :	Volume
Vif :	Virion Infectivity Factor
VIH :	Virus de l'Immunodéficience Humaine
Vpr :	Viral Protein r
Vpu :	Viral Protein u
Vpx :	Viral Protein x
WHO :	World Health Organisation

INTRODUCTION	1
1^{ère} PARTIE : GÉNÉRALITÉS SUR LES LENTIVIRUS DES PRIMATES	
I. PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES LENTIVIRUS DE PRIMATES	2
1.1. La particule lentivirale	2
1.2. Le génome des lentivirus	2
1.3. Les cellules cibles	3
1.4. Les récepteurs cellulaires	4
1.5. Le cycle répliatif des lentivirus	4
II. HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION VIH	6
2.1. Évolution de l'infection par le VIH	6
2.1.1. La primo-infection	6
2.1.2. La phase asymptomatique	7
2.1.3. La phase symptomatique	7
2.2. Aspects physiopathologiques de l'infection VIH	8
2.2.1. Mécanismes impliqués dans l'évolution vers le SIDA	8
2.2.1.1. Tropisme et récepteurs du VIH	8
2.2.1.2. La dissémination du virus et infection précoce	9
2.2.2. La charge virale et la destruction des tissus lymphoïdes	10
2.2.3. La déplétion en cellules T CD4 ⁺	11
2.2.4. Les anomalies de régénération des lymphocytes T CD4 ⁺	12
2.2.5. La dynamique de l'activation	13
2.3. Réponses immunes lors de l'infection par le VIH	14
2.3.1. Réponses humorales	14
2.3.2. Réponses cellulaires	15
2.3.2.1. Les réponses TCD4 ⁺ et T CD8 ⁺	16

2.3.2.2. La réponse NK	18
2.3.2.3. Cytokines et répliquions des lentivirus	19
2.3.2.4. La Réponse suppressive	20
III. LES MODELES SIMIENS D'INFECTION LENTIVIRALE	21
3.1. Les modèles simiens d'infection pathogène	21
3.1.1. Le modèle macaque	21
3.1.2. Autres modèles pathogènes	23
3.2. Les modèles simiens d'infection non pathogène	24
3.2.1. Le modèle singe vert d'Afrique	24
3.2.2. Autres infections non pathogènes chez les singes d'Afrique	26
2^{ème} PARTIE: TRAVAIL EXPERIMENTAL	
I. OBJECTIFS	28
II. MATERIEL ET METHODES	29
2.1. Matériel	29
2.1.1. Matériel biologique	29
2.1.1.1. Singes verts d'Afrique	29
2.1.1.2. Cellules	30
2.1.1.3. Virus	31
2.1.1.4. Bactéries et protéines	31
2.1.2. Réactifs et Tampons	31
2.1.2.1. Réactifs	31
2.1.2.2. Tampons	32
2.2. Techniques de Culture cellulaire	33
2.2.1. Congélation	33
2.2.2. Décongélation	33
2.2.3. Culture directe de PBMC	33
2.2.4. Co-culture avec des PBMCs ou des lignées	34

2.2.5. Isolement et propagation des SIV	34
2.2.5.1. Culture directe	34
2.2.5.2. Co-culture avec des cellules de lignées	34
2.3. Techniques sérologiques	35
2.3.1. Elisa SIV : Dosage de l'antigène p27	35
2.3.2. Elisa BCG	35
2.4. Méthodes de mesure de la prolifération cellulaire <i>in vitro</i>	36
2.4.1. Marquage par thymidine tritiée	36
2.4.2. Principe de la cytométrie en flux	36
2.4.3. Protocole de suivi de prolifération de PBMCs, par marquage avec une sonde fluorescente, le PKH26	37
2.5. Méthodes de mesure des cytokines	38
2.5.1. Mesure de Cytokines intracellulaire par cytométrie en flux	38
2.5.2. Dosage des Cytokines Plasmatiques	39
III. RESULTATS	40
3.1. Choix des animaux	40
3.2. Mises au point des techniques : Approche expérimentale	40
3.2.1. Doses-réponses	41
3.2.2. Nombre de cellules	41
3.2.3. Durée d'incubation	42
3.3. Stimulation antigénique	42
3.4. Suivi des lymphocytes dans le sang total	42
3.5. Suivi des Monocytes dans le sang total	44
3.6. Cinétique des réponses immunes cellulaires	45
3.6.1. Marquage direct sur le sang total	45
3.6.2. Cinétique des CD3 ⁺	46
3.6.3. Suivi des lymphocytes CD4 ⁺	47
3.6.4. Suivi des lymphocytes CD8 ⁺	49
3.6.5. Suivi des lymphocytes CD20 ⁺	51

3.7.Mesure de la prolifération cellulaire <i>in vitro</i> par le PKH26	52
3.8.Cinétiques des réponses immunes humorales	53
3.9.Dosage des cytokines plasmatiques	55
3.10. Dosage de la Protéine C Réactive	57
DISCUSSION	58
CONCLUSION	62
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	63

FONCTIONNALITÉ DES LYMPHOCYTES T CD4 SPÉCIFIQUES CHEZ L'AGM : ETUDE DES RÉPONSES LYMPHOPROLIFÉRATIVES ET CYTOKINIQUES APRÈS IMMUNISATION PAR LE BCG.

RESUME

Le laboratoire de Rétrovirologie étudie la physiopathologie des infections lentivirales à l'aide d'un modèle simien de résistance au Sida. Les travaux antérieurs du laboratoire ont montré que cette infection non-pathogène ne résultait pas du fait d'un virus atténué mais, plus probablement, lors de la primo-infection, du caractère transitoire précoce de l'activation des lymphocytes T CD4⁺, et d'une orientation particulière du profil d'expression de cytokines vers l'IL-10 dans le sang.

Il s'agit de préciser, dans ce modèle expérimental d'infection asymptomatique, les capacités fonctionnelles *ex vivo* de ces lymphocytes en réponse à l'antigène, et en particulier la lymphoprolifération des lymphocytes T CD4⁺ spécifiques de SIVagm. Huit AGM ont été vaccinés au BCG à différentes doses : de 10¹⁰ à 10⁴ CFU. Le BCG est connu pour induire chez l'homme et la souris de bonnes proliférations cellulaires et de profils de cytokines de type Th1. Une stimulation spécifique *in vitro* a été faite avec du PPD à 10 µg/ml. On a noté une faible réponse proliférative T CD4⁺ et une réponse CD8⁺ plus importante. De plus des taux légèrement élevés d'IL-10 associés à une faible expression de TNF-α ont été notés. Ces observations soulèvent la question si la balance TNF-α/ IL-10 en faveur de l'IL-10 dès les phases précoces de l'infection pourrait être associé à un profil plus lent de l'infection

Cette approche proliférative s'est fait dans un premier temps avec un test classique d'incorporation de thymidine tritiée. Dans un deuxième temps, le profil de différenciation et de maturation de cette réponse a été précisé en cytométrie de flux par marquages avec une sonde fluorescente (PKH26). L'histoire naturelle de l'infection SIVagm chez le singe vert reste mal connue, des évènements associés tant à la primo infection, qu'en phase chronique par le suivi des paramètres virologiques, biologiques et immunologiques au niveau périphérique et tissulaire mérite d'être exploré davantage.

Mots clés : AGM, Cytokines, SIV, Prolifération, Vaccination.

L'étude des lentivirus des primates a connu un regain d'intérêt en 1983 avec l'identification de l'agent pathogène responsable du SIDA (Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis) chez l'homme (19). Ce virus, initialement appelé LAV (19), HTLV-3 (116) ou ARV (198), est actuellement nommé VIH (Virus de l'ImmunoDéficiency Humaine) (69). En 1986, Clavel et coll. (61) mirent en évidence un second virus associé à l'immunoDéficiency humaine. Ce virus (VIH-2), génétiquement distinct du VIH-1, est endémique en Afrique de l'Ouest (18). L'ampleur de l'épidémie et la nécessité de la mise au point d'un modèle animal ont conduit de nombreuses équipes de recherche à tenter d'identifier des analogues simiens du VIH.

En 1985, au centre de primatologie de Nouvelle-Angleterre, Etats-Unis d'Amérique, des symptômes analogues à ceux du SIDA humain furent observés dans une colonie de macaques rhésus (79). Ce tableau clinique fut rapidement associé à l'infection des animaux par un lentivirus : le SIVmac (Simian Immunodeficiency Virus du macaque) (83, 89). La découverte du SIVmac fut suivie par la mise en évidence de quatre autres virus simiens (SIV) en quelques années. Chez des singes captifs aux Etats-Unis, le SIVsm découvert dans une colonie de macaques rhésus et de Sooty mangabeys au centre de primatologie de Delta (236) fut également isolé de mangabeys au centre de primatologie de Yerkes (113).

Des études épidémiologiques réalisées sur plusieurs espèces de singes dans leur habitat naturel ont montré que les macaques en Asie du Sud-Est ne sont pas infectés par les SIV tandis que des situations endémiques sont retrouvées chez plusieurs espèces en Afrique (140, 146, 204). Parmi ces espèces, l'endémie la plus importante est rencontrée chez le singe vert (*Chlorocebus*, anciennement nommé *Cercopithecus aethiops*), chez qui 30 à 50% des animaux testés présentent anticorps qui reconnaissent les protéines des VIH et SIV. Cependant d'autres cercopithèques sont également séropositifs pour le SIV (140, 146, 204). En 1988, après de multiples tentatives, des isolats du virus du singe vert furent obtenus et nommés SIVagm (AGM pour African Green Monkey) (246). En 1991, un autre virus (SIVsyk) a été découvert chez les cercopithèques à diadème en 1991 (91). Enfin, des virus antigéniquement proches des VIH et des SIV ont pu être isolés d'autres espèces de singes. C'est le cas d'une part du SIVmdn retrouvé dans une colonie de mandrills (*Mandrillus (Papio) Sphinx*) vivant en semi-liberté au Gabon (321). Par ailleurs, deux jeunes chimpanzés (*Pan troglodytes troglodytes*) d'origine sauvage ont montré, en sérologie, une infection de type VIH-1 (255). Le virus isolé de l'un de ces animaux (SIVcpz) est particulièrement intéressant, car il est aussi proche des VIH-1 que les SIVmac et SIVsm ne le sont des VIH-2 (159).

I. PRINCIPALES CARACTERISTIQUES DES LENTIVIRUS DE PRIMATES

1.1. La particule lentivirale

Sur le plan morphologique, les virus du SIDA des primates sont très proches des autres lentivirus. La membrane virale, dans laquelle est ancrée les tétramères de protéines d'enveloppe, enferme un core de structure conique. Ce core, très dense aux électrons en microscopie électronique, est principalement composé de protéines *gag*, *p24* et contient deux molécules d'ARN simple brin et les différentes enzymes virales (transcriptase inverse, protéase et intégrase). D'autres protéines virales sont également localisées dans le virion : les protéines *p18*, *p7* et *p9* de la région *gag*, ainsi que la protéine *vpr*.

1.2. Le génome des lentivirus

Les lentivirus sont, au niveau génétique, les plus complexes des rétrovirus décrits à ce jour (45, 74). En effet, outre les trois phases de lecture ouvertes codant pour les protéines de structure des rétrovirus (*gag*, *pol* et *env*), on observe des phases ouvertes de lecture de petite taille réparties surtout entre les gènes *pol* et *env*, mais également à l'extrémité 3' du génome. Le génome du VIH-1 est composé de neuf phases ouvertes de lecture codant pour les protéines *gag*, *pol*, *vif*, *vpr*, *tat*, *rev*, *vpu*, *env* et *nef*, encadrées par deux séquences non codantes répétées : les LTR (Long Terminal Repeat). Le génome du VIH-2 est très proche de celui du VIH-1, il montre cependant une différence notable dans son organisation génétique. Ce virus ne possède pas de gène *vpu* tandis qu'une séquence, sans homologie avec le VIH-1, code pour la protéine *vpx* (135, 145, 330). La phase ouverte de lecture des gènes *gag* code pour les quatre protéines structurales du core : *p18*, *p24*, *p7*, *p9* tandis que trois protéines sont codées par la phase de lecture du gène *pol* : transcriptase inverse, protéase et intégrase. Le rôle de certaines protéines de la région centrale : *vif*, *vpr*, *vpx* et *vpu* n'est pas clairement établi, il semble qu'elles ne soient pas indispensables à l'infectivité *in vitro*, cependant, leur action *in vivo* semble primordiale. Il en va de même pour la protéine *nef* qui, *in vitro*, ne semble pas influencer la réplication virale, mais qui est nécessaire au développement d'un Sida chez le macaque (172).

Les deux protéines *tat* et *rev* ont été particulièrement étudiées. *Tat* est une protéine nucléaire indispensable à l'élongation de la transcription du VIH. Cette protéine se fixe sur une séquence d'ARN dans le LTR (TAR) (139, 231) qui, par sa structure en épingle à cheveux, bloquerait l'élongation (301). *Tat* est donc un amplificateur de l'expression des protéines

virales agissant par feed back positif. Le rôle de la protéine *rev* est complémentaire de l'action *tat*. Cette nucléoprotéine permet le transport vers le cytoplasme des ARN messagers peu ou pas épissés (102, 213). *Rev* dirige donc non seulement l'expression des protéines de structures *gag*, *pol* et *env* mais aussi certaines protéines régulatrices (*tat*, *vif* et *vpr*). Par contre, *rev* a un effet néfaste sur sa propre production. Le mécanisme de rétention nucléaire des messagers non épissés n'est pas encore parfaitement éclairci, cependant, la protéine *rev* agit par fixation sur une région de la phase ouverte codant pour *env* (RRE) (137, 214). Parmi les VIH et les SIV, les phases ouvertes de lecture des gènes *vpu* et *vpx* sont différemment identifiées. Ainsi, le SIVmac (51) et le SIVsm (151) ont la même structure génétique que le VIH-2 (*vpu*-, *vpx*+) tandis que le SIVagm (111) et le SIVmnd (322) sont doublement négatifs (*vpx*-, *vpu*-). Contrairement aux autres SIV, le SIVcpz infectant naturellement le chimpanzé a une structure génétique identique à celle du VIH-1 (*vpu*+, *vpx*-) (159). Lors du séquençage du SIVcpz, son homologie avec le groupe des VIH-1 ne fit aucun doute, cependant, une grande divergence génétique fut observée dans la région du *vpu*. En effet, la protéine du SIVcpz n'a aucune homologie avec celle des VIH-1 à l'exception d'un dodécapeptide dans la partie centrale. Cette homologie, qui permet sans doute d'identifier la région fonctionnelle de *vpu*, ainsi que les profils d'hydrophobicité de deux protéines, rendent probable l'identité fonctionnelle du *vpu* du SIVcpz et celui des VIH-1. En ce qui concerne les autres protéines de « régulation » (*tat*, *rev*, *vpr*, *vif* et *nef*), ils sont retrouvés chez tous les lentivirus de primates connus à ce jour.

1.3. Les cellules cibles

La sélectivité des tropismes du VIH et la sévérité du déficit immunitaire induit par l'infection sont en grande partie liées à l'interaction spécifique entre la glycoprotéine du VIH, la gp120 et la molécule CD4 récepteur de haute affinité au VIH (177). La molécule CD4 est une protéine membranaire exprimée en forte quantité à la surface des lymphocytes T auxiliaires. Le récepteur CD4 est également exprimé bien qu'à un moindre degré, sur les cellules présentatrices d'antigène : monocytes et macrophages, cellules dendritiques et de Langerhans et sur la microglie dans le cerveau. Les cellules folliculaires dendritiques (FDC) quant à elles fixent le VIH à leur surface, mais sans internaliser le virus. Le VIH, par son tropisme pour le récepteur CD4, infecte ainsi les cellules centrales du système immunitaire et peut infiltrer la totalité des tissus humains.

1.4. Les récepteurs cellulaires

Si la molécule CD4 fonctionne comme un récepteur de haute affinité pour la gp120 des VIH/SIV, des récepteurs accessoires sont nécessaires à la pénétration du virus dans la cellule hôte. Plusieurs co-récepteurs, notamment CCR5 et CXCR4, ont été au terme de longues années de recherches. Les co-récepteurs CCR5 et CXCR4 utilisés par le VIH sont des récepteurs de chimiokines (1, 197). Ces chimiorécepteurs sont exprimés sur les lymphocytes CD4⁺ et les macrophages et coopèrent avec la molécule CD4 pour permettre l'entrée du virus dans la cellule.

1.5. Le cycle réplcatif des lentivirus

Comme celui de tous les rétrovirus, le cycle réplcatif des lentivirus simiens se déroule en quatre étapes après la fixation:

- l'entrée du virus
- la rétrotranscription du génome viral en ADN complémentaire suivie de son intégration dans le génome cellulaire,
- l'expression des gènes viraux en protéines virales,
- et enfin l'encapsidation des nouveaux virions suivie de leur maturation et de leur libération par bourgeonnement (70).

L'entrée du virus se fait après attachement à un récepteur cellulaire. Le récepteur de haute affinité des lentivirus de primates est la molécule CD4, reconnue par la glycoprotéine de surface, la gp120 (177). Plusieurs évènements apparaissent nécessaires à l'entrée du virus dans la cellule cible. Ainsi la fixation de la gp120 du VIH-1 à la molécule CD4 est suivie d'un changement de conformation de la glycoprotéine virale permettant un clivage au sein de cette molécule (62, 218).

C'est dans ce complexe nucléoprotéique que le génome viral est rétrotranscrit en ADN double brin grâce à la transcriptase inverse et à une amorce (tRNA-lys) contenues dans la nucléocapside. Après transport du complexe viral vers le noyau, l'ADN s'intègre dans le génome cellulaire grâce à l'intégrase virale. La rétrotranscription complète et l'intégration de l'ADN viral dépendent de l'état d'activation de la cellule cible (282).

Les protéines virales de structures s'associent aux nouvelles molécules d'ARN viral synthétisées. Ce sont notamment les protéines *gag* qui se fixent à l'ARN et assurent la dimérisation de l'ARN viral, son encapsidation, puis la liaison entre le capsid et la

membrane virale (70). Les particules virales quittent la cellule par bourgeonnement. Au moment du bourgeonnement, il ne s'agit que de particules immatures qui achèvent leur maturation au stade de virions libérés.

D'autres protéines régulatrices tels que *Rev/Rex* ou *Tat/Tax/Taf* peuvent être impliquées dans le cycle réplcatif des rétrovirus. Le rôle de ces protéines accessoires commence à être bien connu pour les lentivirus de primates. La protéine *Vif* des lentivirus est exprimée de manière Rev-dépendante à partir d'un ARN messager mono-épissé (292). Elle est présente dans le cytoplasme des cellules infectées et augmente l'infectivité du virus (309). La protéine *Vif* du VIH-1 semble participer dans l'achèvement de la rétrotranscription de l'ARN viral après l'entrée du virus et dans la maturation des glycoprotéines au moment de la formation des virions (311).

La protéine *nef* est exprimée de façon précoce dans la cellule infectée. Elle est localisée dans le cytoplasme, la membrane interne et dans le noyau (110, 166, 211). *Nef* a été initialement décrit comme une protéine ayant un effet négatif sur la réplication virale en culture (205). Elle pourrait induire des facteurs de régulation négatifs agissant sur le NRE du LTR. L'effet négatif de *Nef* sur la réplication virale n'est cependant pas observé pour tous les virus et tous les types de cellules étudiées. Elle est capable aussi de diminuer l'expression de molécules CD4 à la surface de certaines lignées cellulaires (117). *In vivo*, la protéine *Nef* de SIVmac est essentielle pour l'établissement d'une infection persistante et pathogène chez le macaque (172).

La protéine *Vpr* est présente dans le virion. Elle est responsable, en synergie avec la protéine *Gag* p17, du transport du complexe nucléoprotéique vers le noyau des cellules au repos, en particulier dans les monocytes/macrophages, permettant ainsi l'infection productive de ces cellules (40, 94, 143). Cette protéine, une fois localisée dans le noyau de la cellule, pourrait aussi activer l'expression des gènes viraux et cellulaires (71). La protéine *Vpx* semblerait avoir des fonctions similaires à *Vpr* (311). La protéine *Vpu* participe à la maturation des virions (309), à la dégradation de la molécule CD4 (343) et à la réduction de la formation de syncytia (350). Ces phénomènes seraient induits par des mécanismes distincts.

II. HISTOIRE NATURELLE DE L'INFECTION VIH

2.1. Évolution de l'infection par le VIH

L'évolution clinique des personnes infectées par le VIH peut être divisée en trois phases : la primo-infection, la phase chronique (asymptomatique) et la phase terminale (symptomatique).

2.1.1. La primo-infection VIH

Elle survient à partir de l'exposition au virus et dure six semaines en moyenne. Elle se traduit par des manifestations cliniques variées suivant les cas. Elle peut être asymptomatique ou se traduire, chez environ 50 à 70% des sujets infectés, par diverses manifestations cliniques transitoires (100, 176, 319). La plus fréquente est un syndrome mononucléosique dont les symptômes correspondants sont, par ordre de fréquence, des adénopathies persistantes et généralisées, cervicales et axillaires disséminées, une fièvre au long cours, des myalgies et des éruptions cutanées. Des manifestations neurologiques non spécifiques ont été décrites dans 30% des cas. Il a été montré que la présence d'adénopathies cervicales et de symptômes oropharyngés et d'œsophagites semble associée à un risque plus élevé d'évolution rapide, en comparaison à des personnes dont la primo-infection est asymptomatique (325).

Sur le plan virologique, cette phase est caractérisée par une réplication virale conduisant à une détection d'un taux significatif d'antigène aussi bien dans le sang circulant qu'au niveau du liquide céphalo-rachidien (169). La charge virale dans les tissus lymphoïdes est plus importantes que la charge virale circulante (93, 251) conduisant à l'établissement de sites privilégiés de la réplication virale à partir desquels a lieu la dissémination virale pendant tout le cours de l'infection (100, 249). En moyenne 40 à 50% de virus isolés de personnes infectées en phase de primo-infection, utilisent le co-récepteur CXCR4. La fin de la phase de primo-infection est marquée par une diminution rapide de la charge virale circulante (60, 76) et un changement phénotypique des virus isolés qui sont majoritairement R5 (l'utilisation du co-récepteur CCR5).

Du point de vue immunologique, on observe une diminution du nombre de lymphocytes T CD4⁺ circulants et l'apparition de la réponse immune cellulaire (47, 64, 184, 293, 295). Au niveau ganglionnaire, on note une hyperplasie folliculaire (130, 249). L'apparition d'anticorps anti-VIH traduit la fin de la phase de primo-infection et l'entrée dans la phase chronique (76, 154). Le rôle de la réponse humorale dans le contrôle de la réplication durant la primo-infection reste obscur. La plupart des études ont démontré que les anticorps neutralisants

n'étaient détectés qu'au moment du déclin initial de l'ARN plasmatique du VIH (72, 184, 256, 259). Néanmoins, des anticorps neutralisants certains épitopes viraux ont pu être identifiés durant la phase aiguë (227, 259), suggérant la possibilité que l'activité de ces anticorps a échappé aux tests généralement disponibles.

Alors que le taux d'antigène plasmatique chute à un niveau non détectable, les concentrations d'ARN plasmatique du VIH se stabilisent à un niveau relativement constant chez le même individu (viral set point) (16, 46, 222). L'émergence de variants viraux corrobore à la valeur prédictive de la concentration de l'ARN plasmatique du VIH, ce qui soutient l'hypothèse que l'interaction initiale virus-hôte contribue au contrôle du virus et peut être la clef dans l'évolution de la maladie VIH (75).

2.1.2. La phase asymptomatique

Elle succède à la primo-infection. Elle se caractérise par une latence clinique qui dure en moyenne une dizaine d'années (235) en l'absence de thérapeutiques efficaces.

L'antigénémie p24 est indétectable, mais la virémie plasmatique, qui constitue la résultante entre la production et l'élimination des particules virales (152, 249, 258) persiste. Par ailleurs, une augmentation du nombre de cellules CD8⁺ est observée dès la primo-infection et se poursuit durant cette phase, ce qui conduit à une inversion du rapport CD4⁺/CD8⁺ (299). Dans les mois suivants et jusqu'à la survenue des premiers symptômes, le nombre de cellules CD8⁺ reste élevé.

La plupart des réponses immunes et cellulaires mises en place pendant ou après la primo-infection, se maintiennent pendant toute la durée de la phase chronique (100, 141). Toutefois, les fonctions des cellules T CD4⁺ auxiliaires sont modifiées, tout au début de cette phase, comme le montre la perte de capacités de prolifération des cellules en réponse aux antigènes de rappel, et une chute régulière du nombre de T4 qui à terme emmène une nouvelle inversion définitive du rapport CD4⁺/CD8⁺ (299).

2.1.3. La phase symptomatique

La progression vers la phase terminale ou phase SIDA proprement dite, dure en moyenne deux à trois ans en absence de traitement, et aboutit au décès du patient. Du point de vue clinique, elle est caractérisée entre autres par une lympho-adénopathie persistante et généralisée ainsi que par l'apparition de pathologies opportunistes classée dans la catégorie C

du CDC. Le début de cette phase terminale chez les sujets infectés est annoncé par une forte augmentation de la charge virale circulante et tissulaire (249, 291), par la réapparition de l'antigénémie p24 et par la chute plus rapide du taux de lymphocytes CD4⁺. 50% des isolats viraux isolés chez ces patients sont de phénotypes X4 et présentent plusieurs caractéristiques que l'on associe à une virulence élevée, comme une plus large utilisation de co-récepteurs, une haute capacité répliquative *in vitro*, une résistance à la neutralisation et à la sensibilité aux anticorps facilitant (9, 54, 103, 317). Lorsque l'individu développe des symptômes, le nombre de T CD4⁺ est généralement inférieur à 200 cellules/ μ l de sang. On note également une diminution concomitante du taux d'anticorps anti-p24 circulants, des réponses antivirales à médiation cellulaire (26, 38, 100, 141, 208), ainsi qu'une destruction des tissus lymphoïdes (271, 320). Ces événements conduisent à l'immunodéficience terminale, caractérisée par une profonde déplétion lymphocytaire qui précède le décès de la personne infectée.

2.2. Aspects physiopathologiques de l'infection VIH

2.2.1. Mécanismes impliqués dans l'évolution vers le SIDA

2.2.1.1. Tropisme et récepteurs du VIH

Si la molécule CD4 fonctionne comme un récepteur de haute affinité pour la gp120, des récepteurs accessoires sont nécessaires à la pénétration du virus dans la cellule hôte. Plusieurs co-récepteurs, notamment CCR5 et CXCR4, ont été identifiés au terme de longues années de recherches. Les co-récepteurs CCR5 et CXCR4 utilisés par le VIH sont des récepteurs de chimiokines (1, 197). Ces chimiorécepteurs sont exprimés sur les lymphocytes CD4⁺ et les macrophages et coopèrent avec la molécule CD4 pour permettre l'entrée du virus dans la cellule. Schématiquement, les virus à tropisme macrophagiques (90% des transmissions sexuelles du VIH) utilisent un récepteur de β -chimiokines CCR5 (Virus R5). En revanche, les virus à tropisme T dépendent d'un récepteur d' α -chimiokines CXCR4 (Virus R4).

Les cellules T CD4⁺, dont le taux d'infection, initialement estimé à 1/10⁵ cellules, pourrait atteindre 1/10 représentent la quasi-totalité des cellules de l'organisme infectées par le VIH. Les cellules présentatrices d'antigènes dont le taux d'infection par le VIH semble dix à cent fois plus faible, jouent une fonction de réservoir pour le VIH et un rôle important dans l'immunogénicité des protéines du VIH. Cette fonction de réservoir semble particulièrement applicable aux cellules de la microglie, située dans le sanctuaire immunologique qu'est le cerveau.

2.2.1.2. La dissémination du virus et infection précoce

La transmission sexuelle du VIH constitue une des voies majeures de l'entrée du VIH dans l'organisme (238, 342). Elle se fait principalement via l'interaction entre les cellules cibles résidentes de la muqueuse et les cellules infectantes, dont le nombre est en général largement supérieur à celui des particules virales libres dans les sécrétions génitales des individus infectés. Le franchissement de la barrière mucoale peut être facilitée par des lésions dues par exemple à d'autres agents sexuellement transmissibles (42, 43). Parmi ces cellules, les cellules de Langerhans semblent jouer un rôle majeur (302). Chez le macaque la dissémination du SIV est rapide après exposition expérimentale des sujets par voie rectale, intraveineuse ou vaginale. Et quelque soit le tropisme du virus et la voie de transmission, les cellules T demeurent la cible principale du virus (147, 304, 326). Les cellules dendritiques infectées migreraient par la suite vers les organes lymphoïdes les plus proches permettant ainsi la transmission du virus aux cellules T CD4⁺ (43, 303, 326). Plusieurs arguments sont en faveur d'une transmission préférentielle de virus VIH à tropisme R5 pendant les phases précoces de l'infection (356), tout comme chez le SIV (56, 215). En effet, d'une part les cellules de Langerhans expriment seulement le co-récepteur CCR5 et non le co-récepteur CXCR4 (352). D'autre part, même si les cellules ont la capacité de fixer des virus X4 et R5 par un mécanisme indépendant à la fois de CD4 et du co-récepteur (28), seule la protéine d'enveloppe des virus R5 possède la propriété d'activer et de recruter les cellules T CD4⁺ par chimiotactisme (340).

D'autres hypothèses pouvant rendre compte de la prédominance des virus R5 pendant la phase précoce de l'infection par voie sexuelle ont été avancées. Il s'agit d'une part de l'élimination préférentielle de virus X4 et de la faible expression du co-récepteur CXCR4 par les premières cellules cibles comme les cellules muqueuses de l'intestin et du col de l'utérus (253, 330). D'autre part, il est également possible que le virus s'établisse dans les compartiments cellulaires qui possèdent de forts taux de chimiokines capables de bloquer le co-récepteur CXCR4. Cependant, aucune de ces hypothèses ne permet d'expliquer la faible fréquence de transmission des virus à double tropisme, R5X4 qui sont pourtant capables d'utiliser le co-récepteur CCR5. Les organes lymphoïdes qui sont les cibles précoces du VIH constituent un réservoir important de virus dès les premières phases de l'infection (109, 249), notamment à cause de la présence de particules virales piégées par les cellules dendritiques aussi bien chez l'homme que chez le singe. Tout au long de l'infection, on note une dégradation progressive de l'architecture ganglionnaire probablement due à la lyse des

cellules folliculaires dendritiques par les cellules T CD8⁺ infiltrées dans les centres germinatifs (266, 313, 345). Cependant il n'existe pas d'arguments définitifs permettant de déterminer si la destruction de ces tissus lymphoïdes est la cause ou la conséquence des dysfonctionnements du système immunitaire.

2.2.2. La charge virale et la destruction des tissus lymphoïdes

Les lentivirus de primates se distinguent des lentivirus des ongulés par un tropisme double pour les lymphocytes T CD4⁺ et les monocytes/macrophages, alors que les lentivirus des ongulés n'infectent que les monocytes/macrophages et n'induisent pas de lymphopénie CD4 chez leurs hôtes. En phase tardive de l'infection lentivirale, le tropisme des virus identifiés chez l'homme est encore plus accentué pour les lymphocytes T CD4⁺ *in vitro* et les souches virales sont souvent hautement cytopathogènes (317). Par ailleurs, il existe une corrélation entre l'augmentation de la virémie cellulaire, l'apparition de ces souches plus virulentes *in vitro* et la perte de lymphocytes T CD4⁺ *in vivo*. Selon certains auteurs, ces observations sont en faveur d'une destruction directe de ces cellules par le VIH-1 (44, 201).

Il semble que le tropisme pour les lymphocytes T CD4⁺ ne soit pas suffisant pour expliquer à lui seul l'immunodéficience associée à l'infection VIH. En effet, l'infection des cellules présentatrices d'antigènes est probablement nécessaire pour l'établissement d'une infection persistante et la dissémination du virus dans l'organisme.

La charge virale au niveau des ganglions est particulièrement élevée au moment de la primo-infection et elle reste importante pendant la phase asymptomatique de l'infection VIH-1, période pendant laquelle la virémie cellulaire est faible (93, 249). De nombreuses particules virales sont présentes au niveau du réseau de FDC des centres germinatifs. Selon certains auteurs, le virus se réplique à bas bruit dans ces cellules (305), mais la présence d'ADN proviral n'a pu être démontrée clairement dans les FDC (92, 316). L'augmentation du nombre de cellules infectées dans les organes lymphoïdes est associée à une déplétion lymphocytaire consécutive et à une dégénérescence progressive de l'architecture de ces organes (249). Le modèle simien semble confirmer une association entre la charge virale élevée dans les tissus lymphoïdes et l'évolution vers une pathologie. Une étude comparative d'infection SIV_{agm} chez un singe vervet asymptomatique et un macaque immunodéficient montre ainsi un très faible nombre de cellules infectées dans le ganglion d'un vervet contrairement à ce qui est observé chez un macaque (123). La comparaison des modèles d'infection pathogène et non pathogène chez le macaque au moment de la primo-infection indique que le nombre de

cellules infectées est deux à quinze fois plus élevée chez le macaque infecté par SIVmac pathogène comparativement à l'infection par un virus cloné non pathogène (49). Il a été suggéré que les réponses immunes induites lors d'une infection par un SIVmac non pathogène permettraient un contrôle rapide et efficace de la réplication virale en phase précoce de l'infection. Des observations similaires sont rapportées chez l'homme. Elles suggèrent que la progression de la maladie est plus lente lorsque les réponses immunes à médiation cellulaire initiales apparaissent rapidement et persistent (295). Il n'est pas clair s'il existe une causalité entre l'augmentation de la charge virale et l'évolution vers une maladie. Des anomalies du fonctionnement des cellules système immunitaire ont été observées chez l'homme et chez le macaque, et ceci très tôt après l'infection, qui pourraient diminuer au fur et à mesure la capacité de l'hôte à contrôler la réplication virale.

2.2.3. La Déplétion en cellules T CD4⁺

Les réponses immunes initiées très tôt après l'infection dans les organes lymphoïdes, sont à l'origine du contrôle précoce de la réplication virale. Ces réponses cellulaires et humoraux ne permettent pas d'éradiquer le virus qui se maintient notamment au niveau des cellules présentatrices d'antigène à partir desquelles ils se dissémineraient dans l'organisme (303, 315). Il faut signaler qu'une intense recirculation des cellules immunocompétentes a lieu au niveau des organes lymphoïdes. Leur atteinte par le VIH pourrait par conséquent être responsable de l'activation chronique des cellules immunocompétentes favorisant notamment leur infection, la réplication virale et la destruction des cellules infectées. Ce processus dynamique aboutirait à la limitation des capacités de régénération centrale (thymus) ou périphérique (organes lymphoïdes secondaires) des lymphocytes T, surtout les cellules naïves, chez les individus infectés par le VIH-1 (88, 107, 144). Cette altération qui se traduit également au niveau qualitatif par la perturbation du répertoire des lymphocytes T (125), pourrait participer à l'arrêt de la différenciation des thymocytes (217). La régénération des cellules T naïves chez des patients traités avec des associations d'antirétroviraux (11, 200, 355) est un argument fort en faveur de l'atteinte thymique lors de l'infection par le VIH.

L'action cytopathogène du virus ne peut expliquer à elle seule ni la destruction des cellules T CD4⁺, ni les altérations fonctionnelles du système immunitaire, étant donné le nombre relativement faible des cellules infectées qui répliquent le virus (92, 129, 196). Il y a une évidence certaine, soutenue par les changements au niveau du sang périphérique des populations lymphocytaires T, qui résultent largement des changements de distribution des

lymphocytes (287). Des études ont aussi montré qu'il y a une augmentation dans le turnover des deux sous populations T CD4⁺ et T CD8⁺ dans l'infection SIV pathogène ou non (53, 225, 279). Outre la destruction des lymphocytes T CD4⁺ infectés par les CTL (357), d'autres mécanismes physiopathologiques ont été proposés afin de rendre compte de la sévère lymphopénie terminale :

- les cellules non infectées peuvent fixer la gp120 sur leurs récepteurs CD4 et être détruites par des mécanismes accessoires de cytotoxicité (190, 338)
- l'activation des lymphocytes T CD4⁺ exposés à une stimulation antigénique chronique peut conduire soit à l'anergie (84, 99), soit à la mort cellulaire par apoptose des cellules infectées et non infectées (7, 106, 134, 347)
- Et enfin, l'activation inadéquate des lymphocytes T CD4⁺ par des cellules présentatrices de l'antigène dont la fonction serait affectée, par l'infection à VIH par exemple, pourrait également conduire à l'anergie, soit à la mort cellulaire (223).

L'utilisation de virus SIVmac239 délété dans le gène *nef*, a permis de montrer le rôle de la protéine *nef* dans l'apoptose. Cette protéine est essentielle dans la régulation de l'expression de Fas ligand, et ceci a été proposé comme mécanisme possible d'échappement du virus au système immunitaire et d'induction de l'apoptose (155, 347).

2.2.4. Les anomalies de régénération des lymphocytes T CD4⁺

Les lymphocytes T immatures comme les précurseurs médullaires (307) ou thymiques sont décrits comme étant sensibles à l'infection par le VIH (289, 324). Les interactions du VIH avec les cellules souches thymiques sont documentées *in vitro* et *in vivo*. L'atteinte des précurseurs thymiques par le VIH pourrait expliquer la déplétion en thymocytes observée au niveau du thymus de fœtus ou d'enfants contaminés par leur mère (252). L'hypothèse d'anomalies de l'hématopoïèse et ou de la thymopoïèse liées à une dérégulation fonctionnelle des cellules du stroma a également été évoquée (285, 290). Ces cellules participent en effet à l'activation, la prolifération et la différenciation des lymphocytes immatures (192). Elles sont probablement infectées *in vivo* comme le suggère le modèle de souris SCID humanisées avec des greffes de thymus fœtaux (306) et le modèle d'infection pathogène chez le macaque (232). Mais les conséquences de l'infection des cellules du stroma sur leur fonction sont peu connues. Elle pourrait pourtant être à l'origine d'anomalies de la régénération des lymphocytes T CD4⁺ et contribuer ainsi à la perte progressive de ces cellules au cours de

l'infection VIH, en particulier chez l'enfant pour lequel la régénération des cellules T est très active au sein de l'organe thymique.

2.2.5. La dynamique de l'activation

L'intégration du VIH dans la cellule hôte et sa réplication nécessitent une activation préalable de cette cellule. Lors des épisodes de stimulation antigénique des lymphocytes T CD4, le VIH initie sa propre réplication dans la cellule CD4⁺ et dans les macrophages infectés, en interagissant avec des facteurs de transcription telles que NF-κB, régulant ainsi la synthèse des cytokines par exemple. La plupart des cytokines produites par les cellules T auxiliaires de type Th1 (T helper 1) semblent capables d'induire ou d'amplifier la réplication du VIH. Parmi ces cytokines on peut citer notamment les interleukines 2, 1, 6 et 10 et le TNFα (Tumor Necrosis Factor α). D'autres cytokines telles que les interférons α et γ (INFα et γ) ou le TGFβ (transforming growth factor β) semblent, à l'inverse, inhiber efficacement la réplication du VIH dans les macrophages. Toute activation lymphocytaire ou macrophagique sera donc susceptible d'amplifier la réplication virale et le nombre de cellules infectées, comme en témoigne l'administration de vaccins chez des sujets infectés (95, 249).

Ainsi les lymphocytes T CD4 infectés qui représentent environ 95% à 99% du pool de cellules infectées de l'organisme peuvent être divisés en:

- cellules à réplication active : les lymphocytes T CD4 activés par les antigènes ou les cytokines et
- cellules à réplication latente, cellules au repos ayant au préalable été infectées et ayant intégré le génome viral sous forme de provirus, ce sont le plus souvent des cellules T mémoires n'exprimant à leur surface aucun marqueur d'activation (CD45RO⁺ HLA DR⁻, CD25⁻). Ces dernières sont susceptibles à tout moment d'entrer en phase d'activation et d'induire la transcription du génome viral. Les cellules de la lignée macrophagique ne représentant quant à elles qu'un réservoir à faible taux de réplication.

De grands bouleversements dans la compréhension de cette maladie ont été introduits par la modélisation mathématiques des dynamiques de réplication et de clairance du virus dans les cellules T CD4 (152, 153, 337). La durée moyenne d'un cycle de réplication virale dans le pool à réplication active serait de 1 à 2 jours, voire moins, et de 2 semaines, voire plus, dans le pool à réplication latente.

Le tropisme électif du VIH pour les cellules immunocompétentes CD4⁺, sa persistance dans les follicules lymphoïdes sur les FDC, l'utilisation par le VIH des voies d'activation physiologique de ces cellules font la charge virale dans ces organes lymphoïdes est généralement dix fois supérieure à celle enregistrée dans le sang périphérique (249).

Plusieurs phénomènes observés en phase asymptomatique sont le reflet d'un état d'hyperactivation anormale et chronique du système immunitaire. Parmi ces phénomènes on peut citer l'hypergammaglobulinémie associées à des réactions auto-immunes, l'hyperplasie des centres germinatifs, l'infiltration de lymphocytes T et des macrophages, la modification du profil des cytokines, les phénomènes d'anergie et d'apoptose (196)

2.3. Réponses immunes lors de l'infection par le VIH

Le VIH induit de puissantes réponses immunes spécifiques contrôlant partiellement l'infection lors de la primo-infection et aux stades asymptomatiques (10, 12). Cependant l'extrême variabilité du virus impose une adaptation constante des réponses immunes à l'émergence permanente de variants viraux.

2.3.1. Réponses humorales

Ces réponses immunes humorales sont composées d'anticorps dirigés contre toutes les protéines du VIH : protéines d'enveloppe gp120 et gp41, protéines de capsid p24 et p18, RT (Reverse transcriptase), *nef*, etc.

La séroconversion survient habituellement entre 3 et 12 semaines après l'infection et est caractérisée par l'apparition quasi concomitante de toutes les spécificités antivirales. Cette production d'anticorps persiste en plateau jusqu'à la phase de progression où apparaît une diminution croissante du taux d'anticorps anti-p24 qui semble avoir une valeur pronostique. Seuls les anticorps neutralisants pourraient avoir un rôle protecteur mais ils n'apparaissent que tardivement, après le 2^{ème} mois, le plus souvent autour du 6^{ème} mois. Ils sont dirigés contre la gp120 mais les sites de neutralisation, initialement décrits sur la boucle V3 de cette gp120, restent mal connus et discutés. Ainsi, les anticorps dirigés contre le site de liaison du récepteur CD4 à la gp120 pourraient avoir un pouvoir neutralisant supérieur, actif contre les isolats primaires. Par ailleurs, certains anticorps anti-gp120 dits « facilitants » pourraient amplifier l'adhésion des particules virales aux cellules immunocompétentes équipées d'un

récepteur au fragment constant des immunoglobulines et avoir ainsi des propriétés aggravantes de l'infection (254)

L'infection par le VIH se traduit par l'apparition d'anticorps systémiques dirigés contre les protéines de structures du virus. L'activité neutralisante des anticorps ne semble pas liée au contrôle précoce de la charge virale (227). En effet, la plupart des études ont démontré que les anticorps neutralisants ne sont détectés qu'à partir du déclin initial de l'ARN plasmatique du VIH (72, 184, 256, 259). En plus, les anticorps non neutralisants peuvent être importants dans la séquestration des complexes antigène-anticorps à l'intérieur des tissus lymphoïdes fixés. Finalement, l'immunité humorale peut avoir un rôle limité dans la rétention du VIH durant la primo-infection tandis qu'elle est encore importante pour le contrôle à long terme de la réplication virale pendant la phase chronique (46, 259). Cependant les propriétés neutralisantes des anticorps sont à ce jour mal caractérisées et leur rôle dans la protection contre l'infection est controversé. De même, les mécanismes responsables de l'apparition relativement tardive de ces anticorps ne sont toujours pas élucidés.

Les anticorps spécifiques du VIH peuvent également jouer un rôle dans la pathogenèse en facilitant la pénétration du VIH dans les cellules par l'intermédiaire soit des récepteurs Fc de Ig (157), soit du récepteur du complément (275). Ces récepteurs permettraient la fixation des complexes immuns circulants à la surface des cellules et participeraient ainsi à leur infection. Cependant, d'autres auteurs décrivent une absence de lien entre la présence de ces anticorps et la progression vers la maladie (226).

2.3.2. Les réponses cellulaires

Les réponses au VIH médiées par les lymphocytes T CD4⁺ auxiliaires ont été longtemps méconnues du fait du dysfonctionnement des cellules CD4⁺, mais sont cependant indispensables au déroulement efficace des réponses immunes. Ce n'est qu'en 1997 qu'elles ont été mises en exergue. En effet, les réponses CD4 auxiliaires dites Th1, capables de produire IL-2 et INF γ en réponse au VIH, ont été mises en évidence dans deux situations particulières :

- les sujets asymptomatiques à long terme (ALT)
- et les primo-infectés traités précocement par des antirétroviraux (277)

Ces lymphocytes TCD4⁺ amplifient de façon majeure les réponses cytotoxiques (CTL : Cytotoxic T Lymphocyte) au VIH et jouent sans doute un rôle important en phase de primo-infection où leur présence est déterminante pour que s'amplifient rapidement les CTL, et chez

les ALT, en contrôlant efficacement leur réplication virale. Le taux d'INF γ produit par les lymphocytes Th1 est inversement corrélé à la réplication virale et constitue aujourd'hui l'un des meilleurs indicateurs d'une réponse immune efficace, leurs cibles antigéniques principales semblent être les protéines de capsid, p24 et p17, ainsi que la gp120.

Les lymphocytes CD8 interviennent également dans le contrôle de la réplication virale par la production de molécules « suppressives ». Récemment trois molécules du groupe des β -chimiokines (RANTES, MIP-1 α et MIP-1 β) ont été impliquées dans ce contrôle de la réplication. Il s'agit d'une longue histoire de la recherche sur le Sida puisque la première description de ce phénomène, en 1986, avait rapporté que des lymphocytes CD8 sécrétaient un ou des facteurs capables d'inhiber la réplication virale. Certains facteurs n'ont pu être identifiés que 10 ans plus tard, et ne le sont sans doute pas tous.

Par conséquent les lymphocytes CD8⁺ jouent un rôle majeur de défense de l'hôte contre l'infection. Ils possèdent deux fonctions majeures : l'une cytotoxique et l'autre suppressive de la réplication virale.

2.3.2.1. Les réponses T CD4⁺ et TCD8⁺

L'existence de CTL spécifiques, qui représentent l'un des principaux mécanismes effecteurs impliqués dans la lutte antivirale (10, 12) a pu être démontré à la fois dans le sang périphérique et au sein des lymphocytes infiltrant les organes infectés. Ces réponses CTL, détectables chez plus de 90% des sujets infectés, sont essentiellement dirigées contre la RT et les protéines structurales de l'enveloppe et de la capsid. Les protéines de régulation *nef*, *rev* et *tat* par leur précocité d'apparition lors du cycle répliatif du virus, pourraient constituer des cibles de choix pour les CTL, leur permettant de lyser des cellules initiant le cycle de réplication virale avant même qu'elles ne produisent de particules infectieuses. Ces CTL reconnaissent de multiples déterminants antigéniques, les épitopes, dans les protéines du VIH, généralement dans des régions relativement conservées mais également dans des régions variables du génomes viral.

Des mutations ponctuelles fréquentes dans le génome de ce virus hyper-variable peuvent altérer la reconnaissance de ces épitopes et induire des phénomènes d'échappement à l'instar des drogues anti-rétrovirales.

La corrélation entre l'émergence de CTL et la diminution de la charge virale en phase de primo-infection, d'une part, et entre des taux importants de CTL spécifiques du VIH et la faible charge virale au cours de la phase pauci-symptomatique de la maladie, d'autre part

suggèrent l'efficacité protectrice de ces réponses CTL chez des sujets à risque, exposés mais non infectés, comme cela a été suggéré par certaines travailleuses du sexe.

L'importance de ces cellules a été démontrée récemment chez le macaque infecté par le SIV où l'élimination totale des lymphocytes CD8 secondaires à l'injection d'un anticorps monoclonal anti-CD8 a été suivie d'un rebond immédiat de la réplication virale (288). Néanmoins les réponses CTL contre le VIH, en détruisant des cellules répliquant activement le virus, ont pour corollaire un effet cytolytique important et participent ainsi à la déplétion T CD4⁺ et à la désorganisation du tissu lymphoïde.

Il a été postulé que les CTL spécifiques du VIH peuvent être importants dans la prévention de l'infection des sujets humains à risque pour VIH [les bébés infectés par voie verticale (59, 280), partenaires des patients infectés (189) et les travailleuses du sexe dans les zones à haut risque (286)]. De même, les CTL spécifiques des lentivirus peuvent aussi limiter la virémie initiale. Dans une étude sur des singes macaques cynomolgus, une corrélation inverse a été trouvée entre la fréquence des CTL précurseurs spécifiques d'un vaccin utilisant le gène *nef* et la charge virale après l'épreuve (115). Une corrélation inverse similaire a été trouvée entre une augmentation de la charge virale et les CTL spécifiques des lentivirus en primo-infection chez les macaques rhésus (203, 224, 268, 327) et chez les humains (31, 184).

Ces réponses sont très précoces et jouent un rôle important dans le contrôle de la réplication et de la dissémination du virus, au moins pendant les premières phases de l'infection (126, 160). Il a été clairement établi que le niveau de la charge virale plasmatique est inversement corrélé au pourcentage des CTL dirigés contre le VIH (243). Il a été montré de toute évidence que la limitation de la charge virale, en primo-infection aussi bien que dans les autres stades de l'infection lentivirale, est importante dans l'évolution de la maladie, pour le pronostic et la survie (34, 142, 193, 221, 224, 312). Par ailleurs, on note au début de l'infection une fréquence importante des précurseurs CTL de spécificité différentes puis une évolution variable qui est corrélée avec le profil d'évolution clinique vers la maladie. Par exemple le maintien des CTL est souvent associé à une absence de progression vers la maladie (178, 271). Chez les sujets infectés, les CTL spécifiques de VIH et leurs précurseurs ont été détectés facilement dans les PBMCs fraîchement isolés sans re-stimulation *in vitro* (127, 156, 274, 332). Dans les PBMCs stimulés des macaques, des CTL spécifiques de SIV ont également été retrouvés (34, 97, 115, 224, 294, 328, 329). Cependant l'activité CTL spécifique des lentivirus des chimpanzés et des singes verts semblent difficiles à démontrer (104, 164). La non détection des CTL spécifiques dans l'infection naturelle peut être due :

- à des limitations techniques (186)

- ou à un faible nombre de CTL circulants pendant une courte période de temps.

L'efficacité du contrôle de l'infection est fortement dépendante de la spécificité et de la diversité des réponses CTL. Le maintien des CTL qui sont spécifiques du gène *gag* (178, 273) ainsi que l'hétérogénéité du répertoire V β exprimé après les CTL pendant la primo-infection (248) semblent particulièrement impliqués dans la diminution du risque de progression vers la maladie.

Aussi des mutations au niveau des épitopes viraux reconnus par les CTL peuvent être à l'origine de variants viraux contre lesquels la réponse CTL devient inefficace et qui se répliquent activement et influent sur la progression vers la maladie (32, 128, 257). Cependant l'émergence de nouveaux variants peut induire de nouvelles réponses CTL adaptées et capables de les contrôler. La capacité des individus à générer des réponses CTL variées serait ainsi associée à une non progression vers la maladie (136, 344) tandis que des réponses limitées favoriseraient la progression vers la maladie (165, 241). Il faut signaler que l'activation chronique des CTL pourrait également être à l'origine de leur anergie et donc de leur inefficacité dans les phases tardives de l'infection.

2.3.2.2. La réponse NK

L'activité cellulaire NK (Naturel Killer) a été trouvée diminuée chez les humains infectés par le VIH (35, 298) dans les deux cas, phases tardive de la maladie (260) et phase précoce (asymptomatique) (41). La diminution de l'activité NK a été attribuée en partie à un défaut fonctionnel (30, 298). Dans la phase précoce de l'infection VIH, il n'a pas été observé une diminution du nombre absolu ou de pourcentage des cellules NK (CD16⁺) (260). Au fur et à mesure de la progression de la maladie, le nombre de cellules CD16⁺ (329) ou CD56⁺ diminue (260) et cela peut contribuer à la diminution de l'activité NK. Comme chez l'homme, les macaques infectés par SIV ont montré une très basse activité NK plus significative que chez les macaques non infectés (263, 328). Ces défauts ont été observés précocement, deux mois post-infection. Cependant l'activité NK chez les sooty mangabey infectés par SIV n'est pas différente de celles des mangabés non infectés (263). De même, l'infection expérimentale par le VIH-1 chez les chimpanzés n'a pas d'impact négatif sur l'activité NK (104, 171). Le chimpanzé infecté naturellement par SIVcpz a été bien étudié (171) et l'activité NK chez cet animal a été trouvée significativement très élevée par rapport aux animaux contrôles. Ce qui est intéressant, est que l'activité NK de cet animal fluctuait au delà du temps et tendait à refléter inversement le titre viral dans le sang périphérique (171). Chez les humains, la

cytotoxicité dépendante des anticorps (ADCC) peut être souvent détectées très tôt dans l'infection à VIH, et souvent plus précocement que les anticorps neutralisants (36, 105, 323). Similairement, dans la plupart des études chez les chimpanzés, des anti-VIH-1 ADCC ont été observés tôt après l'infection (23, 323), cependant dans une étude sur le chimpanzé, il a été démontré, que l'ADCC contre le VIH n'a pas été détectable en phase précoce, mais relativement tard après l'infection (105). Par ailleurs, en dépit des souches de laboratoire, l'utilisation d'isolats cliniques VIH a montré chez des chimpanzés qu'ils avaient une réponse ADCC plus large que chez l'humain (36). L'ADCC a été trouvée après vaccination chez des singes verts infectés avec du virus SIVagm entier inactivé (297) et chez des rhésus macaques infectés par SIVmac (245). Comme il a été observé dans le cas de la cytotoxicité spécifique VIH, le rôle exact des ADCC anti-VIH n'est pas complètement élucidé. L'ADCC a aussi été considérée comme seule cause de déplétion des cellules CD4⁺ par lyse des cellules CD4⁺ par lyse des cellules non infectées qui ont absorbé la gp120 (206, 245) ou les régions homologues entre la gp41 et le CMH de classe II domaine beta-1 (122).

2.3.2.3. Cytokines et réplication des lentivirus

D'autres activités anti-virales des cellules CD8⁺ ont été rapportées. IL s'agit par sécrétion d'un ou de plusieurs facteurs solubles en inhibant la réplication lentivirale chez l'homme (29, 68, 168, 237, 242, 328, 333, 334, 335), chez les chimpanzés (170, 171), les macaques rhésus (26, 161, 171), sooty mangabés (179, 262, 264) et les singes verts (14, 96).

Par ailleurs, il faut signaler qu'une activité suppressive de l'IL-16 sur la réplication du VIH a été également décrite (14) cependant son implication dans la pathogenèse du VIH reste à démontrer. L'infection directe de cellules du système immunitaire par les lentivirus constitue une source importante et continue d'activation du système immunitaire (101). Cette activation conduit à l'augmentation chez les individus infectés, des cytokines pro-inflammatoires (TNF- α , IL-1 β et IL-6) par les cellules mononuclées périphériques (261). Il a été également observé une production importante de l'INF γ au niveau des tissus lymphoïdes chez les sujets infectés (131, 261), inversement corrélée au pic d'antigénémie chez les macaques et associée à l'évolution vers la maladie (174). Des taux importants de TNF- α et d'IL-6 dans le plasma et le liquide céphalo-rachidien ont également été décrits chez l'homme infecté par le VIH (261) ces cytokines (l'IL-6, le GM-CSF et l'INF γ) semblent réguler la réplication virale en agissant au niveau post transcriptionnel (261).

Différents sous-population de cellules T CD4⁺ ont été décrites chez l'homme selon leur profil de sécrétion de cytokines. En effet, les cellules Th1 qui sécrètent l'IL-2 et l'INF γ favorisent les réponses immunes à médiation cellulaire alors que les Th2, qui sécrètent l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-10, contrôlent les réponses immunes à médiation humorale (230, 276). Même si certains auteurs font état d'un lien entre la progression vers la maladie et un déséquilibre des sous populations T CD4⁺, avec une transition du profil Th1 vers le profil Th2 (63, 65), des résultats contradictoires ont été décrits (132, 212). Ces divergences semblent provenir de différences entre les approches méthodologiques utilisées et entre les stades de l'infection (230, 276).

2.3.2.4. La réponse suppressive

Les cellules suppressives n'ont pas encore été complètement définies ou caractérisées en terme phénotypique. En effet, le concept d'une sous population suppressive isolée, a fait l'objet d'interrogations ces dernières années. Il semble possible que quelques cellules puissent simplement exhiber un état suppressif. La suppression spécifique de l'antigène est médiée par des cellules qui ont été rendues anergiques, en compétition avec les cellules actives pour les ligands et les cytokines (300). Une suppression spécifique peut être médiée par certaines cytokines, par exemple TGF- β , IL-4 et IL-10 (300, 348). Chez les humains, on peut définir comme cellules suppressive potentielles, les cellules CD8⁺ CD57⁺ qui exercent une action suppressive sur les CTL spécifiques du HLA, les cellules NK et les cellules LAK qui agissent par le moyen de facteurs solubles (13, 283). En se basant sur ces découvertes in vitro, ces populations cellulaires ont été suggérées être impliquées dans la pathogenèse du SIDA (13, 162, 283), quoique les valeurs pronostiques ont été mises en question (119).

Les facteurs solubles sécrétés par les lymphocytes CD8⁺ et possédant une activité antivirale jouent également un rôle dans l'évolution de l'infection à VIH. Le premier facteur décrit, le CAF (CD8 Antiviral Factor), est capable d'inhiber la réplication virale par un mécanisme non cytolytique et non restreint par le CMH (334, 335). Ce facteur qui ne correspond à aucune cytokine ou chimiokine connue actuellement (210, 244) agit au niveau de la transcription du LTR du VIH (55, 207) et son activité est corrélée à l'évolution de la maladie (209, 286). La nature exacte de ce facteur est sujette à controverse mais on sait qu'il peut être sécrété aussi bien par les lymphocytes T CD8⁺ du sang périphérique que ceux des ganglions (27) indépendamment de l'activité CTL ou non de ces cellules (349). Les réponses immunes cellulaires, qu'elles soient cytotoxiques ou suppressives, sont fortement dépendantes de facteurs génétiques de l'hôte. En effet, comme nous l'avons souligné plus haut, l'efficacité

des réponses CTL vis-à-vis du VIH est fortement corrélée à la capacité des allèles du CMH de classe I de se lier à plusieurs épitopes viraux. De même, l'activité inhibitrice des chimiokines ne saurait être dissociée du niveau d'expression de leurs récepteurs à la surface des cellules cibles du VIH.

III. LES MODELES SIMIENS D'INFECTION LENTIVIRALE

3.1. Les modèles simiens d'infection pathogène

3.1.1. Le modèle macaque

L'histoire de l'infection SIVmac chez le macaque rhésus a montré que le macaque n'était pas l'hôte naturel, mais un hôte accidentel du SIV de sooty mangabey transmis lors des partages des cages (113). Contrairement aux infections chez les hôtes naturels, l'infection du macaque par SIVmac/SIVsm aboutit à un Sida. L'évolution de l'infection SIV chez le macaque se déroule sur une période comprise entre 1 à 3 ans et en trois phases successives comme chez l'homme : primo-infection, période asymptomatique et la période symptomatique accompagnée d'infections opportunistes.

L'antigénémie p27 apparaît dès les premières semaines qui suivent l'exposition au virus. Elle reflète une réplication virale active. Cette phase est caractérisée par une baisse transitoire des lymphocytes T CD4⁺ périphériques (195, 265, 353), non retrouvée au niveau ganglionnaire (278), où on note cependant des anomalies qualitatives des lymphocytes T comme une diminution des réponses prolifératives et de la synthèse d'IL-2 (118). Il a été démontré que le virus se réplique activement dans différents organes lymphoïdes tels que le thymus, les ganglions lymphatiques, la rate et surtout l'intestin (21, 50, 187, 326, 345). Au niveau des ganglions, des particules virales infectieuses sont piégées par les cellules folliculaires dendritiques présentes dans les centres germinatifs (50). Cette phase est corrélée à un pic de virémie massive plasmatique et cellulaire qui apparaît environ deux semaines après l'infection, suivi d'une diminution plus ou moins de virus circulant (149, 191). Le niveau auquel se stabilise la charge virale périphérique, six à huit semaines après l'infection, constitue une bonne valeur prédictive de l'évolution de l'infection (149, 202, 308). Au niveau ganglionnaire, on observe la production de cytokines (INF γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-12, IL-6, IL-10, TNF α et TNF β) qui est corrélé avec la réplication virale et persiste pendant les huit premières semaines de l'infection (57, 173). La production importante d'INF γ au niveau des ganglions est inversement corrélée au pic d'antigénémie et est associée à la diminution de la

production virale dans ces organes ainsi qu'une progression lente vers la maladie (173). Pendant cette phase, on note également une augmentation de l'expression de la β -chimiokine RANTES (Regulated upon Activation, Normal T-cell Expressed and Secreted), ligand de CCR5, aussi bien au niveau périphérique qu'au niveau tissulaire (58). La production virale en primo infection semble induire une réponse CTL spécifique avant d'induire une réponse humorale.

Lors de la séroconversion, les anticorps anti-p27 apparaissent en général deux à quatre semaines après l'exposition au virus. Une charge virale élevée dans les ganglions (50, 268) est fréquemment observée au cours de cette période, avec une concentration de l'ARN viral au niveau des cellules folliculaires dendritiques présentes dans les centres germinatifs.

La phase asymptomatique comparée à celle observée chez l'homme fait état d'un titre en anticorps élevé (268, 353), ainsi que la réponse immune cellulaire spécifique (20, 175, 351) et d'une charge virale persistante mais faible (52). Il a été observé, tout comme chez l'homme, que les lymphocytes T $CD8^+$ joueraient un rôle dans le contrôle de la charge virale pendant cette phase, car la déplétion des cellules $CD8^+$ durant les phases aiguë et chronique de l'infection SIVmac chez macaque favorise la propagation virale (181, 288). L'augmentation des lymphocytes T $CD4^+$ et T $CD8^+$ durant cette phase est liée à une régénération rapide de ces cellules après la primo-infection, grâce à une activation induite par le virus (225, 279). Malgré l'absence de signes cliniques pendant cette période qui dure généralement entre un et trois ans avant la mort de l'animal, des anomalies biologiques s'accumulent progressivement. Par exemple, la capacité des cellules T de proliférer en réponse à un mitogène diminue de façon dramatique et persistante (86), conduisant ainsi à une diminution progressive des cellules $CD4^+$, probablement par apoptose (98).

Sur le plan clinique, la phase terminale est marquée, tout comme chez l'homme par des manifestations cutanées, entériques et encéphaliques, des lymphomes B, une perte pondérale, des lympho-adénopathies et des infections opportunistes. Sur le plan biologique, on observe une hypergammaglobulinémie, une thrombocytopenie et une perte sévère des lymphocytes T $CD4^+$ périphériques et des récepteurs solubles d'IL-2 (195, 219). Par ailleurs, il a été noté une augmentation significative de la charge virale plasmatique, circulante et tissulaire au niveau des ganglions et de la rate (272, 336). Par ailleurs, il a été noté une augmentation significative de la charge virale plasmatique, circulante et tissulaire au niveau des ganglions et de la rate (272, 336). La réponse proliférative des lymphocytes T aux antigènes diminue considérablement (24, 86, 194). Les réponses cytotoxiques spécifiques disparaissent plus ou moins rapidement selon l'animal. A côté de la forme précédemment décrite et observée chez

l'homme, il existe chez certains macaques (nemestrina ou rhésus d'Inde), une forme à évolution aiguë de la maladie qui aboutit à la mort dans les trois mois qui suivent l'inoculation virale (194). Ce type d'évolution n'est pas observé chez l'homme, sauf dans certains cas de Sida pédiatrique à transmission périnatale.

Il a existé des formes prolongées et moins virulentes, avec une longue période d'incubation supérieure à celle sus-citée, c'est le cas de l'infection expérimentale du macaque à queue de cochon par SIVmne (24, 150, 228). Elles se caractérisent par une charge virale généralement inférieure à 10^5 copies d'ARN/ml de plasma pendant les phases post-aiguës et chroniques de l'infection.

Dans le modèle d'infection SIVmac chez le macaque, l'évolution de l'infection dépend du virus inoculé et de l'animal. L'inoculum correspond soit à des souches virales isolées à partir d'animaux infectés en captivité, soit à des clones moléculaires obtenus à partir de ces isolats. Ces virus induisent ou non une maladie et lorsqu'ils l'induisent, son évolution est plus ou moins rapide selon l'hôte.

3.1.2. Autres modèles pathogènes

- L'infection par SIVsm : Les souches, SIVsmDelta (236) et SIVsmYerkes (113) se sont révélées pathogènes chez les macaques rhésus (219). La souche SIVsmYerkes a rendu malade aussi des macaques à queue de cochon (112) et de cette infection a été obtenue un variant nommé SIVsmPbj14. Les macaques cynomolgus et à queue de cochon se sont révélés vulnérables à l'infection suraiguë par le variant SIVsmPbj14. Par contre le macaque rhésus le serait moins et ferait un Sida classique (199). La mort provoquée par ce variant n'est pas due à une immunodéficience, mais elle est causée par une hyperactivation et un syndrome diarrhéique gastro-intestinal suraigu. La virulence de cette souche a aussi été démontrée chez les mangabés (73).

- Le VIH-2 est phylogénétiquement proche des SIVmac et SIVsm avec qui il partage environ 75% d'homologie en séquence nucléotidique. Le macaque rhésus et le cynomolgus sont sensibles à l'infection VIH-2, toutefois celle-ci n'évolue pas toujours vers une maladie et n'est pas non plus toujours persistante (87, 354). Cependant la virulence peut être augmentée par des passages successifs chez l'animal (220, 331). L'infection par le VIH-2 a également été testée chez le macaque à queue de cochon, suggérant une sensibilité plus importante chez cette espèce (229). Compte tenu du faible pouvoir pathogène du VIH-2 observé lors des infections réalisées chez les macaques, ce modèle a été abandonné pour les études

physiopathologiques au profit des études sur la définition et l'évaluation de stratégies thérapeutiques.

3.2. Les modèles simiens d'infection non pathogène

Contrairement aux singes macaques infectés par SIVmac, les singes d'Afrique porteurs naturels de virus SIV, ont une caractéristique commune qui est la non pathogénicité de ces infections chez l'hôte naturel, du moins en ce qui concerne les infections pour lesquelles des études sur une longue période ont pu être effectuées. Il s'agit des infections :

- SIVagm chez le singe vert,
- SIVsm chez le mangabey,
- SIVmnd chez le mandrill
- et SIVcpz chez le chimpanzé.

Les infections les plus étudiées sont, l'infection des singes verts d'Afrique par le SIVagm et l'infection des mangabeys par le SIVsm.

3.2.1. Le modèle singe vert d'Afrique

Il existe quatre espèces de singes verts d'Afrique (sabaeus, tantalus, vervets et grivets) qui sont infectés par des virus SIV spécifiques appelés SIVagm.sab, SIVagm.tan, SIVagm.ver et SIVagm.gri respectivement. L'infection des singes verts par SIVagm est persistante et asymptomatique comme chez les autres porteurs naturels de SIV (3, 4, 80, 148, 185, 246). Cette infection est endémique chez les populations sauvages de singes verts avec des taux de séroprévalence compris entre 30 et 50% (146, 167, 234, 246). La majorité des souches SIVagm inoculés aux macaques par voie intra-veineuse ne sont pas pathogènes, à l'exception d'une seule qui a provoqué un syndrome d'immunodéficience (81) chez des macaques nemestrina.

La primo-infection chez le singe vert est comparable sur différents points à celle observée dans le modèle pathogène. En effet, la primo-infection chez les singes verts sabaeus (85) a montré qu'au niveau périphérique, le plus grand nombre de copies d'ADN viral (entre 10^4 et 10^5 copies pour 1 million de cellules) a été observé 10 jours après l'infection chez trois des quatre animaux inoculés avec des cellules et du plasma infectés. Pour le quatrième animal le pic a été observé dès le 7^{ème} jour après l'infection. La charge virale ARN plasmatique était maximale entre J7 et J14 avec des valeurs comprises entre 10^4 et 10^7 copies par ml de plasma.

Au niveau des ganglions, il a été observé que les pics de charge virale ADN et ARN étaient également observés entre le 7^{ème} et le 10^{ème} jour après l'infection, avec des valeurs un peu plus faibles (entre 10³ et 3.10⁴ copies d'ARN pour 1 million de cellules). Au bout de 14 à 21 jours après l'infection, les charges virales ADN baissent de 2 à 3 log dans les deux compartiments et atteignent les valeurs pendant la phase chronique de l'infection, à savoir entre 10² et 10³ copie d'ADN viral pour 1 million de cellules. De même, les charges virales ARN diminuent de 1 à 4 log en périphérie pour atteindre des valeurs comprises entre 10 et 2.10³ copies par ml de plasma. Après les pics de charge virale, la décroissance est de 1 à 2 log avant J21, puis de même amplitude jusqu'à trois mois après l'infection. Par ailleurs les ganglions durant la primo-infection ne subissent aucun changement morphologique majeur et ne présentent ni hyperplasie folliculaire ni infiltration de cellules CD8⁺ dans les centres germinatifs (85). Des études montrent l'infection des organes lymphoïdes qui conservent cependant une architecture normale et la charge virale ganglionnaire a été évaluée à une cellule infectée pour 10⁴ cellules (123). En dépit du tropisme préférentiel du SIVagm.sab pour les lymphocytes T CD4⁺ simiens, les singes verts ne développent pas de lymphopénie T CD4⁺ (96). L'infection des vervets par SIVagm.ver a montré au cours de la primo-infection, un déclin transitoire des cellules CD3⁺CD4⁺ dans le sang des animaux dont la charge virale était élevée, accompagné de signes d'activation transitoire des cellules CD4⁺, CD8⁺ aussi bien dans le sang, qu'au niveau des ganglions entre J7 et J17 (autour du pic de virémie) après infection. Ces résultats suggèrent une absence d'augmentation de l'activation cellulaire durant la phase chronique car faible pendant la phase aiguë, et contrastant avec les observation faites de l'infection lentivirale pathogène (182). Les singes verts infectés développent une réponse immune humorale dirigée contre le virus. Cependant la réponse en anticorps dirigée contre la protéine majeure core (p26) est faible voire absente chez ces animaux (80, 185, 240) et cette caractéristique est partagée par d'autres hôtes naturels de virus SIV tels que les mandrills (321) et les mangabés (269) contrairement à ce qui est observé chez l'homme. Par contre, le macaque à queue de cochon et les babouins infectés par SIVagm développent une très forte réponse humorale anti-p26 (15, 149, 180). La signification de cette faible réponse humorale, contre la protéine p26 du SIVagm chez l'hôte naturel, n'est pas connue mais pourrait être à le reflet de mécanismes impliqués dans l'absence de pathogénicité. Les vervets infectés par SIVagm, développent également des anticorps neutralisants, mais le titre apparaît faible (240). Cette neutralisation devient plus sensible après exposition à des molécules CD4 solubles (4) et cet effet est supprimé en présence d'anticorps obtenus chez des animaux naturellement infectés (2, 4, 341). La description d'anticorps, produits pendant la phase précoce de

l'infection, capables de neutraliser le virus après son attachement à la molécule CD4 (5) est en faveur d'un changement conformationnel de la gp120 consécutif à son interaction avec la molécule CD4. Comme chez l'homme, il semblerait que les singes verts infectés ne développent pas non plus d'anticorps cytotoxiques capables d'induire la lyse des cellules infectées en présence de complément (240). L'activité ADCC, ainsi que l'activité cytotoxique non restreinte par le CMH, est inférieure à celle retrouvée chez l'homme infecté par le VIH-1 et le macaque rhésus infecté par le SIVmac (267). L'activité CTL est probablement faible pendant la phase chronique de l'infection (239).

Par ailleurs les monocytes macrophages sont sensibles à l'infection SIVagm (4, 108) de même que les lignées cellulaires T humaines comme les Molt4clone8, les C8166, les CEM et les SupT1 *in vitro* (185, 240, 246). Par ailleurs, le SIVagm a la capacité d'utiliser, en plus de la molécule CD4 (4, 96), au moins trois co-récepteurs CCR5, STRL33 (Bonzo) et gpr15 (Bob) pour rentrer dans la cellule (56, 82). Enfin, aucune induction d'apoptose n'a été mise en évidence après activation des lymphocytes T CD4⁺ *in vitro* (98). En outre, la charge virale apparaît faible chez les vervets infectés naturellement, à savoir 0,5 à 5 copies d'ADN proviral pour 10⁶ PBMC circulants (138), mais des variations individuelles sont observées. La mise en cause de l'absence de pathogénicité dû à la faible réplication du SIVagm chez son hôte naturel est controversée (22, 96, 233). D'autres facteurs pourraient expliquer l'absence de pathogénicité, par exemple les lymphocytes T CD8⁺ de vervets secrètent un facteur soluble capable d'inhiber la réplication du SIVagm *in vitro*. Cependant la présence de ce facteur n'explique pas à lui tout seul l'infection asymptomatique chez le singe vert, puisqu'un facteur similaire est décrit chez l'homme infecté par le VIH-1 (68, 96, 334, 335).

Des études récentes ont démontré que le niveau de virémie, plasmatique et tissulaire, au cours de la phase aiguë et chez les singes verts naturellement infectés étaient comparable à celle observée dans le modèle pathogène (37, 124). Par ailleurs, le contrôle de cette virémie au cours de la primo-infection ne serait pas la seule raison de la résistance de l'hôte à la progression de la maladie (158).

3.2.2. Autres infections non pathogènes chez les singes d'Afrique

Exemples d'infection naturelle non pathogène identifiés à ce jour:

- le mandrill (321)
- le cercopithèque à diadème (91)
- le talapoin (33)

- le drill (67)
- le singes De Brazza (66)
- des singe Mona (66)
- le cercopithèque wolfi (284)
- et le cercopithèque ascanius (284)

Ces animaux ne semblent pas développer la maladie malgré l'infection virale persistante. Les premières données sur le mandrill et le cercopithèque diadème indiquent qu'ils présentent une faible réponse humorale dirigée contre la protéine majeure du core p25 (246), comme cela fut observé pour le singe vert. De même, très peu d'informations sont disponibles sur l'infection naturelle du cercopithèque l'hoesti par le SIVlhoest, des mangabey à crêtes rouge par le SIVrcm, des drills par le SIVdrl, singes De Brazza par SIVdeb, singes Mona par SIVmona, Cercopithèque wolfi par SIVwol et cercopithèque ascanius par SIVasc.

Contrairement au SIVsyk, le SIVlhoest et le SIVrcm sont capables d'infecter de manière productive des PBMC humains et de macaques. Une des particularités biologiques du SIVrcm par rapport aux virus des autres espèces de mangabey est son incapacité à infecter la lignée cellulaire CEMx174, ce qui traduit probablement une différence dans l'utilisation des co-récepteurs. L'isolat SIVrcm95GB1 semble présenter un profil unique parmi les VIH/SIV de par sa capacité à utiliser le co-récepteurs CCR2b et non-CCR5 (216). Aucune pathologie n'a pu être reliée aux SIV chez leurs hôtes naturels respectifs, alors qu'ils peuvent induire un SIDA chez des espèces hétérologues. Ces modèles non pathogènes sont d'un grand intérêt pour l'étude des facteurs impliqués dans la résistance à la maladie et pour le moment ils sont aussi informatifs que les SHIV non pathogènes.

I. OBJECTIFS

Le laboratoire de Rétrovirologie de l'Institut Pasteur de Dakar étudie la physiopathologie des infections lentivirales à l'aide d'un modèle simien de résistance au Sida. En effet, les singes verts d'Afrique (AGM) infectés par le virus SIV_{agm} ne développent pas la maladie malgré la persistance du virus. Les travaux antérieurs du laboratoire ont montré que cette infection non -pathogène ne résultait pas du fait d'un virus atténué mais, plus probablement, lors de la primo-infection, du caractère transitoire précoce de l'activation des lymphocytes T CD4⁺, et d'une orientation particulière du profil d'expression de cytokines dans le sang (balance IL-10/TNF α en faveur de l'IL-10).

Pour notre mémoire de DEA, nous nous proposons d'étudier la réponse T CD4⁺ spécifique dans ce modèle d'infection asymptomatique afin d'identifier d'éventuels corrélats de protection contre le VIH.

Il s'agit de préciser les capacités fonctionnelles *ex vivo* des lymphocytes T des AGM en réponse à l'antigène, et en particulier la lymphoprolifération des lymphocytes T CD4⁺ spécifiques de SIV_{agm}. Pour réaliser ce projet le préalable est l'établissement d'un système de référence pouvant permettre de mener ces études fonctionnelles. Dans ce dessein, une vaccination des AGM par le BCG a été effectuée. Les études du profil de différenciation et de la fonctionnalité des lymphocytes T CD4⁺ se feront d'abord chez des animaux naïfs puis chez des animaux vaccinés avec le BCG. Une fois les méthodes validées dans ce modèle, elles seront appliquées à l'étude de la primo-infection SIV_{agm} chez les singes verts.

Les profils de différenciation et la fonctionnalité des lymphocytes T CD4⁺ pourront donc être comparés à ceux qui sont observés après une vaccination BCG, connus pour induire chez l'homme et la souris de bonnes proliférations cellulaires et de profils de cytokines de type Th1.

Très peu de données sont disponibles sur la fonctionnalité des cellules T CD4⁺ chez l'AGM ou chez d'autres modèles d'infection asymptomatique (Chimpanzé, Mangabé, Mandrill), alors que ces données pourraient nous renseigner sur les corrélats de la protection contre le SIDA. L'étude fonctionnelle consistera d'une part à analyser la réponse lymphoproliférative spécifique *in vitro* des lymphocytes T périphériques stimulés par l'antigène. Cette approche se fera dans un premier temps avec un test classique d'incorporation de thymidine tritiée. Le profil de cette réponse pourra être précisé en cytométrie de flux par marquages avec une sonde fluorescente (PKH26). L'étude fonctionnelle des lymphocytes T CD4⁺ spécifiques sera complétée par la mesure de cytokines synthétisées par les lymphocytes T. Suite aux travaux de

l'équipe d'accueil et étant donné leurs importances dans l'induction et la régulation de la réponse antivirale, deux cytokines ont été privilégiées pour cette étude : TNF α pro inflammatoire et l'IL-10 anti-inflammatoire. Elles seront mesurées en cytométrie de flux après une courte stimulation spécifique mais également sur le plasma.

Par ailleurs, la réponse humorale anti-BCG sera étudiée chez les animaux vaccinés.

II. MATERIEL ET METHODES

2.1 Matériel

2.1.1. Matériel biologique

2.1.1.1. Singes verts d'Afrique

Tous les animaux utilisés dans cette étude sont des singes verts d'Afrique (ou African Green Monkeys : AGM) appartenant à l'espèce *Chlorocebus sabaues*, capturés au Sénégal et maintenus en captivité à l'Institut Pasteur de Dakar (IPD). Ces animaux ont été testés pour la présence d'anticorps anti-SIV et anti-STLV, par Elisa et Western-Blot à l'aide de tests commerciaux (Platelia HTLV1 Bio-rad ; Lav blot II Diagnostics Biotechnology).

La définition de l'âge chez les singes verts a été basée sur l'analyse de critères physiques et morphologiques (114). Ainsi, on peut définir trois classes qui sont :

- Les jeunes (de la naissance jusqu'à environ 18 mois)
- Les juvéniles (animaux ayant entre 18 mois et 3 ans)
- Les sub-adultes/adultes (au-delà de 3 et 4 ans pour les femelles et les mâles respectivement).

Tous les animaux utilisés, huit AGM au total (00021, 03005, 02004, 03007, 03006, 02015, 02024, 97029) sont des singes juvéniles ou sub-adultes/adultes.

L'AGM 03007 a reçu une dose de 10^{10} CFU (Colony Forming Unit) de BCG (voir chap 2.1.1.3) en 5 points de part et d'autre de la colonne vertébrale en injection sous-cutanée

Les AGM 00021 et 02024 ont reçu chacun 10^8 CFU de BCG en 5 points de part et d'autre de la colonne vertébrale en injection sous-cutanée

Les singes AGM 03005 et 02015 ont reçu chacun 10^6 CFU de BCG en 5 points de part et d'autre de la colonne vertébrale en injection sous-cutanée

Les AGM 02004 et 97029 ont reçu chacun une dose de 10^4 CFU de BCG en 5 points sous-cutanés de part et d'autre de la colonne vertébrale

Et enfin l'AGM 03006 a reçu une dose de 0,05 ml de BCG qui est la dose infantile en 5 points sous-cutanés de part et d'autre de la colonne vertébrale

TABLEAU I: Classification des singes en fonction de la dose de vaccin BCG reçue

AGM	Dose Reçue
AGM 03007	10 ¹⁰ CFU
AGM 00021	10 ⁸ CFU
AGM 02024	10 ⁸ CFU
AGM 03005	10 ⁶ CFU
AGM 2015	10 ⁶ CFU
AGM 02004	10 ⁴ CFU
AGM 97029	10 ⁴ CFU
AGM 03006	0,05 ml (BCG SSI) *

* voir chap 2.1.1.3

Après une anesthésie à la kétamine (Imalgène® 1000 à 0.1ml par kg), un prélèvement de sang est effectué par ponction de la veine fémorale pour chacun des animaux afin de procéder à des examens complémentaires. Entre 5 et 10 ml de sang ont été recueillies dans un tube contenant un anti-coagulant (EDTA ou Héparine). Une partie a été utilisée pour la Numération Formule sanguine (NFS) et l'autre partie a servi à isoler les cellules mononuclées circulantes afin de caractériser les différentes sous populations lymphocytaires.

2.1.1.2.Cellules

Dix à vingt millilitres de sang sont prélevés sur tube hépariné et centrifugés pendant 5 minutes à 1800 rpm à 20°C. Après centrifugation, le plasma est retiré et congelé à -80°C pour le dosage ultérieur des cytokines plasmatiques, tandis que le culot restant est dilué de moitié avec du PBS 1X. Ce sang dilué est délicatement déposé sur un gradient de densité (Ficoll-Hypaque, Sigma) et centrifugé à 1800 rpm pendant 30 minutes à 20°C. L'anneau de PBMC est récupéré et lavé 3 fois dans 15 ml de RPMI 1640 par centrifugation (10 minutes à 1800 rpm). Après la dernière centrifugation, 10 µl de suspension cellulaire sont prélevés pour effectuer une numération sur une cellule de Malassez, après coloration par 10 µl de bleu de trypan 0,4% afin de visualiser les cellules vivantes au microscope.

2.1.1.3 Virus

Les virus SIVagm utilisés pour les infections expérimentales correspondaient à des populations virales non cultivées *in vitro*, pour éviter une sélection *in vitro* des variants viraux et rester le plus proche possible des virus inoculés lors d'infections *in natura*.

Le stock viral a été constitué à partir du singe donneur AGM 92018 qui est naturellement infecté. Les PBMCs et le plasma de cet animal ont été inoculés à l'AGM 00008. À J11 post-infection, le plasma a été prélevé puis le titre infectieux a été déterminé sur cellules SupT1 par une méthode en dilution limite sur plaque de culture cellulaire.

Le titre infectieux a été exprimé comme étant la dose virale permettant d'infecter 50% des cellules en culture (TCID₅₀) (par détection de l'Ag Gag p27 par test ELISA).

2.1.1.3. Bactéries et protéines

La préparation BCG nous a été fournie par Nathalie Winter de l'institut Pasteur Paris, il s'agit de la souche vaccinale Pasteur 1173 P2 de *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin (BCG).

Le vaccin BCG SSI est un vaccin lyophilisé fabriqué à partir d'une souche atténuée de *Mycobacterium bovis*, souche danoise 1331. 1ml de vaccin reconstitué contient 0,75 mg de *Mycobacterium bovis* souche danoise 1331.

La tuberculine Purified Protein Derivative (PPD) (ou dérivé de protéine purifiée de tuberculine) est un liquide clair composé de PPD à partir de souches sélectionnées de *Mycobacterium tuberculosis*. La tuberculine PPD est produite en concentration de 2 Unités de Tuberculine (1 UT correspond à 0,02 µg de tuberculine PPD)

2.1.2. Réactifs et Tampons

2.1.2.1. Réactifs

- Bleu trypan : 4 V solution de bleu trypan à 20% , 1 V NaCl 75 mM
- Milieu Complet : RPMI 1640 contenant 10% de Sérum de Vœu Fœtal, 10% d'IL-2, 1% de Pénicilline – Streptomycine, 1% de L – Glutamine
- Milieu de congélation : Sérum de Vœu Fœtal à 90% + 10% de Diméthylsulfoxyde
- Milieu de décongélation : RPMI 1640 contenant 20% de Sérum de Vœu Fœtal

- Milieu normal : RPMI 1640 contenant 10% de Sérum de Vœu Fœtal , 1% Pénicilline streptomycine et 1% L – Glutamine
- Diméthylsulfoxyde : DMSO (Sigma D 5879 – 100 ml)
- Tétraméthylbenzidine : TMB (Sigma T 0440 – 100 ml)
- Ficoll-paque (Pharmacia Biotech)
- RPMI 1640 (Bio Wittaker)
- SVF : Sérum de Vœu Fœtal (Gibco Life Technologies) décomplémenté 30 min à 56°C
- IL2 : Interleukine 2 (200 U/ml, Biotest)
- Concanavaline A : ConA (1 mg/ml Poly Labo) Concentration finale d'utilisation de 5 µg/ml
- Nunc Immuno plates, cat no 12-565-136, 0.4 ml, 96 puits, fond plat.
- Anticorps anti-singe fabriqué chez la chèvre IgG-h+1 HRP conj. (Conc 1 mg/ml, Bethyl, cat no A140-102P)
- Anticorps anti-singe fabriqué chez la chèvre IgG, M, A (h+1) HRP (Conc. 1 mg/ml, Rockland Inc, code no 617-103-130, lot 13253).
- Tween 20 : Sigma P9416, 100 ml
- BSA : Bovine Sérum Albumin, Stem cell Technologies, Cat
- Azide de Sodium : S-2002, 100g, Sigma
- Carbonate acide de Sodium NaHCO_3 401676-2,5 kg, Sigma
- Carbonate de sodium : Na_2CO_3 S2127, Sigma

2.1.2.2. Tampon

- PBS 10X (GIBCO BRL) : KCl : 0,2 g/l
 KH_2PO_4 : 0,2 g/l
 NaCl : 80 g/l
 Na_2HPO_4 : 21,6 g/l
- PBST ou PBS-Tween: 0.5 ml Tween-20 dissous dans 1L PBS
- PBST-B : 2 ml BSA (Bovine Serum Albumin) solution (10%) added to 18 ml PBST (pour une plaque).
- Tampon de Block : 2 ml BSA solution (10%) sont ajoutés dans 18 ml PBS (pour une plaque)
- Substrat : constitué de capsule de perborate de sodium
- Solution d'arrêt : H_2SO_4 2 N

- Tampon de Coating : Na_2CO_3 : 5,3 g/l
 NaHCO_3 : 4,2 g/l
Azide de Sodium : 1 g/l
Ajuster le PH à 9,6
- Tampon de lavage : PBS 0,1% Tween 20
- Tampon de Block : PBS 3% BSA

2.2. Techniques de Culture cellulaire

Deux techniques ont été utilisées, une culture directe des PBMC et une co-culture des PBMC avec des cellules de lignées (SupT1, Molt4 Clone8)

2.2.1. Congélation :

Une suspension cellulaire contenant 5.10^6 cellules est centrifugée pendant 5 min à 1800 rpm et le culot est re-suspendu dans 0,9 ml de SVF pur + 0,1 ml de DMSO. Les cellules sont congelées 2 heures à -20°C puis transférées à -80°C .

2.2.2. Décongélation :

Les cellules sont décongelées rapidement à 37°C au bain marie et immédiatement diluée au 1/10 dans du RPMI froid contenant 20% de SVF. Après 5 min de centrifugation à 1800 rpm et un deuxième lavage avec du RPMI contenant 20% de SVF, les cellules sont re-suspendues dans le milieu de culture habituel.

2.2.3. Culture directe de PBMC

Les cellules vivantes sont comptées après coloration au bleu de trypan, puis centrifugées 5 min à 1800 rpm. Les culots de PBMC sont re-suspendus dans du milieu complet à une concentration de 10^6 cellules par ml en présence de l'IL-2 qui est un facteur de croissance des cellules T. Les cultures sont incubées à 37°C en atmosphère humide contenant 5% de CO_2 et le milieu renouvelé tous les 3 jours. Les cellules sont stimulées avec de la Concanavalin A à $15 \mu\text{g}/\text{ml}$ ou la PPD à $10 \mu\text{g}/\text{ml}$ pendant 5 jours.

2.2.4. Co-culture avec des PBMCs ou des lignées

Compte tenu de la faible croissance des PBMCs animaux *in vitro* et des effets cytopathogènes réalisés par les virus en culture directs, les PBMCs des animaux infectés ont été mis en co-culture. Ces co-cultures ont été réalisées dans les buts suivants : faciliter l'isolement des virus, maintenir la production virale indéfiniment afin d'obtenir un important stock viral.

Pour les lignées (Molt4cl8 ou SupT1), les lymphocytes de l'animal infecté sont stimulés pendant 3 jours. Le mélange se fait alors dans un rapport de 2/1 entre les PBMCs simiens infectés stimulés et les cellules de lignées, dans un milieu normal à 10% SVF et à une concentration cellulaire de $0,5 \cdot 10^6$ / ml.

2.2.5. Isolement et propagation des SIV

2.2.5.1. Culture directe

Les PBMCs sont isolés, mis en culture directe, stimulés et régulièrement suivis selon les méthodes décrites ci-dessus. Dès l'apparition éventuelle de syncytia et une diminution de la croissance cellulaire due à l'effet cytopathogène de certaines souches virales, des PBMCs simiens non infectés et stimulés depuis 3 jours dans le milieu complet (avec IL-2), sont ajoutées une fois toutes les deux semaines afin de maintenir la production virale, est mise en évidence par mesure de l'antigène p27 (Kit ag-p27 SIV, Coulter) dans les surnageants de culture. Les surnageants des cultures positives sont alors aliquotés et conservés à -80°C . Ils constituent une source de virus infectieux.

2.2.5.2. Co-culture avec des cellules de lignées

Des co-cultures avec des lignées cellulaires continues (SupT1, Molt4 Clone8). Après 3 jours de stimulation par le mitogène (Con A), les PBMCs sont progressivement éliminés de la culture, et seules les cellules de lignées sont productrices de virus. Cependant ce procédé présente l'inconvénient de sélectionner les variants viraux qui s'adaptent à la lignée cellulaire utilisée. Le virus ainsi produit n'est pas forcément représentatif de la population présente *in vivo*. Aussi n'est elle utilisée que pour la mise en évidence du virus dans les lymphocytes du sujet lorsque l'isolement est difficile et non pour la caractérisation des virus.

2.3. Techniques sérologiques

2.3.1. Elisa SIV : Dosage de l'antigène p27

Les protéines de core p27 de SIV sont recherchées par une technique immunoenzymatique avec le kit de détection d'antigène viral p27 SIV (Coulter® SIV core Antigen Assay).

- 200 µl de surnageant de culture ou de plasma sont déposés dans des puits sensibilisés en anticorps monoclonaux murin anti-p27, contenant un tampon de lyse. La plaque est incubée à la température ambiante (20-30°C) pendant une nuit. Si les protéines de core recherchées sont présentes, elles se fixent à l'anticorps monoclonal.
- 200 µl d'une solution contenant un anticorps anti-SIV biotinylé, est ajouté après rinçage de la solution contenue dans chaque puit. Une nouvelle incubation est réalisée à 37°C pendant une heure.
- 200 µl de streptavidine conjugué à la peroxydase sont ajoutés après lavage à 6 reprises des puits. La présence de la peroxydase fixée au complexe streptavidine – biotine – Ac - Ag est révélée après lavage à 6 reprises avec du wash buffer et incubation en présence d'un substrat chromogène, la tetraméthylbenzidine (TMB).
- Le complexe forme un produit coloré dont l'intensité est proportionnelle au nombre de molécules d'antigènes présentes dans les surnageants de culture.

La mesure de la coloration se fait par spectrophotométrie. Les contrôles positifs et négatifs définissent les normes de validité de la technique et la valeur seuil, égale à la moyenne des contrôles négatifs, est calculée. Tout échantillon ayant une valeur de densité optique supérieure ou égale à la valeur seuil est considéré comme positif.

2.3.2. Elisa BCG

Nous avons mis au point une technique « maison » pour la mesure de la réponse humorale anti-BCG :

- Sensibiliser une plaque de 96 puits avec 100 µl de PPD (0,5 mg/ml) dans 20 ml de tampon de coating qui donne une concentration finale de 2,5 µg/ml avec un volume final de 100 µl/puit
- Incubation une nuit à 4°C
- Lavage 6 fois avec 300 µl de PBS 0,1% Tween 20

- On bloque avec 200 µl de PBS 3% BSA pendant 2 heures à température ambiante
- Lavage 6 fois avec 300 µl de PBS 0,1% Tween 20
- On met les échantillons diluer au 1/20^{ème} (20 µl de plasma + 380 µl de PBS 3% BSA) 100 µl/puit en duplicate
- Incubation 2 heures à température ambiante
- Dilution du conjugué au 1/10000^{ème} dans du PBS 0,1% Tween qui est un anticorps anti-singe fabriqué chez la chèvre. Il permet de détecter les IgG, M et A. On met 100 µl/puit, Incubation 1 heure à température ambiante.
- Lavage 6 fois avec 300 µl de PBS 0,1% Tween 20
- On met 100 µl/puit de tétraméthylbenzidine
- Incubation 30 minutes à l'obscurité
- On arrête la réaction avec 50 µl d'H₂SO₄ 2N
- Lecture au spectrophotomètre à 450 nm.

2.4. Méthodes de mesure de la prolifération cellulaire *in vitro*

2.4.1. Marquage par thymidine tritiée

Les essais de lymphoprolifération *in vitro* par incorporation de thymidine tritiée sont réalisés selon le protocole suivant : les lymphocytes fraîchement isolés (2 x 10⁵ cellules/puit) sont cultivés en présence de 10 µg/ml de PPD et 15 µg/ml de ConA comme témoin positif. Après 4 jours de culture, chaque puit reçoit 1 µCi de thymidine tritiée (Amers-ham). Après 16 heures, les cellules sont transférées sur filtre et le rayonnement β est mesuré à l'aide d'un compteur à scintillation. Les données sont exprimées en Index de stimulation.

2.4.2. Principe de la cytométrie en flux

La cytométrie en flux, ou FACS (Fluorescence Activated Cell-Sorting) est une technique d'analyse multiparamétrique sur des cellules isolées à partir d'une suspension de populations cellulaires hétérogènes. Les mesures simultanées des caractéristiques physiques et biologiques sont effectuées isolément sur chacune d'entre-elles lorsque, entraînée, à grande vitesse, par un fluide au centre d'une veine liquide, elle traverse la source d'excitation lumineuse (faisceau laser). Après intersection du rayon incident, la cellule diffracte la lumière. L'intensité de la lumière diffractée dans l'axe est proportionnelle à la taille de la cellule (FSC : Forward

Scatter); celle diffractée à 90° est représentative de son contenu cytoplasmique (SSC : Side Scatter). Chaque cellule passant devant le faisceau laser peut aussi émettre de la fluorescence à diverses longueurs d'ondes, qui est mesurée à 90° (de 3 à 6 signaux de fluorescence analysés simultanément suivant les appareils). Cette fluorescence peut être naturelle ou le plus souvent résulter de l'incorporation ou de la fixation de sondes spécifiques (fluorochromes, anticorps marqués, plasmide GF, etc.). Les signaux détectés par le système optique sont amplifiés, convertis en signaux électroniques puis en valeurs numériques. Elles sont analysées grâce à l'unité informatique du cytofluorimètre.

Cette technique permet de faire individuellement et simultanément l'analyse quantitative et qualitative de plusieurs paramètres, selon des critères choisis, sur chaque élément mis en suspension dans un liquide. Ces éléments peuvent être des cellules, des bactéries, mais aussi des constituants subcellulaires.

Elle permet l'analyse de nombreux constituants cellulaires (acides nucléiques, lipides, protéines), d'organites isolés (noyaux, mitochondries, plastes, chromosomes) ou de certaines fonctions cellulaires (viabilité, activités enzymatiques...). Typiquement l'analyse se fait à plusieurs milliers d'objets par seconde.

2.4.3. Protocole de suivi de prolifération de PBMCs, par marquage avec une sonde fluorescente, le PKH26

Principe :

Le PKH26 est une sonde fluorescente qui s'incorpore dans la membrane cellulaire de façon homogène. Lorsque les cellules se divisent, l'intensité de fluorescence du PKH26 va donc être diminué par 2. Une division supplémentaire induit une diminution d'un facteur 2 supplémentaire (etc.) par cytométrie en flux, on peut suivre la prolifération cellulaire en mesurant la diminution de l'intensité de fluorescence du PKH26 (120, 270)

Marquage PKH26

- Ficoll : après ficoll, faire 3 lavages des PBMCs dans du PBS 1X (il faut éliminer toute trace de sérum)
- Reprendre le PBMC dans un tube Falcon® conique de 15 ml à 10×10^6 cellules / ml dans du diluent C (Volume V) préalablement mis à température ambiante (suspension cellulaire)
- Préparer une solution de volume équivalent de diluent C contenant du PKH26 dilué au $1/400^{\text{ème}}$ (Concentration finale de PKH26 : 2,5 μM)

- Ajouter la solution de PKH26 à la suspension cellulaire en refoulant doucement avec la pipette pour bien homogénéiser le marquage. La concentration finale est ainsi de : 5×10^6 cellules / ml et $1,25 \mu\text{M}$ de PKH26 et le volume est de 2V
- Incuber 3 à 4 min à température ambiante (TA) en remuant à la main le tube pendant tout le temps

Arrêt de la réaction par un excès de protéines

- Ajouter un volume équivalent (2V) de SVF pur et incuber 1 min à TA
- Ajouter un volume de 4V de RPMI 10% SVF et centrifuger 5 – 7 min à 1700 rpm
- Aspirer le surnageant et reprendre le culot cellulaire dans 5 ml de RPMI 10% SVF (Les cellules ont tendances à coller sur les parois du tube, il faut bien les gratter)
- Centrifuger 5 – 7 min à 1700 rpm
- Compter les cellules
- Mise en culture
- Reprendre les cellules marquées PKH26 et non marquées dans du RPMI 10% SVF
- Distribuer 100 μl /puit soit
 - o Dans plaques 96 puits à fond rond à 1×10^5 cellules/puit
 - o Dans des plaques 96 puits à fond plat à 2×10^5 cellules/puit
- Distribuer 100 μl /puit de stimulation antigénique : Con A $15 \mu\text{g/ml}$ et PPD $10 \mu\text{g/ml}$ (soit volume final = 200 μl)
- Laisser en culture pendant 5 jours

2.5. Méthodes de mesure des cytokines

2.5.1. Mesure de Cytokines intracellulaire par cytométrie en flux

Les PBMCs sont récoltées après 5 jours de culture puis marquées. Pour le marquage on procède de la manière suivante :

- Récolte des échantillons, centrifugation à 1700 rpm pendant 5 min ; jeter le surnageant
- Ajout des anticorps CD4-APC et CD8-PerCP, incubation 30 min à 4°C
- Lavage avec du PBS 1X, centrifugation 1700 rpm pendant 5 min
- Re-suspension avec du paraformaldéhyde (PFA) 2%, incubation 10 min à 4°C
- Lavage avec du PBS 1X, perméabilisation avec 1 μl /puit de saponine
- Lavage avec du PBS 1X, ensuite marquage intracellulaire avec IL-10 FITC et TNF- α PE
- Incubation 30 min à 4°C (obscurité), lavage avec du PBS 1X
- Puis re-suspension avec 300 μl de PBS 1% PFA, lecture au cytomètre.

2.5.2. Dosage des Cytokines Plasmatiques

- Sensibilisation des plaques: Pour sensibiliser une plaque de 96 puits, on prend 50 µl de la solution « coating antibodies » pour TNF ou IL-10 plus 5 ml de PBS 1X, on ajoute 50 µl de cette solution à chaque puit et on complète à 100 µl avec du PBS 1X. Couvrir la plaque pour éviter les évaporations, Incubation une nuit à 4°C
- Lavage 6 fois au moins avec du PBS-T
- On ajoute 200 µl de la solution de blocage dans chaque puit
- Incubation 1 heure à 37°C
- Eliminer la solution de blocage
- Sans laver la plaque, ajouter 100 µl de plasmas dilués au 1/20° avec du CSB (Cytokine Stabilisation Buffer) dans chaque puits. Le CSB inhibe la dégradation des cytokines dans du sérum ou plasma pur.
- Couvrir la plaque et incuber 2 heures à 37°C
- Éliminer les échantillons et laver au moins 6 fois avec du PBS-T
- Ajouter les anticorps marqués à la biotine qui sont dilués au 1/100° : 100 µl/puits
- Incubation 1 heure à 37°C
- Éliminer la solution d'anticorps biotinylé puis laver au moins 6 fois avec du PBS-T
- Ajouter le conjugué marqué à la streptavidine diluée au 1/100° : 100 µl/puit
- Incubation 1 heure à 37°C
- Éliminer le conjugué et laver au moins 6 fois avec du PBS-T
- Dissoudre une tablette de TMB dans 1 ml de DMSO puis on complète à 10 ml avec du tampon substrat, distribuer 100 µl/puit, une coloration bleue se développe au bout de 10 à 30 minutes qu'on arrête en ajoutant 50 µl d'H₂SO₄ 2M / puit.
- Lecture au spectrophotomètre à 450 nm

III. RESULTATS

3.1.Choix des animaux

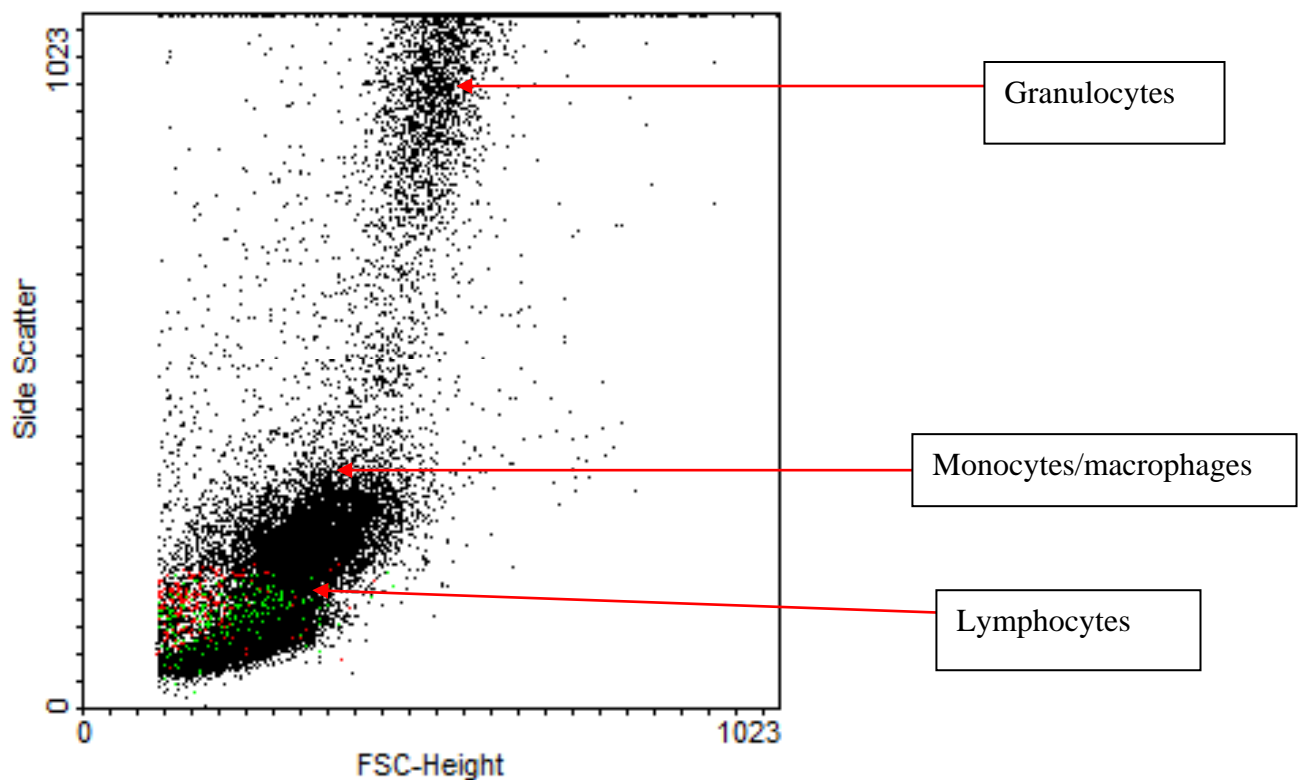
Pour cette 1^{ère} étape, on a choisi des animaux séronégatifs pour le SIV et le STLV-1, juvéniles ou sub-adultes avec un poids moyen de 3,31 kg (extrêmes à 2,25 et 4,5 kg). Ces animaux ne souffrent d'aucune affection cliniquement et biologiquement décelable

3.2. Mises au point des techniques : Approche expérimentale

- L'indice de stimulation est défini de la manière suivante :

IS = (% de décroissance du PKH26 de cellules stimulées) / (% de décroissance du PKH26 des cellules non stimulées)

- Définitions des régions (gating) pour la cytométrie de flux



Pour l'optimisation du protocole, trois paramètres (le nombre de cellules, la dose de mitogène et le temps d'incubation) ont été évalués de manière croisée.

3.2.1. Doses-réponses

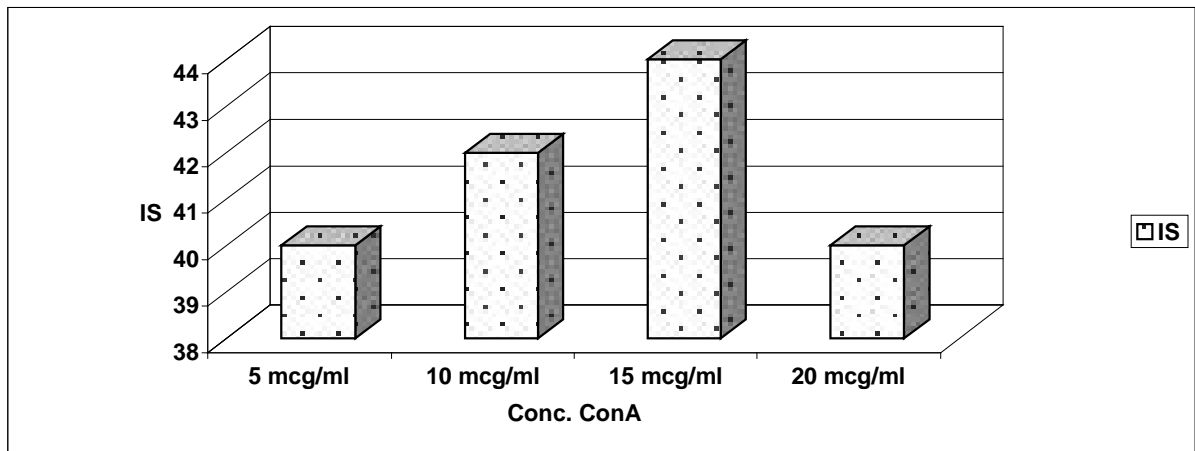


Figure 1 : Indice de stimulation en fonction de la concentration en Con A

Pour une période d'incubation de 5 jours et un nombre de 200000 cellules/ puits, on voit que la concentration optimale en Con A est de 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$

3.2.2. Nombre de cellules

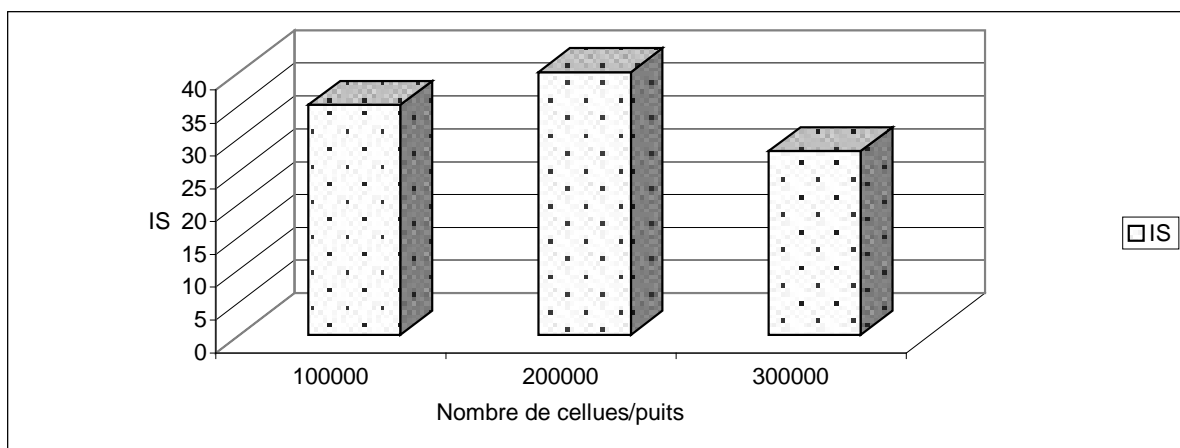


Figure 2 : Indice de stimulation en fonction du nombre de cellules/puit

Pour une période d'incubation de 5 jours et une concentration en Con A de 15 $\mu\text{g}/\text{ml}$
On voit que le nombre optimal est de 200000 cellules/cupule

3.2.3. Durée d'Incubation

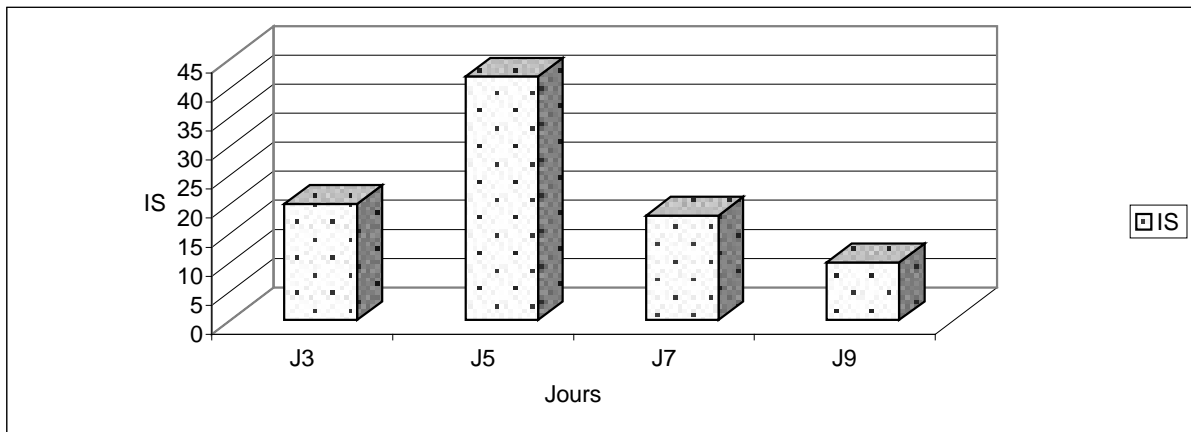


Figure 3 : Indice de stimulation en fonction de la durée d'incubation

Pour une concentration en Con A de 15 $\mu\text{g/ml}$ et un nombre de cellules de 200000 /puits, on voit que J5 est le temps optimal d'incubation.

3.3. Stimulation antigénique

Toutes ces approches expérimentales ont été faites avec le PPD pour des stimulations antigéniques spécifiques. L'ensemble des résultats montre que la concentration optimale pour le PPD est 10 $\mu\text{g/ml}$ pour une durée d'incubation de 5 jours et un nombre de cellules de 200000/puits

3.4. Suivi des lymphocytes dans le sang total

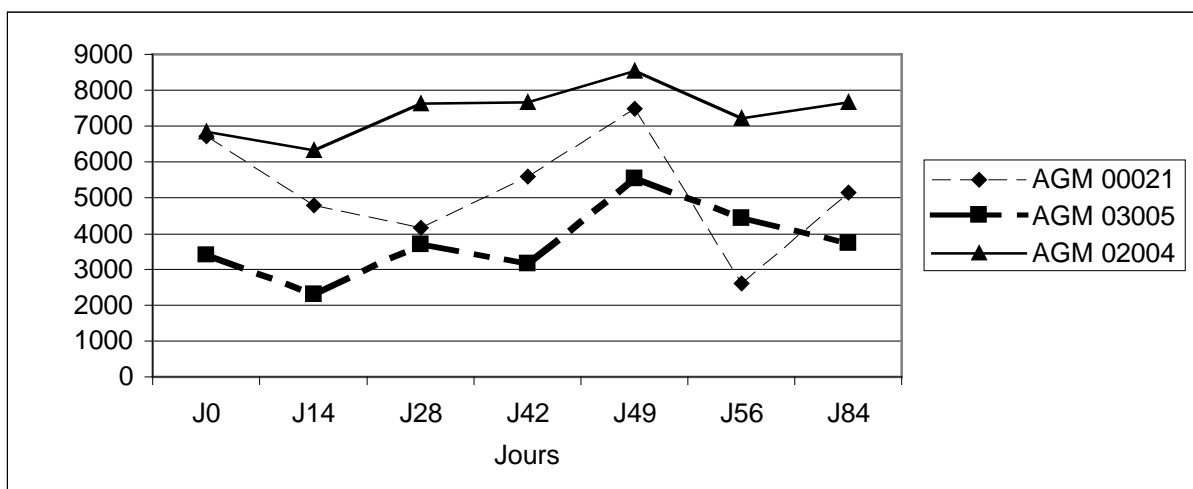


Figure 4 : Cinétique des lymphocytes des AGM 00021, 03005, 02004

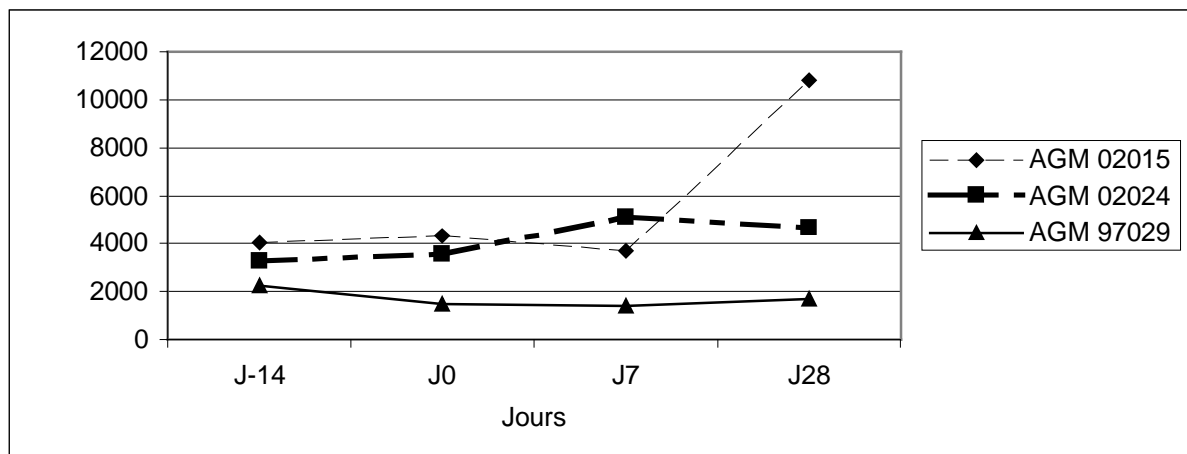


Figure 5 : Cinétique des lymphocytes des AGM 02015, 02024, 97029

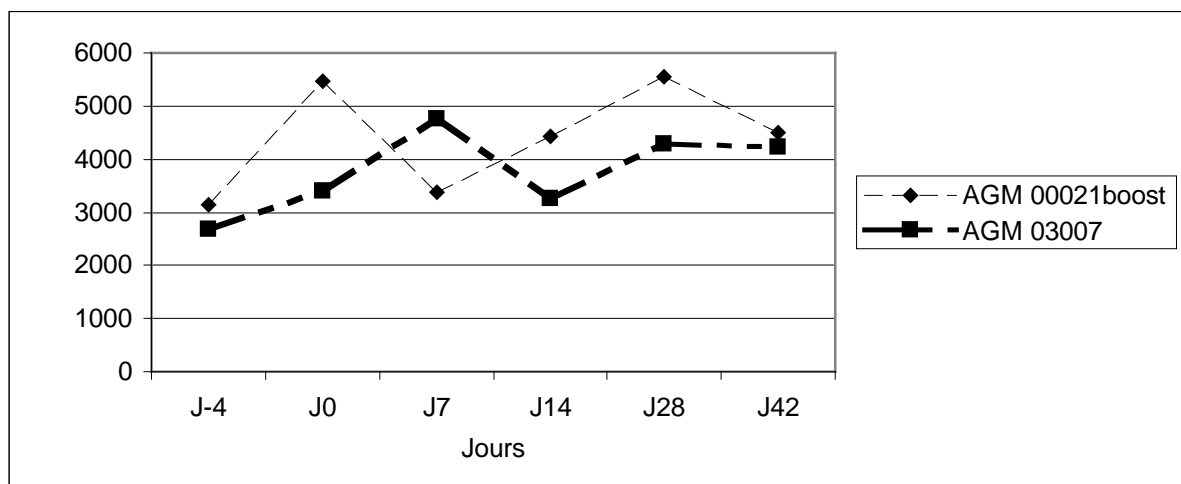


Figure 6 : Cinétique des lymphocytes des AGM 03007, 00021 boosté.

Sont représentés au niveau des figures 4, 5 et 6 la cinétique du nombre de lymphocytes des AGM vaccinés par différentes doses de BCG. Aucune variation marquée n'a été observée au cours de la vaccination BCG en ce qui concerne le nombre de lymphocytes. On observe que les fluctuations constatées ne sont pas doses-dépendantes .

Il n'y a pas de variation dose-dépendante mais il y a évolution du nombre de cellules. Cependant cette évolution ne peut pas être corrélée avec la vaccination dans la mesure où les variations sont du même ordre que chez les animaux naïfs .

3.5.Suivi des Monocytes dans le sang total

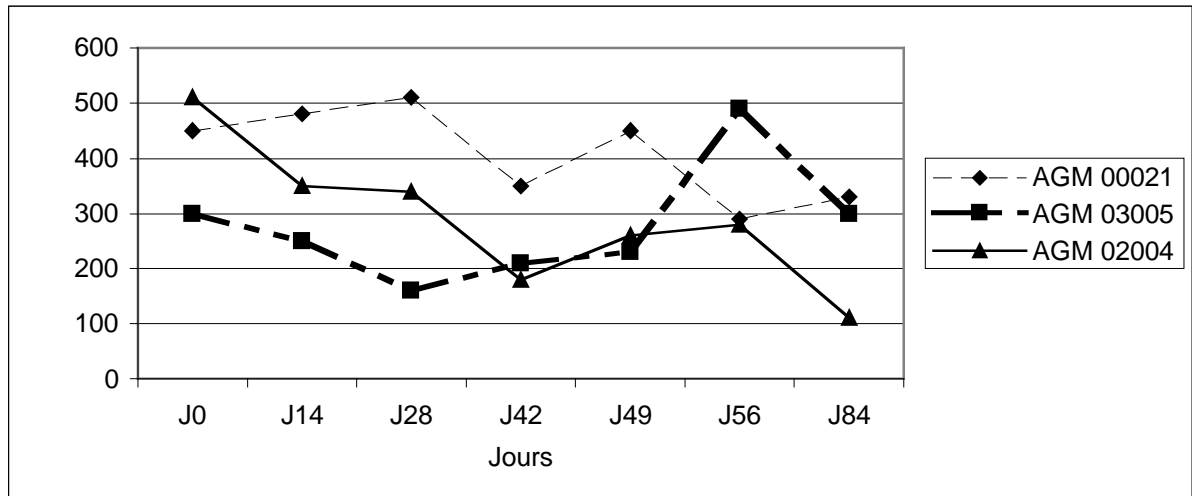


Figure 7 : Cinétique des Monocytes des AGM 00021, 03005 et 02004.

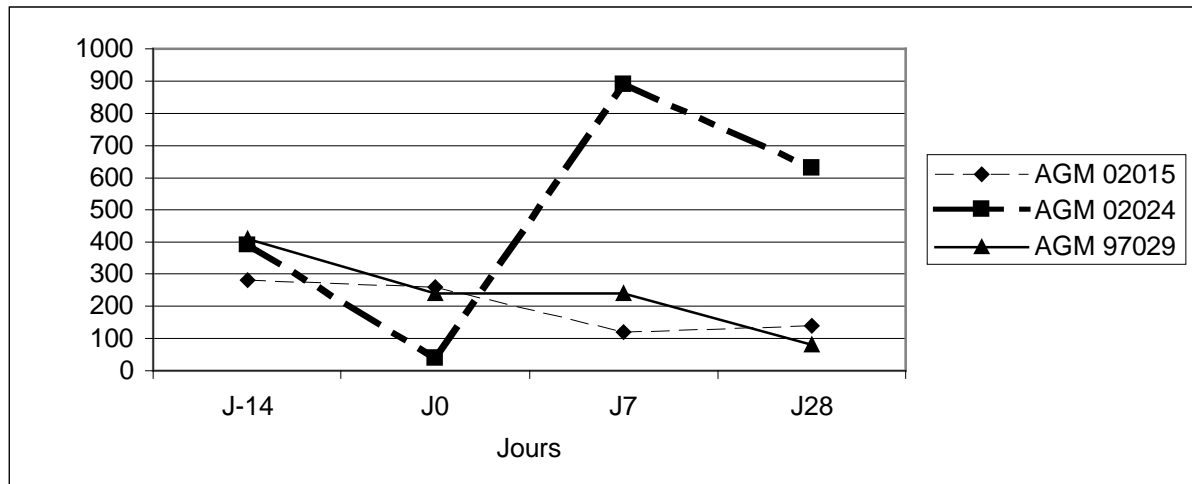


Figure 8 : Cinétique des Monocytes des AGM 02015, 02024, 97029

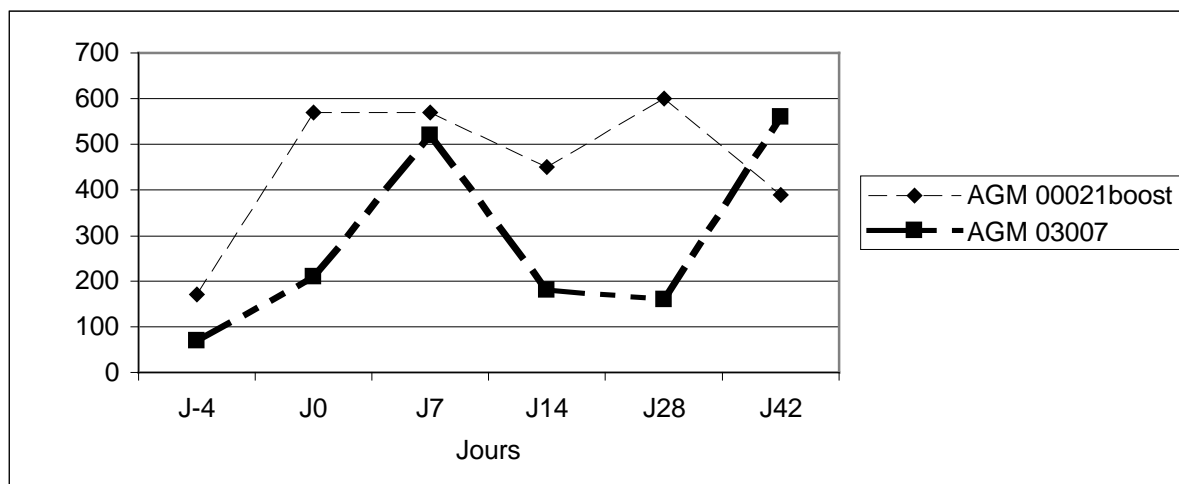


Figure 9 : Cinétique des Monocytes des AGM 03007 et 00021 boosté.

Sont représentés au niveau des figures 7, 8 et 9 la cinétique du nombre de monocytes des AGM vaccinés à différentes doses de BCG. Aucune variation marquée n'a été observée au cours de la vaccination BCG en ce qui concerne le nombre de monocytes. Les fluctuations observées ne peuvent pas non plus être liées à la dose de BCG reçue.

3.6. Cinétique des réponses immunes cellulaires

3.6.1. Marquage direct sur le sang total

Dans un premier temps, nous avons évalué la réactivité croisée d'anticorps monoclonaux humains de fournisseurs et de spécificités différentes, avec les antigènes de surface des lymphocytes du singe vert sabaesus. Les marquages ont été réalisés suivant un protocole standard après la détermination, par titrage en dilution, de la concentration optimale pour chaque anticorps monoclonal.

Le phénotypage des sous populations lymphocytaires $CD4^+$ et $CD8^+$ du singe vert confirme la nette différence par rapport à ce qui est observé chez l'homme. Les singes verts juvéniles se distinguent de l'homme et du macaque par un taux de lymphocytes $CD8^+$ nettement supérieur à celui des lymphocytes $CD4^+$ ce qui se traduit par un ratio $CD4/CD8$ inférieur à 1. Cette inversion du ratio $CD4/CD8$ chez ces animaux participe à la fois d'un nombre de cellules $CD4^+$ plus faible et d'un nombre de cellules $CD8^+$ plus élevé.

3.6.2. Cinétique des CD3⁺

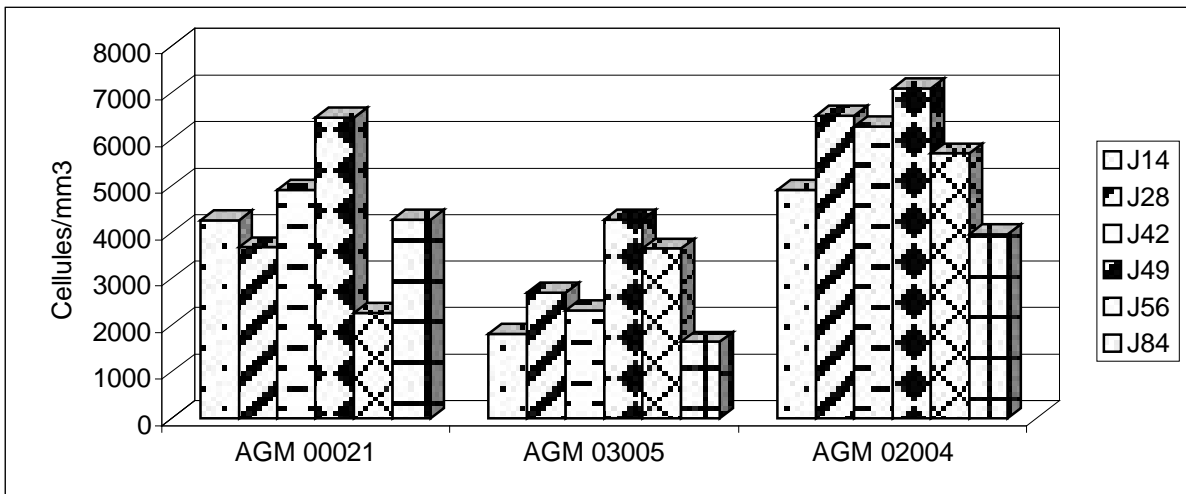


Figure 10 : Cinétique des Lymphocytes CD3⁺ des AGM 00021, 03005 et 02004.

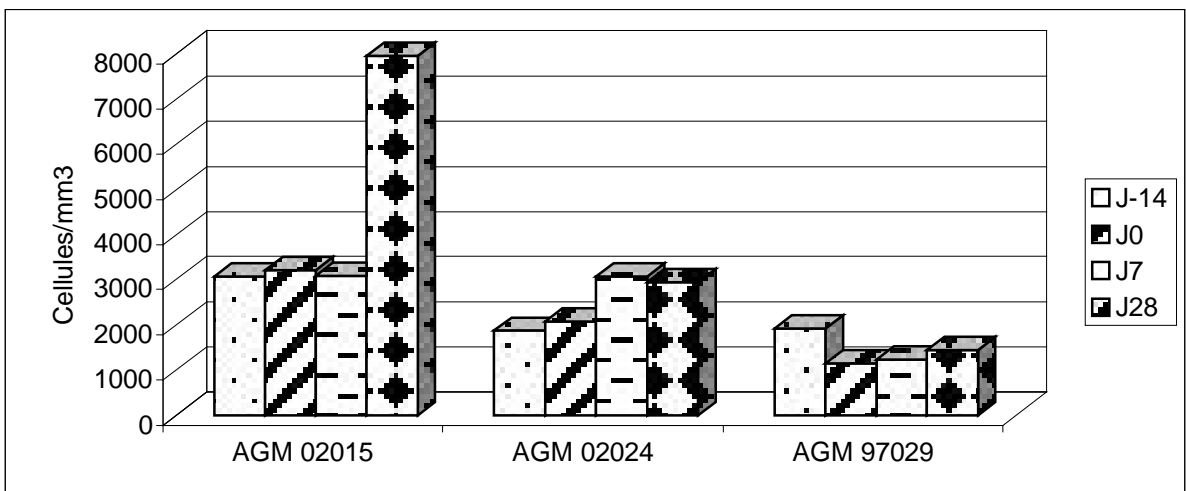


Figure 11: Cinétique des Lymphocytes CD3⁺ des AGM 02015, 02024 et 97029.

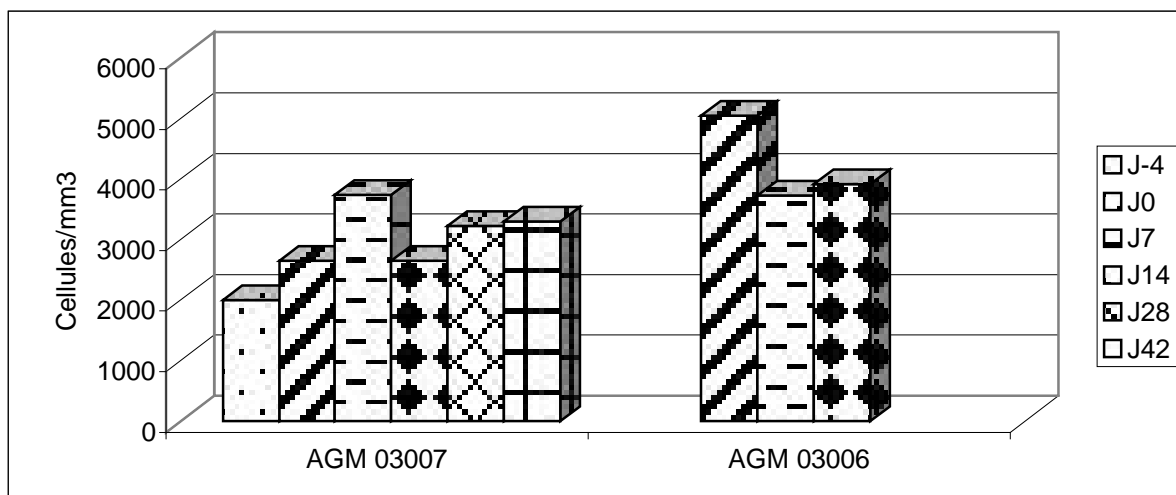


Figure 12: Cinétique des Lymphocytes CD3⁺ des AGM 03007 et 03006.

Sont représentés au niveau des figures 10, 11 et 12 la cinétique des lymphocytes T CD3⁺. Aucune variation marquée n'a été observée avant comme après vaccination entre les animaux et en fonction de la durée. On note que le nombre de CD3 circulant est très élevé par rapport à l'homme.

3.6.3. Suivi des lymphocytes CD4⁺

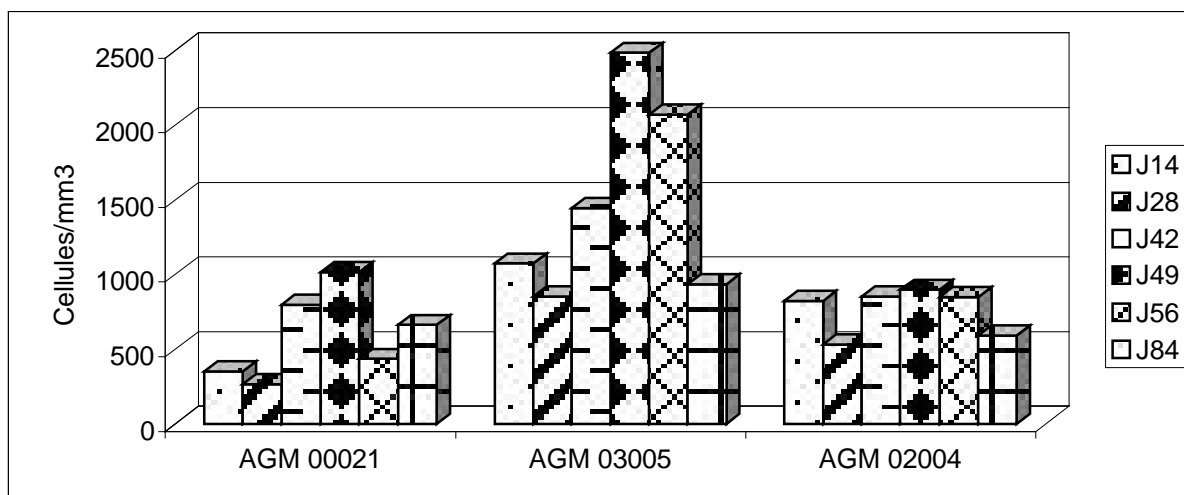


Figure 13: Cinétique des Lymphocytes CD4⁺ des AGM 00021, 03005 et 02004.

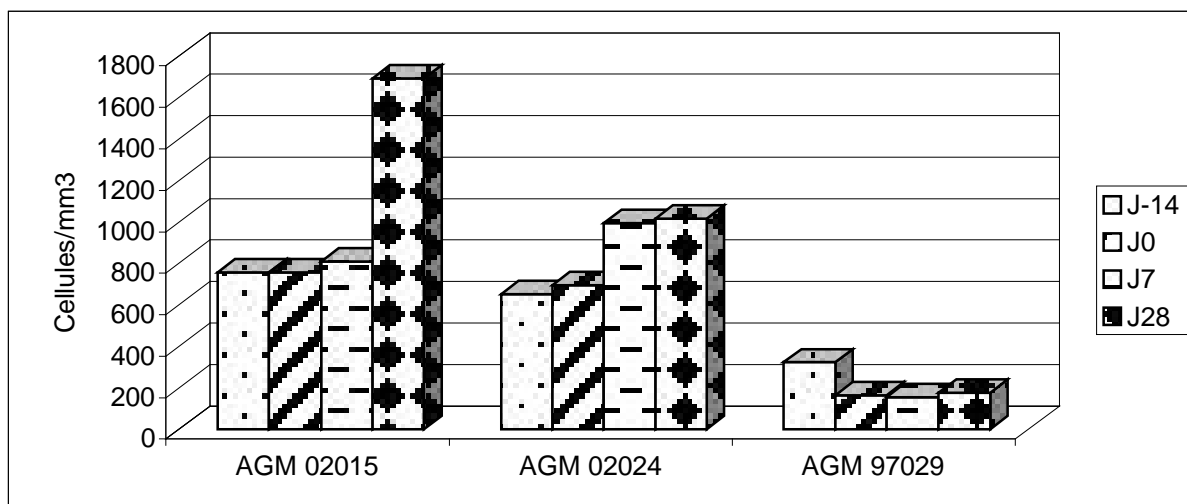


Figure 14: Cinétique des Lymphocytes CD4⁺ des AGM 02015, 02024 et 97029.

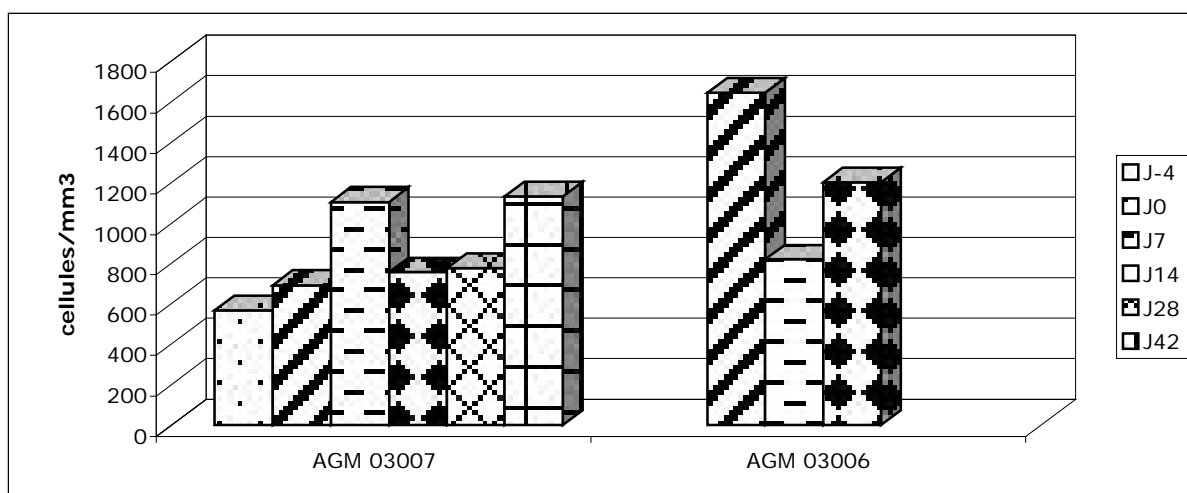


Figure 15: Cinétique des Lymphocytes CD4⁺ des AGM 03007 et 03006.

On note pour ces animaux un nombre de lymphocytes T CD4⁺ important qui peut aller jusqu'à 2500 cellules/mm³ pour l'AGM 03005 (supérieur aux moyennes observées chez l'homme). Aucune variation significative n'a été observée au cours de la vaccination et en fonction de la dose administrée.

3.6.4. Suivi des lymphocytes CD8⁺

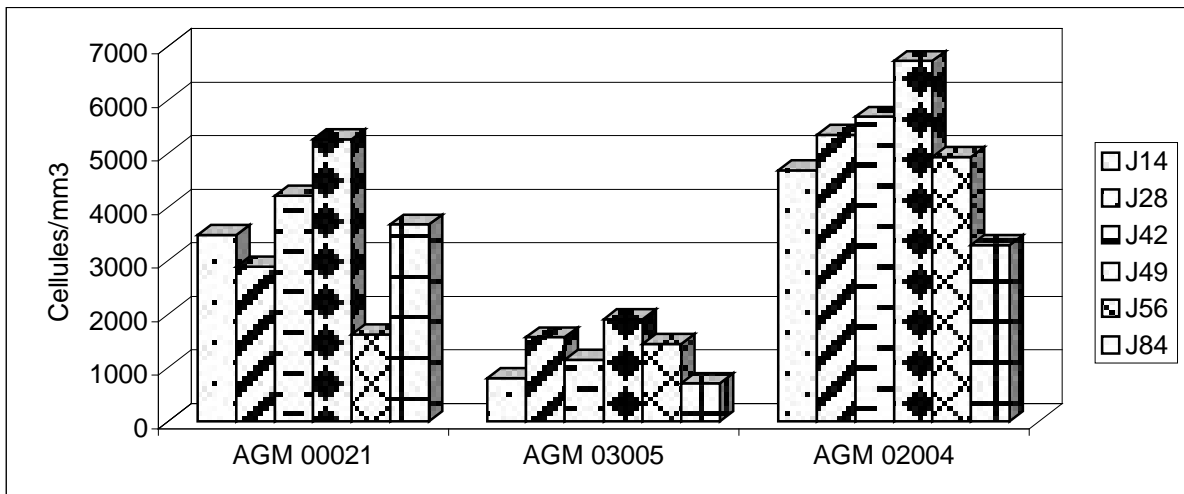


Figure 16: Cinétique des Lymphocytes CD8⁺ des AGM 00021, 03005 et 02004.

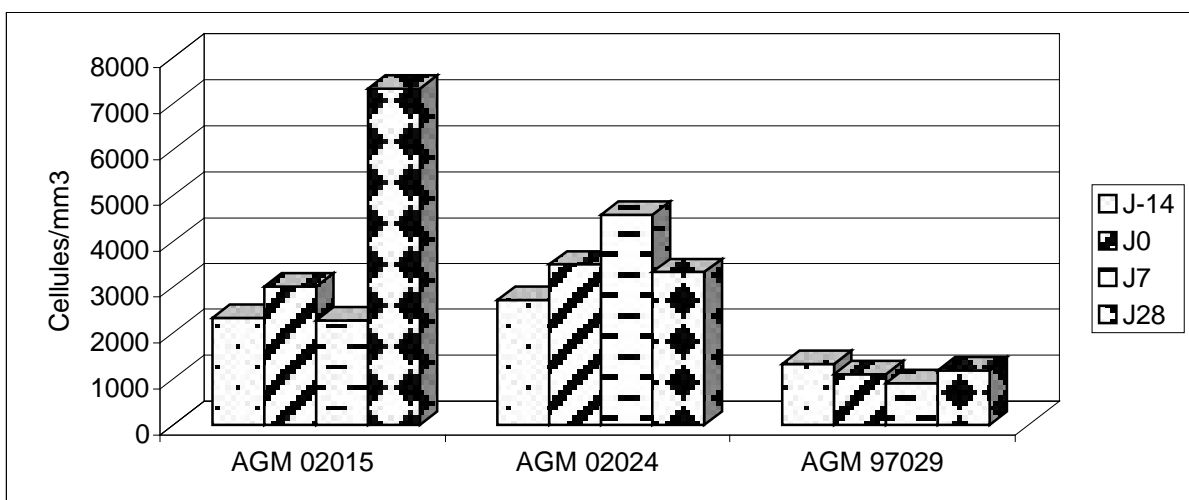


Figure 17: Cinétique des Lymphocytes CD8⁺ des AGM 02015, 02024 et 97029.

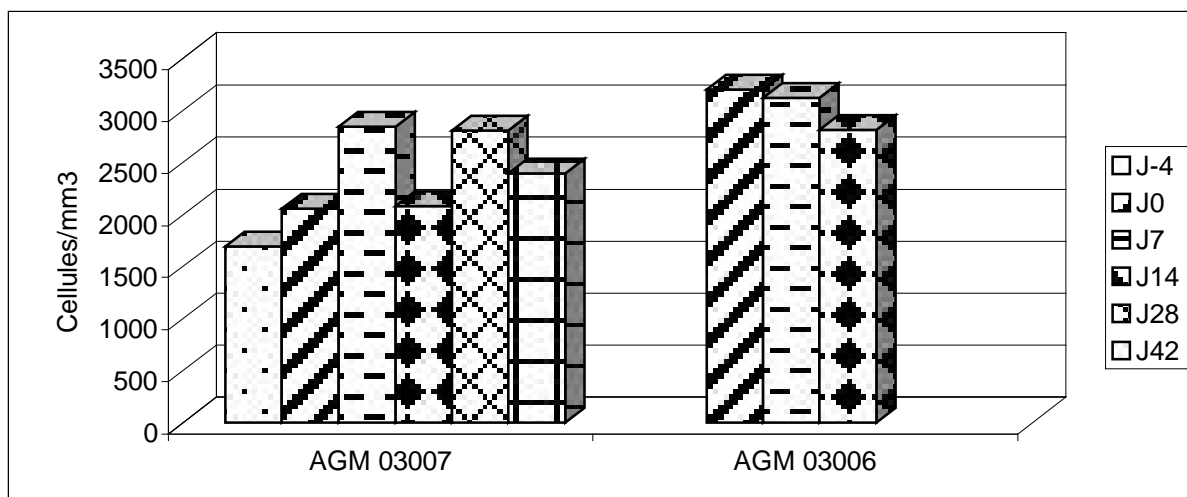


Figure 18: Cinétique des Lymphocytes CD8⁺ des AGM 03007 et 03006.

Sont représentés au niveau des figures 16, 17 et 18 la cinétique des lymphocytes T CD8⁺. Aucune variation significative n'a été observée avant comme après vaccination. On note que le nombre de CD8 circulant est très élevé par rapport à l'homme. Sauf pour l'animal 03005, les rapports CD4/CD8 sont en dessous de 1.

La comparaison des deux sous-populations chez ces singes montre que le nombre de CD8 est 3 à 4 fois plus important que les CD4 sauf pour le singe 03005 où le nombre de CD4 est presque égal au CD8

3.6.5. Suivi des lymphocytes CD20⁺

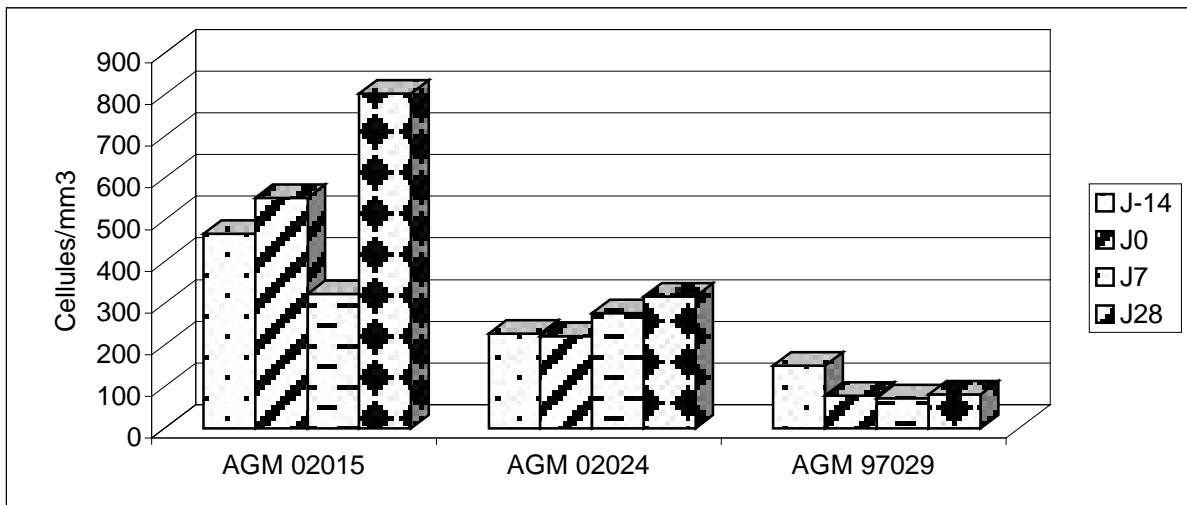


Figure 19: Cinétique des Lymphocytes CD20⁺ des AGM 00021, 03005 et 02004.

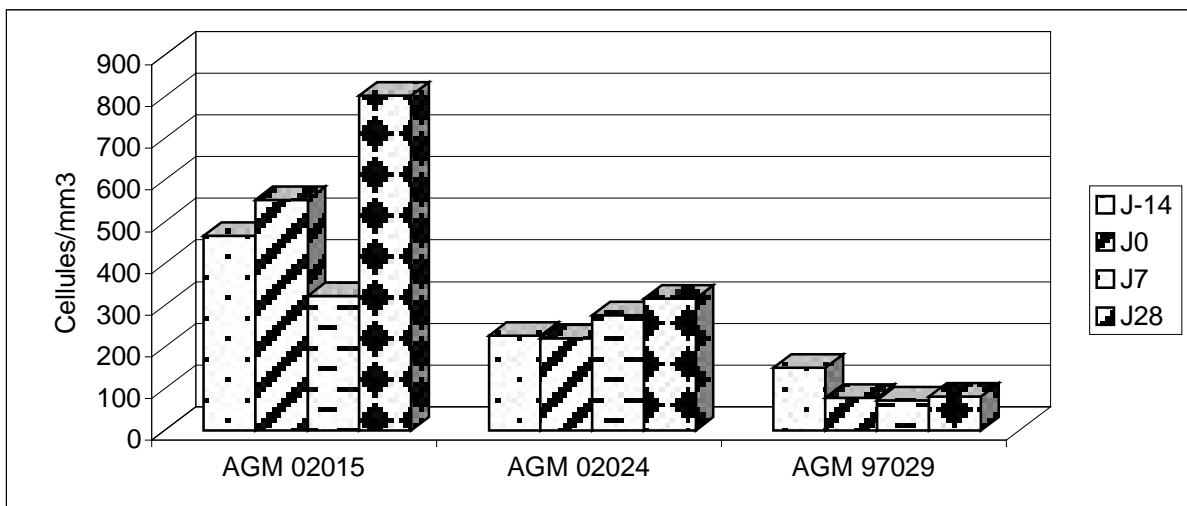


Figure 20: Cinétique des Lymphocytes CD20⁺ des AGM 02015, 02024 et 97029.

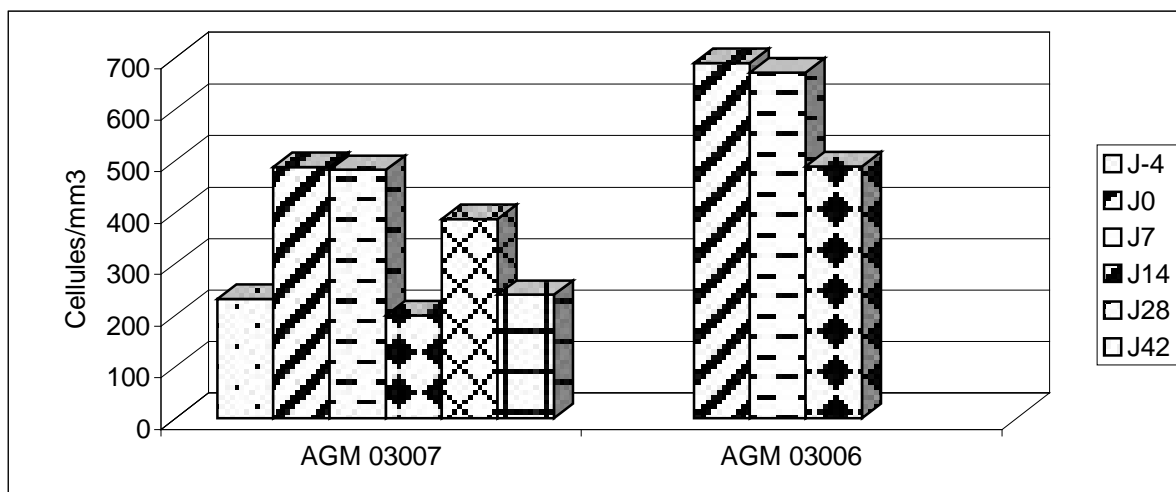


Figure 21: Cinétique des Lymphocytes CD20⁺ des AGM 03007 et 03006.

Sont représentés au niveau des figures 19, 20 et 21 la cinétique des lymphocytes B CD20⁺. Aucune différence notable n'a été observée après vaccination. On note que le nombre de CD20 circulant est relativement élevé (jusqu'à 600 cellules/mm³) par rapport à l'homme.

3.7. Mesure de la prolifération cellulaire *in vitro* par le PKH26

Le BCG est connu pour induire chez l'homme et la souris de bonnes proliférations cellulaires et de profils de cytokine de type Th1.

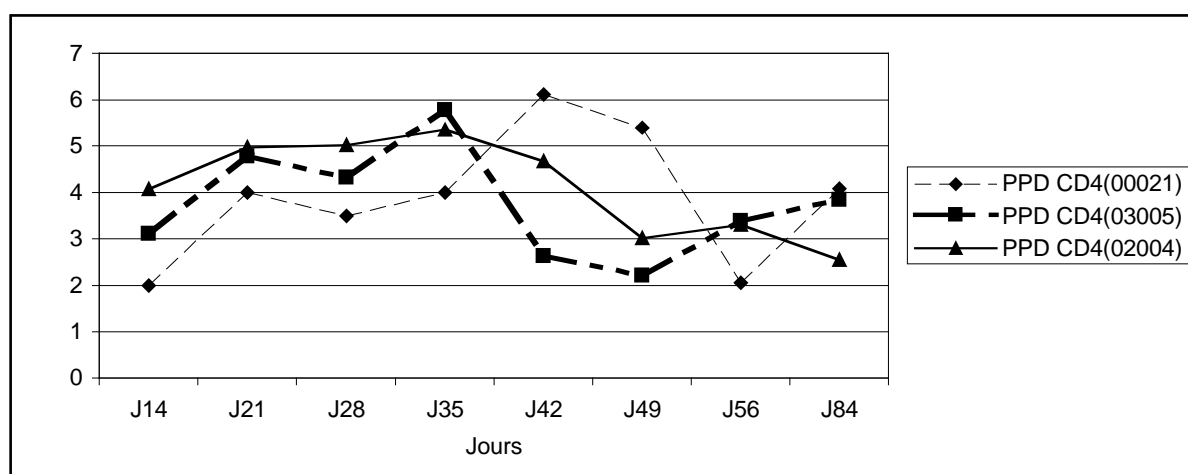


Figure 22 : Cinétique de la réponse cellulaire spécifique CD4 pour les AGM 00021, 03005 et 02004 après 5 jours de stimulation avec du PPD

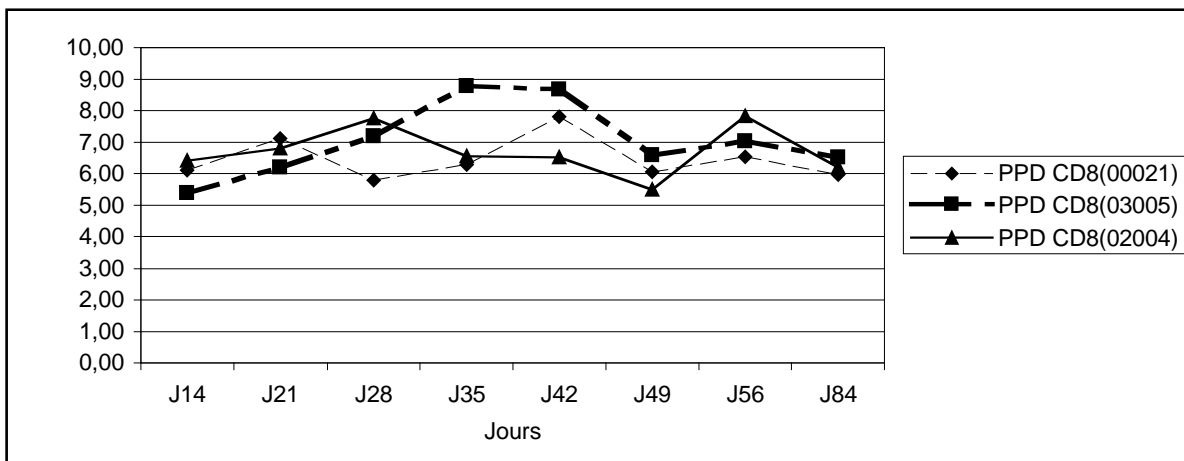


Figure 23 : Cinétique de la réponse cellulaire spécifique CD8 pour les AGM 00021, 03005 et 02004 après 5 jours de stimulation avec du PPD.

On observe que la réponse cellulaire spécifique par rapport à la PPD pour les animaux vaccinés n'est pas très importante. Les indices globaux de stimulation sont en général de l'ordre de 5 et la réponse spécifique aux CD8 est plus importante avec des indices de 5 à 8 et les CD4 de 2 à 5. On observe que cette réponse n'est pas dose dépendante mais elle varie en fonction des singes.

Il est important de souligner qu'on s'attendait à une flambée de la réponse cellulaire entre la 4^{ème} et la 6^{ème} semaine post vaccination comme c'est le cas chez les macaques (Roger Legrand, Communication personnelle) mais il n'était rien.

3.8. Cinétiques des réponses immunes humorales

$$\text{Indice de Sécrétion} = \frac{\text{D.O d'un jour donné}}{\text{D.O à J0 (D.O de référence)}}$$

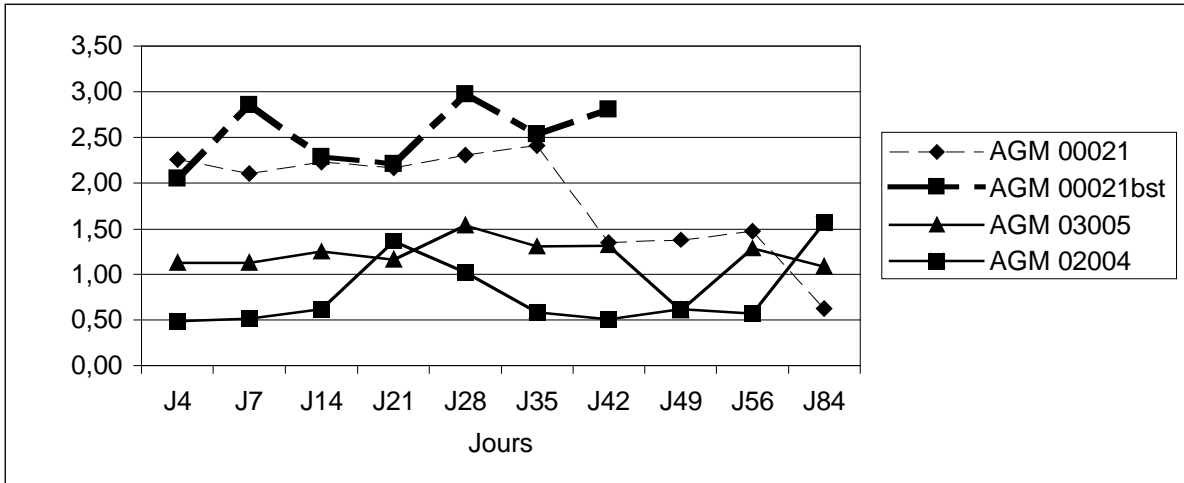


Figure 24 : Cinétique de la réponse anticorps anti BCG pour les AGM 00021, 03005, 02004 et 00021 boosté.

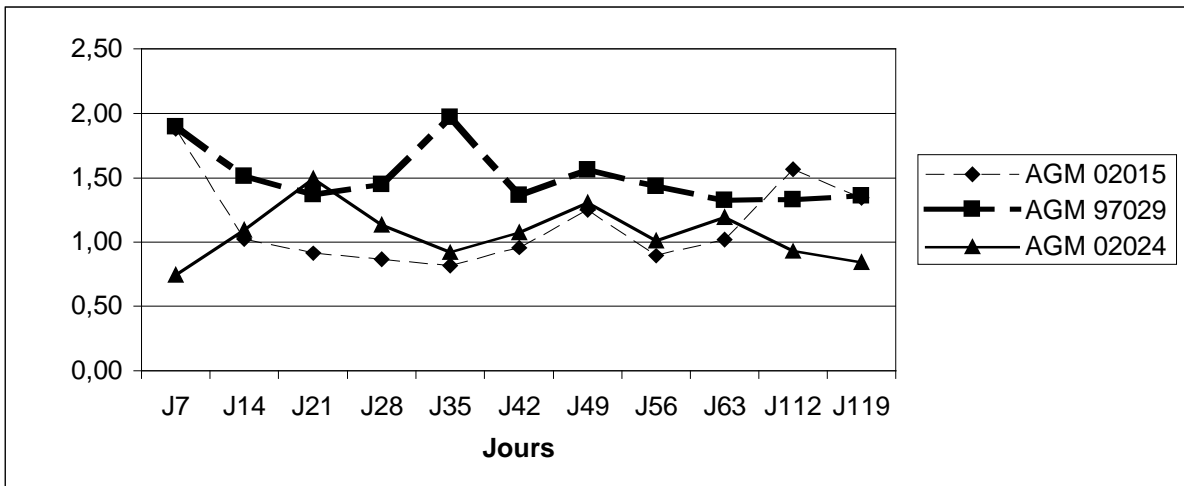


Figure 25 : Cinétique de la réponse anticorps anti BCG pour les AGM 02015, 02024, 02024.

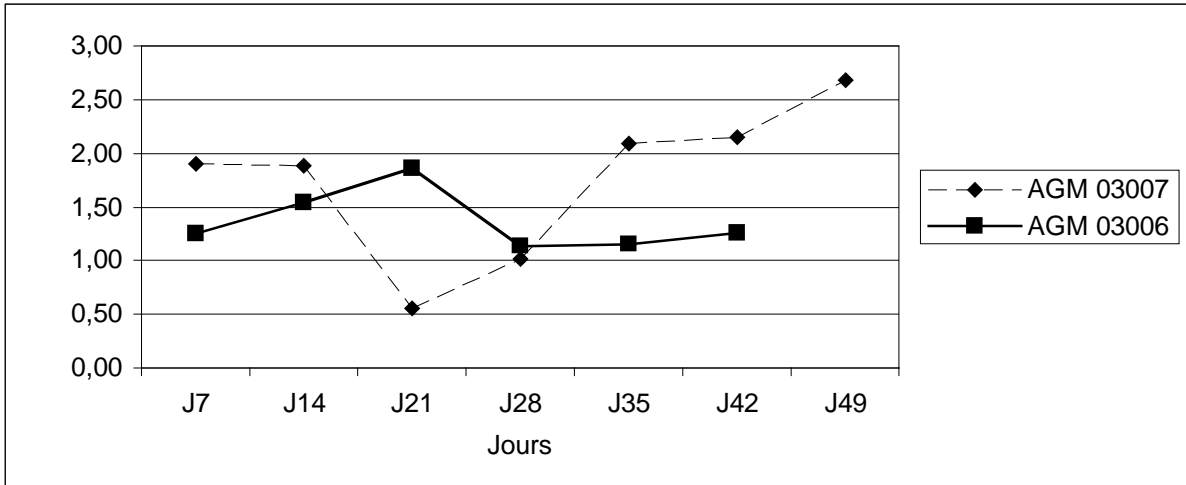


Figure 26 : Cinétique de la réponse anticorps anti BCG pour les AGM 03007, 03006.

On observe que cette réponse anticorps anti-BCG n'est pas dose dépendante et aucune différence significative n'a été observée entre les animaux et au cours du temps même pour l'animal (nommé 00021 boost) qui a subi un rappel de 10^8 CFU. On voit que cette réponse anticorps est faible par rapport à un homme vacciné qui a un indice de sécrétion de l'ordre de 6.

3.9. Dosage des cytokines plasmatiques

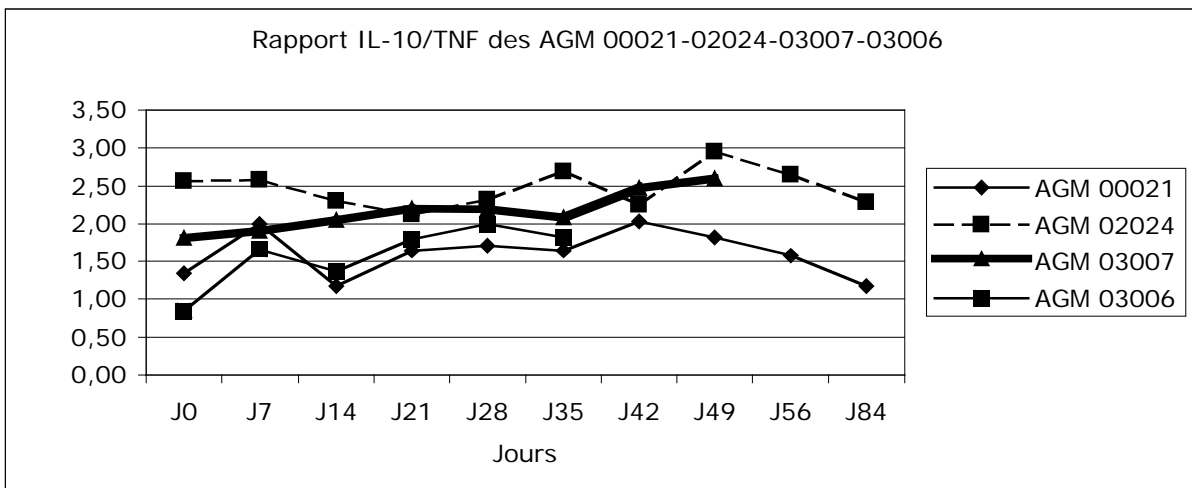


Figure 27 : Cinétique de la réponse cytokinique plasmatique IL-10/TNF α pour les AGM

00021, 02024, 03007 et 03006

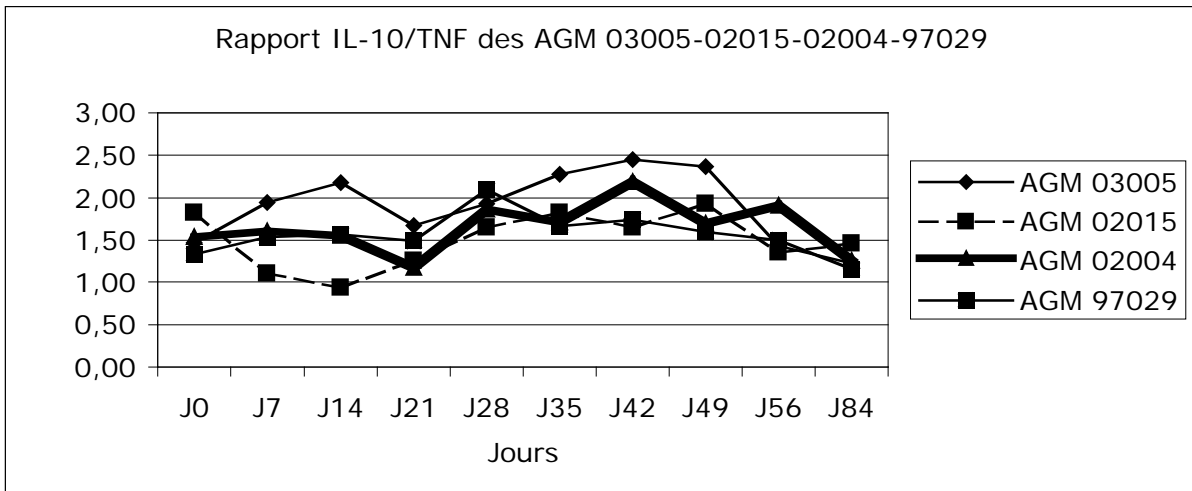


Figure 28 : Cinétique de la réponse cytokinique IL-10/TNF α pour les AGM 03005, 02015, 02004 et 97029

On observe pour l'ensemble de ces animaux, quelque soit la dose de BCG administrée, qu'on a les mêmes taux en cytokines plasmatiques. L'IL-10 plasmatique est plus élevé que le TNF ce qui correspond à nos attentes car des études antérieures, sur l'infection SIV, ont montré que l'environnement cytokinique anti-inflammatoire de ces singes est important.

On note que les variations du ratio IL-10/TNF α sont faibles chez les singes vaccinés quelque soit la dose administré, d'emblée cette balance est en faveur de l'IL-10. On note que la réponse cytokinique plasmatique n'a pas été dose dépendante.

3.10. Dosage de la Protéine C Réactive

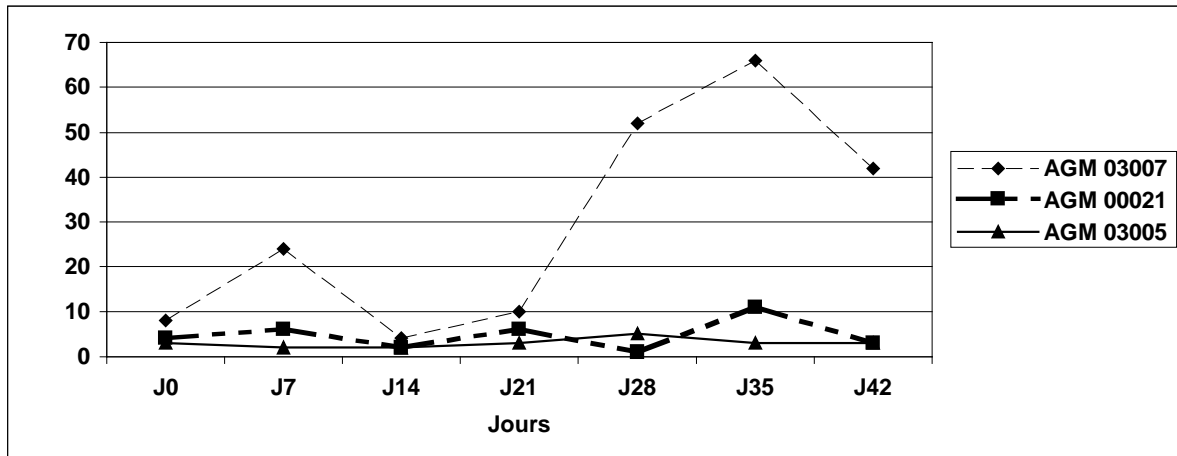


Figure 29 : Cinétique du dosage de la protéine C réactive des AGM 03007, 00021 et 03005.

Au cours d'une injection accidentelle de produits bactériens chez l'homme, on a pu montrer que le taux de CRP commence à augmenter entre la 12^{ème} et la 18^{ème} heure (39) pour atteindre le maximum à la 30^{ème} heure. Cette synthèse de la CRP marqueur classique de l'inflammation est stimulée par l'IL-6 (48). Aucune élévation concomitante de TNF α n'a été observée. Notons que le TNF α est une cytokine pro inflammatoire comme la CRP avec pic de sécrétion plus précoce.

La cinétique de la CRP a été effectuée sur trois animaux : AGM 03007 qui a reçu une forte dose de 10^{10} CFU avec deux pics de sécrétion, l'une faible à J7 (24 mg/ml) et l'autre très forte à J35 (66 mg/ml). Pour les deux autres AGM qui ont reçu respectivement 10^8 CFU (AGM 00021) et 10^6 CFU (AGM 03005), aucune variation significative n'a été observé même le seuil de l'inflammation chez l'homme qui est de 10 mg/ml n'a pas été atteint.

Un certain nombre d'études ont montré que les infections SIV chez leur hôte naturel sont asymptomatiques et ont suggéré que la compréhension des mécanismes responsables pouvait améliorer la connaissance de la pathogenèse lentivirale (37, 85, 124, 269). Les « modèles primates » constituent très certainement une voie d'approche essentielle à l'identification et à la compréhension des mécanismes physiopathologiques aboutissant au développement du SIDA. Dans le même ordre d'idées, il est de plus en plus évident que la définition et la mise en œuvre de stratégies vaccinales et thérapeutiques efficaces ne sauraient faire l'économie d'une évaluation préalable chez les primates non humains. Plusieurs modèles ont été développés afin d'aborder les multiples aspects de la problématique de l'infection VIH chez l'homme.

La période qui concerne les trois à quatre premières semaines qui suivent l'infection, la phase de primo-infection, est caractérisée par l'initiation d'une réplication virale massive, la dissémination du virus dans l'organisme, son implantation dans les organes lymphoïdes et le développement de la réponse immune. Il est apparu que les modalités de déroulement de cette période de primo infection sont considérées aujourd'hui comme un élément clef dans l'évolution de l'infection VIH vers un SIDA déclaré. Toutefois, seuls les modèles d'infection chez le primate permettent de suivre de façon précise les événements virologiques et immunologiques, non seulement dans le sang mais également dans les organes lymphoïdes, sites majeurs de réplication virale et de la réponse immunitaire. La compréhension des interactions entre, réplication virale – activation cellulaire – réponse immunitaire, survenant durant la primo-infection, est fondamentale pour la mise au point d'un vaccin efficace dans l'infection par le VIH.

L'animalerie de l'IP Dakar héberge une colonie de singes verts depuis plus de 15 ans et aucun signe de SIDA n'a jamais été observé. Les événements précoces de l'infection lentivirale, dont on sait qu'ils sont déterminants dans l'évolution ou non vers la pathologie, ont été peu étudiés.

Nous avons choisi comme modèle l'infection SIVagm chez le singe vert afin de mieux comprendre les facteurs pouvant expliquer la non pathogénicité de cette infection., Dans ce cadre, nous avons continué le travail de caractérisation des paramètres biologiques et immunologiques des singes verts maintenus en captivité à l'IP Dakar. Pour cela nous avons effectué des analyses biologiques, testé des anticorps de spécificités humaines sur du sang de singes verts afin de distinguer les différentes populations lymphocytaires et enfin, étudié sur les aspects fonctionnels des éléments du système immunitaire. Ces résultats ont montré que l'AGM est une espèce présentant des similarités biologiques avec les autres espèces de singe

d'Afrique mais également l'homme. Nous avons montré que la majorité des anticorps monoclonaux utilisés pour reconnaître les différents groupes cellulaires de l'immunité chez l'homme peuvent être utilisés chez les singes verts. Nous avons mis au point des tests de prolifération cellulaire avec le PKH26 et la thymidine tritiée sur les PBMC des AGM. On voit que la prolifération par PKH26 est plus avantageuse car elle permet en même temps d'étudier les sous-populations lymphocytaires qui expriment les marqueurs CD3, CD4, CD8, CD20, CD25 etc... Alors qu'avec la thymidine tritiée il est juste possible d'étudier la prolifération globale de toutes les cellules présentes.

Par ailleurs, le PKH26 est un marqueur fluorescent non radioactive alors que la thymidine tritiée l'est et pose toujours le problème de stockage des déchets. Ceci nous a poussé à préférer le PKH26 à la place de la thymidine tritiée qui est quand même la méthode de référence.

Chez l'homme, le système immunitaire est inefficace pour contrôler une infection par le VIH, et en l'absence d'une chimiothérapie à base d'antiviraux, l'issue de l'infection est habituellement létale. Dans le cas d'une infection par le virus influenza, l'organisme contrôle parfaitement l'infection et le virus est éliminé. Dans le cas d'autres infections par exemple, celles des virus EBV ou CMV, le contrôle de l'infection est permanent, et les lymphocytes T CD8⁺ jouent un rôle primordial dans cette latence virale. C'est la raison pour laquelle les études de la réponse cellulaire anti-VIH concernent principalement la réponse T CD8⁺ spécifique et les raisons de cet échec.

La rapidité de la progression vers un SIDA est inversement associée à la capacité de l'hôte à contrôler la réplication virale dès la phase précoce de l'infection (221). Les cellules CD8⁺ participent à ce contrôle de la réplication virale dès la phase précoce (248, 288). Chez la plupart des individus, les lymphocytes T CD8⁺ présentent toutefois un phénotype peu différencié et un répertoire restreint dès la primo-infection (8, 77). Leur division lymphocytaire, et certaines sous populations CD8⁺ exprimant des marqueurs d'activation sont augmentés (77). Les cellules CD8⁺ activées et potentiellement effectrices présentent cependant un phénotype particulier et leur fonction serait compromise (77). Elles sont peu lytiques ou ont une faible activité antivirale (8, 121, 183). L'induction des cellules CD8⁺ spécifiques, leur expansion, leur activité effectrice sont fortement dépendant du compartiment T CD4⁺, même si les cellules CD8⁺ spécifiques peuvent persister un certain temps en absence de cellules T CD4⁺ spécifiques (6). La plupart des individus infectés montrent peu ou pas de réponses prolifératives T CD4⁺ après stimulation par l'antigène à l'inverse des patients

asymptomatiques à long terme (ALT) où la réponse lymphoproliférative est plus présente (277).

On observe la même chose pour les animaux vaccinés au BCG avec une faible réponse proliférative T CD4⁺ et une réponse CD8⁺ importante. Chez les patients infectés par le VIH, l'expansion d'une sous-population de cellules CD4⁺CD25⁺ dite régulatrice a été décrite. Cette population exercerait un effet suppresseur sur la prolifération cellulaire (339). Nous avons noté que chez les singes vaccinés par le BCG le nombre de CD25⁺ est important, toujours supérieurs à 200 cellules/mm³ et peut aller jusqu'à 600 cellules/mm³ alors que chez l'homme non progresseur ils sont de l'ordre de 100 cellules/mm³. Cette observation peut expliquer en partie la faible prolifération cellulaire chez ces singes.

L'IL-10 est une cytokine anti-inflammatoire identifiée, à l'origine, comme facteur suppresseur de la production d'INF- γ par les lymphocytes Th1. Progressivement, il a été montré que cette cytokine joue un rôle majeur dans l'orientation des réponses immunes grâce à sa capacité de moduler l'activité des cellules dendritiques (CD) et en conséquence celles des T CD4⁺. En effet, les cellules dendritiques sont essentielles pour la stimulation des lymphocytes T naïfs (17). Elles régulent les réponses T CD4⁺ selon leur état de maturation, la dose de stimuli, le temps de stimulation et l'environnement cytokinique (188). En présence d'IL-10, les stimulations répétées par des cellules dendritiques immatures induisent une population T suppressives sécrétrices d'IL-10 (133, 163). Même si *in vivo*, la fréquence des lymphocytes T CD4⁺ produisant constitutivement de l'IL-10 semble plus élevée chez les patients progresseurs (247) il faut cependant noter que des mutations dans le promoteur du gène IL-10 aboutissant à une diminution de la transcription du gène sont associées à une progression plus rapide vers le SIDA (296). De plus, des taux plus élevés d'IL-10, associés à une faible expression constitutive du TNF- α , ont été décrits chez les individus asymptomatiques à long terme (318). Ces observations suggèrent que si la balance TNF- α /IL-10 est en faveur de l'IL-10 dès les phases précoces de l'infection, cela pourrait être associé à un profil plus lent de l'infection. Pour la vaccination BCG, on observe la même chose c'est à dire une balance TNF- α /IL-10 en faveur de l'IL-10 mais elle n'est pas dose dépendante.

Nos résultats montrent que le singe vert est caractérisés par un environnement anti-inflammatoire très précoce qui joue certainement un rôle dans l'orientation des réponses immunes vis à vis des différents pathogènes ou antigènes, que ce soit le SIV ou le BCG. Contrairement au macaque asiatique, espèce susceptible au SIDA après infection par le SIVmac, il semblerait qu'il faille des doses très élevées de BCG pour induire un

environnement inflammatoire soutenue et une réponse proliférative à l'antigène (PPD) conséquente. En effet pour le macaque, 10^8 CFU suffisent pour déclencher la cascade inflammatoire (Nathalie Winter et Roger Legrand, comm. personnelle) alors que ce n'est pas le cas chez le singe vert.

Il n'est pas exclu que la nature des singes (singes de capture) puisse jouer un rôle dans les réponses observées et expliquer au moins partiellement une certaine anergie vis-à-vis du BCG aux doses utilisées. Par ailleurs il serait intéressant de comparer les profils obtenus avec ceux d'une infection intradermique des AGM par le BCG.

Les modèles non pathogènes sont très précieux dans l'étude de la résistance au SIDA suite à l'infection par le virus de l'immunodéficience simienne. En effet, cette résistance semble être liée à un équilibre résultant de la co-évolution entre le virus et son hôte naturel. Peu d'études expérimentales ont été menées afin de déterminer avec précision la nature de cette résistance et d'identifier la combinaison des facteurs responsables de la progression vers la maladie comme cela s'observe dans les infections pathogènes par le VIH et le SIVmac.

Les différents travaux effectués chez les singes verts montrent qu'ils sont un excellent modèle pour rechercher les facteurs de l'hôte qui sont associés à un contrôle de l'infection. Pour ce faire, il paraît important de développer de nouveaux outils d'investigation comme celles qui sont présentés dans ce travail.

En effet la mise en place de ces outils devraient permettre, avec la même méthodologie, de préciser le rôle de la réponse TCD4⁺ dans la résistance au SIDA des singes verts infectés par le SIVagm, notamment pendant les phases précoces de l'infection qui sont prédictives de l'évolution vers la maladie. De telles études sont difficilement envisageables chez l'homme étant donné que l'inclusion des patients est généralement réalisée au plus tôt au moment de l'antigénémie, et dans la plupart des cas entre la 4^{ème} et la 6^{ème} semaine post-infection, alors que les temps précoces de l'infection sont prédictifs du profil d'évolution vers le SIDA. Par ailleurs, les interactions virus hôte ont lieu en majeure partie au niveau des organes lymphoïdes, et ceux-ci sont difficilement accessibles chez l'homme.

En somme, notre étude devrait contribuer à l'amélioration des connaissances sur les corrélats de protection lors des infections lentivirales. Une meilleure connaissance des profils d'expression précoce de cytokines associés à des réponses T CD4⁺ protectrices devrait par ailleurs permettre d'élaborer de nouvelles stratégies en matière d'immunothérapies et ou orienter la chronologie des traitements.

En outre notre étude permet également de contribuer à étoffer le plateau technique du laboratoire notamment en ce qui concerne l'évaluation des réponses immunitaires consécutives à une vaccination. Dans la mesure où ces activités de vaccinologie seront renforcées dans le laboratoire, ce travail trouvera sa valorisation dans la mise en oeuvre d'études pré-cliniques de validation de différents candidats-vaccins concernant des maladies infectieuses.

1. Alkhatib G., Combadière C., Broder C.C., Feng Y., Kennedy P.E., Murphy P.M., Berger E.A. (1996). CCR5: A RANTES, MIP-1 α , MIP-1 β receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science* 272, 1955-1958.
2. Allan J.S., Kanda P., Kennedy R.C., Cobb E.K., Anthony M., Eichberg J.W. (1990). Isolation and characterization of simian immunodeficiency viruses from two subspecies of African Green Monkeys. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 6, 275-285.
3. Allan J.S., Short M., Taylor M.E., Su S., Hirsch V.M., Johnson P.R., Shaw G.M., Hahn B.H. (1991). Species-specific diversity among simian immunodeficiency viruses from African green monkeys. *J. Virol.* 65, 2816-2828.
4. Allan J.S., Strauss J., Buck D.W. (1990). Enhancement of SIV infection with soluble receptor molecules. *Science* 247, 1084-1087.
5. Allan J.S., Whitehead E., Strout K., Dunham R., Kanda P. (1992). Cryptic neutralizing epitopes on SIVagm gp120, role in viral entry. *10th Annual symposium on nonhuman primate models for AIDS, San Juan, 12.*
6. Altfeld M. and Rosenberg E.S. (2000). The role of CD4⁺ T helper cells in the cytotoxic T lymphocyte response to HIV-1. *Curr. Opin. Immunol.* 12: 375-380.
7. Ameisen J.C., Capron A. (1991). Cell dysfunction and depletion in AIDS: the programmed cell death hypothesis. *Immunol. Today* 12, 102-104.
8. Appay V., Papagno L., Spina CA., Hansasuta P., King A., Jones L., Ogg G.S., Little S., McMichael A.J., Richman D.D., and Rowland-Jones S.L. (2002). Dynamics of T cell responses in HIV infection. *J. Immunol.* 168: 3660-3666.
9. Asjo B., Albert J., Karlsson A., Morfeldt-Mamson L., Biberfeld G., Lidman K., Fenyo E.M. (1986). Replicative properties of human immunodeficiency virus from patients with varying severity of HIV infection. *Lancet ii*, 660-662.
10. Autran B. (1996). Cytotoxic T lymphocytes from seroconversion to AIDS, in: Gupta S. (éd.). *Immunology of HIV infection, Plenum Medical*, pp. 202-219.
11. Autran B., Garcelain G., Li T.S., Blanc C., Mathez D., Tubiana R., Katlama C., Debre P., Leibowitch J. (1997). Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4⁺ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 277, 112-116.
12. Autran B., Hadida F., Haas G. (1996). Evolution and plasticity of CTL responses against HIV, *Current Opinion in Immunology* 8 (4), 546-553.
13. Autran B., Letvin N.L. (1991). HIV epitopes recognized by cytotoxic T-lymphocytes. *AIDS* 5, S145-S150.
14. Baier M., Werner A., Bannert N., Metzger K., Kurth R. (1995). HIV suppression by interleukin-16. *Nature* 378, 563.
15. Baier M., Werner A., Cichutek K., Gerber C., Müller C., Kraus G., Ferdinand F.J., Hartung S., Papas T.S., Kurth R. (1989). Molecularly cloned simian immunodeficiency virus SIVagm is highly divergent from other SIVagm isolates and is biologically active *in vitro* and *in vivo*. *J. Virol.* 63, 5119-5123.
16. Balotta C., Bagnarelli P., Riva C., Valenza A., Antinori S., Colombo M.C., Sampaolesi R., Violin M., De Pasquale M.P., Moroni L., Clementi M., Galli M. (1997). Comparable biological and molecular determinants in HIV type 1 infected long-term non progressors and recently infected individuals. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 13, 337-341.
17. Banchereau J., Briere F., Caux C., Davoust J., Lebecque S., Liu Y.J., Pulendran B., and Palucka K. (2000). Immunobiology of dendritic cells. *Annu. Rev. Immunol.* 18 : 389-390.
18. Barin F., Mboup S., Denis F., et al (1985). Serological evidence of virus related to simian T-lymphotropic retrovirus III in residents of West Africa. *Lancet, ii*, 1387-1389.
19. Barré-Sinoussi F., Chermann J.C., Rey F., Nugeyre M.T., Chamaret S., Gruest J., Daugeuet C., Axler-Blin C., Brun-Vézinet F., Rouzioux C., Rosenbaum W., Montagnier L. (1983).

Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 220, 868-871.

20. Baskin G., Martin L.N., Murphey-Corb M., H F.S., Kuebler D., Davison B. (1995). Distribution of SIV in lymph nodes of serially sacrificed rhesus monkeys. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 11, 273-285.

21. Baskin G.B., Murphey-Corb M., Martin L.N., Davison-Fairbun B., Hu F.S., Kuebler D. (1991). Thymus in simian immunodeficiency virus-infected rhesus monkeys. *Lab. Invest.* 65, 400-407.

22. Beer B., Scherer J., Megede J., Norley S., Baier M., Kurth R. (1996). Lack of dichotomy between virus load of peripheral blood and lymph nodes during long term simian immunodeficiency virus infection of African green monkeys. *Virology* 219, 367-375.

23. Belo M., Yagello M., Girard M., Greenlee R., Deslandres A., Barre-Sinoussi F., Gluckmann J. (1991). Antibody-dependent cellular cytotoxicity against HIV-1 in sera immunized chimpanzees. *AIDS* 5, 169-176.

24. Benveniste R.E., Morton W.R., Clark E.A., Tsai C.C., Ocks H.D., Ward J.M., Kuller L., Knott W.B., Hill R.W., Gale M.J., Thouless M.E. (1988). Inoculation of baboons and macaques with simian immunodeficiency virus/Mne, a primate lentivirus closely related to human immunodeficiency virus type-2. *J. Virol.* 62, 2091-2101.

25. Binley J.M., Klasse P.J., Cao Y., Jones I., Markowitz M., Ho D.D., Moore J.P. (1997). Differential regulation of the antibody responses to *Gag* and *Env* proteins of human immunodeficiency virus type 1. *J. Virol.* 71(4), 2799-2809.

26. Blackbourn D.J., Chuang L.F., Killam K.F.Jr., Chuang R.Y. (1994). Inhibition of simian immunodeficiency virus (SIV) replication by CD8⁺ cells of SIV-infected rhesus macaques: implication for immunopathogenesis. *J. Med. Primatol.* 23, 343-354.

27. Blackbourn D.J., Mackewicz C.E., Barker E., Hunt T.K., Herndier B., Haase A.T., Levy J.A. (1996). Suppression of HIV replication by lymphoid tissue CD8⁺ cells correlates with the clinical state of HIV-infected individuals. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 93, 13125-13130.

28. Blauvelt A. (1997). The role of skin dendritic cells in the initiation of HIV infection. *Am. J. Med.* 102, 16-20.

29. Bleul C., Farzan M., Choe H., Parolin C., Clark-Lewis I., Sodroski J., Springer T. (1996). The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. *Nature* 382, 829-832.

30. Bonavida B., Katz J., Gottlieb M. (1986). Mechanism of defective NK cell activity in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. Defective trigger on NK cells for NKCF production by target cells, and partial restoration by IL-2. *J. Immunol.* 137, 1157-1163.

31. Borrow P., Lewicki H., Hahn B., Shaw G., Oldstone M. (1994). Virus-specific CD8⁺ Cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viraemia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J. Virol.* 68, 6103-6110.

32. Borrow P., Lewicki H., Wei X., Horwitz M.S., Peffer N., Meyers H., Nelson J.A., Gairin J.E., Hahn B.H., Oldstone M.B., Shaw G.M. (1997). Antiviral pressure exerted by HIV-1 specific Cytotoxic T lymphocytes (CTL) during primary infection demonstrated by rapid selection of CTL escape virus. *Nat. Med.* 3, 205-211.

33. Bosch M.L., Pedersen N., Amerongen G.V., Reazy E., Marthas M., Rose T., Frankenhuis M., Osterhaus A.D.M.E. (1994). Identification and partial characterization of a lentivirus from talapoin monkeys. *J. Med. Primatol.* 23, 233.

34. Bourgault I., Villefroy P., Beyer C., Aubertin A.M., Levy J.P., Venet A. (1993). Cytotoxic T-cell response and AIDS-free survival in simian immunodeficiency virus-infected macaques. *AIDS* 7 Suppl 2, S73-79.

35. Brenner B.G., Dascal A., Margolese R.G., Wainberg M.A. (1989). Natural killer cell function in patients with acquired immunodeficiency syndrome and related diseases. *J. Leukoc. Biol.* 46, 75-83.
36. Broliden K., Hinkula J., Tolvenstam T., Niphuis H., Heene J.L. (1996). Antibody dependent cellular cytotoxicity to clinical isolates of HIV-1 and SIVcpz: Comparison of humans and chimpanzees. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 7, 325-331.
37. Broussard S.R., Staprans S.I., White R., Whitehead E.M., Feinberg M.B., Allan J.S. (2001). Simian immunodeficiency virus replicates to high levels in naturally infected African green monkeys without inducing immunologic or neurologic disease. *J. Virol.* 75, 2262-2275.
38. Brown A.E., Lane J.R., Wagner K.F., Zhou S., Chung R., Ray K.L., Blatt S.P., Burke D.S. (1995). Rates of p24 antigenemia and viral isolation in comparable white and black HIV-infected subjects. Military Medical Consortium for Applied Retroviral Research. *AIDS* 9(4), 3325-3328.
39. Brunkhorst FM, Heinz U, Forycki ZF. (1998). Kinetics of procalcitonin in iatrogenic sepsis. *Intensive Care Med.* Aug 24(8):888-889.
40. Bukrinsky M.I., Haggerty S., Dempsey M.P., Sharova N., Adzhubel A., Spitz L., Lewis P., Goldfarb D., Emerman M., Stevenson M. (1993). A nuclear localization signal within HIV-1 matrix protein that governs infection of non-dividing cells. *Nature* 365, 666-669.
41. Cai Q., Huang X.L., Rappocciolo G., Rinaldo C.R. Jr. (1990). Natural killer cell responses in homosexual men with early HIV infection. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 3, 669-676.
42. Cameron P., Pope M., Granelli-Piperno A., Steinman R.M. (1996). Dendritic cells and the replication of HIV-1. *J. Leucocyte Biol.* 59, 158-171.
43. Cameron P.U., Forsum U., Teppler H., Granelli-Piperno A., Steinman R.M. (1992). During HIV-1 infection most blood dendritic cells are not productively infected and can induce allogenic CD4⁺ T cells clonal expansion. *Clin. Exp. Immunol.* 88, 226-236.
44. Cameron P.U., Freudenthal P.S., Baarker J.M., Gezelter K., Inaba K., Steinmann R.M. (1992). Dendritic cells exposed to human immunodeficiency virus type-1 transmit a vigorous cytopathic infection to CD4⁺ cells. *Science* 257, 383-387.
45. Cann A.J., Karn J. (1989). Molecular biology of HIV of HIV: New insights into the virus life cycle. *J AIDS* 3, S19-S34.
46. Cao Y., Qin L., Zhang L., Safrin J., Ho D.D. (1995). Virologic and immunologic characterization of long term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* 332 (4), 201-208.
47. Carmichael A., Jin X., Sissons P., Borysiewicz L. (1993). Quantitative analysis of the human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) specific Cytotoxic t lymphocyte (CTL) response at different stages of HIV-1 infection: differential CTL responses to HIV-1 and Epstein-Barr virus in late disease. *J. Exp. Med.* 177, 249-256.
48. Castell JV., Gomez-Lechon MJ., David M., et al. (1989). Interleukin 6 is the major regulator of acute phase protein synthesis in adult hepatocytes. *FEBS Lett.* 242: 237-239.
49. Chakrabarti L., Baptiste V., Cumont M.C., Khatissian E., Montagnier L., Hurtrel B. (1994). Comparison of primary infection in lymph nodes of macaques inoculated with pathogenic and attenuated SIV. *J. Med. Primatol.* 23(4), 229.
50. Chakrabarti L., Cumont M.C., Montagnier L., Hurtrel B. (1994). Kinetics of primary SIV infection in lymph nodes. *J. Med. Primatol.* 23, 117-124.
51. Chakrabarti L., Guyader M., Alizon M., Daniel M.D., Desrosiers R.C., Tiollais P., Sonigo P. (1987). Sequence of simian immunodeficiency virus from macaques and its relationship to other human and simian lentiviruses. *Nature* 328, 543-547.
52. Chakrabarti L., Hurtrel M., Maire M.A., Vazeux R., Dormont D., Montagnier L., Hurtrel B. (1991). Early viral replication in the brain of SIV-infected rhesus monkeys. *Am. J. Pathol.* 139, 1273-1280.

- 53.** Chakrabarti L.A., Sharon N.L., Zhang L., Luckay A., Martin L.N., Skulsky E., Ho D.D., Cheng-Mayer C., Marx P.A. (2000). Normal T-cell turnover in sooty mangabeys harbouring active simian immunodeficiency virus infection. *J. Virol.* 74, 1209-1223.
- 54.** Cheng-Mayer C., Seto C.D., Tateno M., Levy J.A. (1988). Biologic features of HIV that correlate with virulence in the host. *Science* 240, 80-82.
- 55.** Chen C.H., Weinhold K.J., Bartlett J.A., Bolognesi D.P., Greenberg M.L. (1993). CD8+ T-lymphocyte mediated inhibition of HIV-1 long terminal repeat transcription: a novel antiviral mechanism. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 9, 1079-1086.
- 56.** Chen Z., Zhou P., Ho D.D., Landau N.R., Marx P.A. (1997). Genetically divergent strains of simian immunodeficiency virus use CCR5 as a co-receptor for entry. *J. Virol.* 71, 2705-2714.
- 57.** Cheret A., Le Grand R., Caufour P., Dereuddre-Bosquet N., Matheux F., Neildez O., Theodoro F., Maestrali N., Benveniste O., Vaslin B., Dormont D. (1996). Cytokine mRNA expression in mononuclear cells from different tissues during acute SIVmac251 infection of macaques. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 12(13), 1263-1272.
- 58.** Cheret A., Le Grand R., Neildez O., Matheux F., Theodoro F., Vaslin B., Dormont D. (1999). RANTES, IFN-gamma, CCR1, and CCR5 mRNA expression in peripheral blood, lymph node, and bronchoalveolar lavage mononuclear cells during primary simian immunodeficiency virus infection of macaques. *Virology* 255(2), 22285-22293.
- 59.** Cheynier R., Langlade D.P., Marescot M.R., Blanche S., Blondin G., Wain H.S., Griscelli C., Vilmer E., Plata F. (1992). Cytotoxic T lymphocyte responses in the peripheral blood of children born to human immunodeficiency virus-1-infected mothers. *Eur. J. Immunol.* 22, 2211-2217.
- 60.** Clark S.J., Saag M.S., Decker W.D., Campbell-Hill S., Roberson J.L., Veldkamp P.J., Kappes J.C., Hahn B.H., Shaw G.M. (1991). High titers of cytopathic virus in plasma of patients with symptomatic primary HIV-1 infection. *N. Engl. J. Med.* 324 (14), 954-960.
- 61.** Clavel F., Guetard D., Brun-Vezinet F., et al. (1986). Isolation of a new human retrovirus from west African patients with AIDS. *Science* 223, 343-346.
- 62.** Clement G.J., Princes-Jones M.J., Stephens P.E., Sutton C., Schultz T.F., Clapham P.R., McKeating J.A., McClure M.O., Thomson S., Marsh M., Kay J., Weiss R.A., Moore J.P. (1991). The V3 loops of the HIV-1 and HIV-2 surface glycoproteins contain proteolytic cleavage sites: a possible function in viral fusion. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 7, 3-16.
- 63.** Clerici M., Clark E.A., Polacino P., Axberg I., Kuller L., Casey N.I., Morton W.R., Shearer G.M., Benveniste R.E. (1994). T-cell proliferation to subinfectious SIV correlates with lack of infection after challenge of macaques. *AIDS* 8, 1391-1395.
- 64.** Clerici M., Giorgi J.V., Chou C.C., Gudeman V.K., Zack J.A., Gupta P., Ho H.N., Nishanian P.G., Berzofsky J.A., Shearer G.M. (1992). Cell-mediated immune response to human immunodeficiency virus (HIV) type 1 in seronegative homosexual men with recent sexual exposure to HIV-1. *J. Infect. Dis.* 165, 1012-1019.
- 65.** Clerici M., Shearer G.M. (1993). A Th1 and Th2 switch is a critical step in the etiology of HIV infection. *Immunol. Today* 14, 107.
- 66.** Clewley J.P., Barlow K.I., Parry J.V., Lewis J. (2001). *8th annual HIV dynamics and evolution meeting, Paris, France.*
- 67.** Clewley J.P., Lewis J.C.M., Brown D.W.G., Gadsby E.L. (1998). A novel simian immunodeficiency virus (SIVdrl) pol sequence from drill monkey, *Mandrillus leucophaeus*. *J. Virol.* 72, 10305-10309.
- 68.** Cocchi F., De Vico A.L., Garzino-Demo A., Arya S.K., Gallo R.C., Lusso P. (1995). Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science* 270, 1811-1815.
- 69.** Coffin J., Haase A., Levy J.A., et al (1986). What to call the AIDS virus. *Nature* 321, 10.

- 70.** Coffin J.M. (1990). Retroviridae and their replication. *Virology, second edition, ed. By B.N. Fields, D.M. Knipe et al. Raven Press, Ltd, New York (Chapter 51)*, 1437-1489.
- 71.** Cohen E.A., Terwilliger E.F., Jalinoos Y., Proulx J., Sodroski J.G., Haseltine W.A. (1990). Identification of HIV-1 vpr product and function. *J. Acquired Immune Defic. Syndr.* 3, 11-18.
- 72.** Connick E., Marr D.G., Zhang X.Q., Clark S.J., Saag M.S., Schooley R.T., Curiel T.J. (1996). HIV-specific cellular and humoral immune responses in primary HIV infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 12(12), 1129-1140.
- 73.** Courgnaud V., Lauré F., Fultz P.N., Montagnier L., Bréchet C., Sonigo P. (1992).. Genetic differences accounting for evolution and pathogenicity of simian immunodeficiency virus from sooty mangabey monkey after cross-species transmission to a pig-tailed macaque. *J. Virol.* 66, 414-419.
- 74.** Cullen B.R., (1991). Human immunodeficiency virus as a prototypic complex retrovirus. *J Virol* 65, 1053-1056.
- 75.** Daar E.S., Bai J., Hausner M.A., Majchrowicz M., Tamaddon M., Giorgi J.V. (1998). Acute HIV syndrome after discontinuation of antiretroviral therapy in a patient treated before seroconversion. *Ann. Intern. Med.* 128(10), 827-829.
- 76.** Daar E.S., Moudgil T., Meyer R.D., Ho D.D. (1991). Transient high levels of virémie in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N. Engl. J. Med.* 324, 961-964.
- 77.** Dalod M., Dupuis M., Deschemin JC., Goujard C., deveau C., Meyer L., Ngo N., Rouzioux C., Guillet JG., Delfraissy JF., Sinet M., Venet A. (1999). Weak anti-HIV CD8+ T cell effector activity in HIV primary infection. *J. Clin. Invest.* 104:1431-1439.
- 78.** Dalod M., Sinet M., Deschemin JC., Fiorentino S., Venet A., Guillet JG. (1999). Altered *ex vivo* balance between CD25⁺ and CD28⁻ cells within HIV-specific CD8+ T cells of HIV-seropositive patients. *Eur. J. Immunol.* 29:38-44.
- 79.** Daniel M.D., Letvin N.L., King N.W., Kannagi M., Sehgal P.K., Hunt R.D., Kanki P.J., Essex M., Desrosiers R.C. (1985). Isolation of T-cell tropic HTLV-III-like retrovirus from macaques. *Science* 228, 1201-1204.
- 80.** Daniel M.D., Li Y., Naidu Y., Durda P.J., Schmidt D.K., Troup C.D., Silva D.P., Mackey J.J., Kestler H.W., Sehgal P.K., King N.W., Ohta Y., Hayami M. (1988). Simian immunodeficiency virus from African Green Monkeys. *J. Virol.* 62, 4123-4128.
- 81.** Dapolito G.A., Elkins W.R., Loudon W.T., Goldstein S., Johnson P.R. and Hirsch V.M. (1993). Characterization of a pathogenic SIVagm isolate. *Nonhuman primate Models for AIDS Research Symposium (Abstract)*.
- 82.** Deng H., Unutmaz D., KewalRamani V.N., Littman D.R. (1997). Expression cloning of new receptors used by simian and human immunodeficiency viruses. *Nature* 388, 296-300.
- 83.** Desrosiers R.C. (1990). The simian immunodeficiency virus. *Annu Rev. Immunol.* 8, 557-578.
- 84.** Di Rienzo A.M., Furlini G., Olivier R., Ferris S., Heeney J., Montagnier L. (1994). Different proliferative response oh human and chimpanzee lymphocytes after contact with human immunodeficiency virus type 1 gp120. *Eur. J. Immunol.* 24, 34-40.
- 85.** Diop O.M., Gueye A., Dias-Tavares M., Kornfield C., Faye A., Ave P., Huerre M., Corbet S., Barré-Sinoussi F., Müller-Trutwin M.C. (2000). High levels of viral replication during primary SIVagm infection are rapidly and strongly controlled in African Green Monkeys. *J. Virol.* 74(16), 7538-7547.
- 86.** Dittmer U., Lüke W., Stahl-henning C., Coulibaly C., Petry H., Bodemer W., Hunsmann G., Voss G. (1994). Early helper T-cell dysfunction in simian immunodeficiency virus but not in human immunodeficiency virus type-2 infected macaques. *J. Med. Primatol.* 23, 298-303.

- 87.** Dormont D., Livartowski J., Chamaret S., and al. (1989). HIV-2 in rhesus monkeys: serological, virological and clinical results. *Intervirology* 30 (suppl 1), 59-65.
- 88.** Douek D.C., McFarland R.D., Keiser P.H., Gage E.A., Massey J.M., Haynes B.F., Polis M.A., Haase A.T., Feinberg M.B., Sullivan J.L., Jamieson B.D., Zack J.A., Picker L.J., Koup R.A. (1998). Changes in thymic function with age and during the treatment of HIV infection. *Nature* 396, 690-695.
- 89.** Dreno B., Milpied B., Bignon J.D., Stadler J.F., Litaux P. (1988). Prognostic value of Langerhans cells in the epidermis of HIV patient. *Br J Dermatol* 118, 481-486.
- 90.** Eichberg J.W., Montiel M.M., Morale B.A., King D.E., Chanh T.C., Kennedy R.C., Dresman G.R. (1988). Lymphocyte subsets in chimpanzees. *Lab. Anim. Sci.* 38, 197-198. 604
- 91.** Emau P., McLure H., Isahakia M., Else J.G., Fultz P.N. (1991). Isolation from African Sykes monkeys (*Cercopithecus mitis*) of a lentivirus related to human and simian immunodeficiency viruses. *J. Virol.* 65, 2135-2140.
- 92.** Embretson J., Zupancic M., Beneke J., Till M., Wolinsky S., Ribas J.L., Burke A., Haase A.T. (1993). Analysis of human immunodeficiency virus infected tissues by amplification and in situ hybridisation reveals latent and permissive infections at single cell resolution. *Proc Natl Acad Sci USA* 90, 357-361.
- 93.** Embretson J., Zupancic M., Ribas J.L., Burke A., Racz P., Tenner-Racz K., Haase A.T. (1993). Massive covert infection of helper T lymphocytes and macrophages by HIV during the incubation period of AIDS. *Nature* 362, 359-362.
- 94.** Emerman M., Bukrinsky M., Stevenson M. (1994). HIV-1 infection on non-dividing cells. *Nature* 369, 108.
- 95.** Emilie D., Galanaud P. (1999). Cytokines and chemokines in acquired immunodeficiencies in: *Thèse J (ed.), The cytokine network in immune functions, Oxford University Press, Oxford*, pp 294-301.
- 96.** Ennen J., Findelee H., Dittmar M.T., Norley S., Ernst M., Kurth R. (1994). CD8+ T lymphocytes of African green monkeys secrete an immunodeficiency virus –suppressing lymphokine. *Proc. Natl. Sci. USA* 91, 7207-7211.
- 97.** Erickson J., Kempf D. (1994). Structure-based design of symmetric inhibitors of HIV-1 protease. *Arch. Suppl.* 9, 19-29.
- 98.** Estaquier J., Idziorek T., De Bels F., Barré-Sinoussi F., Hurtrel B., Aubertin A.M., Venet A., Mehtali M., Muchmore E., Michel P., Mouton Y., Girard M., Ameisen J.-C. (1994). Programmed cell death and AIDS: significance of T-cell apoptosis in pathogenic and non-pathogenic primate lentiviral infections. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91, 9431-9435.
- 99.** Faith A., O'Hehir R.E., Malkovsky M., Lamb J.R. (1992). Analysis of the basis of resistance and susceptibility of CD4⁺ T cells to human immunodeficiency virus (HIV) gp120 induced anergy. *Immunology* 76, 177-184.
- 100.** Fauci A.S. (1993). Immunopathogenesis of HIV infection. *J Acquir Immune Defic Syndr* 6 (6), 655-665.
- 101.** Fauci A.S. (1996). Host factors and the pathogenesis of HIV-induced disease. *Nature* 384, 529-534.
- 102.** Felber B.K., Hadzopoulou-Cladaras M., Cladaras C., Copeland T., Pavlakis G.N. (1989). Rev protein of human immunodeficiency virus type 1 affects the stability and transport of the viral mRNA. *Proc Natl Acad Sci USA* 86, 1495-1499.
- 103.** Fenyo E.M., Morfeldt M.L., Chiodi F., Lind B., Von G.A., Albert J., Olausson E., Asjo B. (1988). Distinct replicative and cytopathic characteristics of human immunodeficiency virus isolates. *J. Virol.* 62(11), 4414-4419.
- 104.** Ferrari G., Cranage M., Place C., Nigida S.M., Arthur L.O., Weinhold K.J. (1993). The impact of HIV-1 infection on phenotypic and functional parameters of cellular immunity in chimpanzees. *AIDS Res. Hum. Retrovirus* 9, 647-656.

- 105.** Ferrari G., Place C.A., Ahearne P.A., Negida S.M.J., Arthur L.O., Bolognesi D.P., Weinhold K.J. (1994). Comparison of anti-HIV-1 ADCC reactivities in infected humans and chimpanzees. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 7, 325-331.
- 106.** Finkel T.H., Tudor-Williams G., Banda N.K., Cotton M.F., Curiel T., Monks C., Baba T.W., Ruprecht R.M., Kupfer A. (1995). Apoptosis occurs predominantly in bystander cells and not in productively infected cells of HIV- and SIV-infected lymph nodes. *Nat. Med.* 1, 129-134.
- 107.** Fleury S., De Boer R.J., Rizzardi G.P., Wolthers K.C., Otto S.A., Welbon C.C., Graziosi C., Knabenhans C., Soudeyns H., Bart P.A., Gallant S., corpataux J.M., Gillet M., Meylan P., Schnyder P., Meuwly J.Y., Spreen W., Glauser M.P., Miedema F., Pantaleo G. (1998). Limited CD4⁺ T cell renewal in early HIV-1 infection: effect of highly active antiretroviral therapy. *Nat. Med.* 4, 794-801.
- 108.** Fomsgaard A., Johnson P.R., Nielsen C., Novembre F.J., Goldstein S., Hirsch V.M. (1994). Infectivity of SIVsm, SIVsmmPBj, SIVagm and HIV-1 for human and macaque cell-lines expressing nonhuman primate CD4 chimeras. *J. Med. Primatol.* 23, 246.
- 109.** Fox C.H., Tenner-Racz K., Racz P., Firpo A., Pizzo P.A., Fauci A.S. (1991). Lymphoid germinal centers are reservoirs of human immunodeficiency type 1 RNA. *J. infect. Dis.* 164, 1051-1057.
- 110.** Franchini G., Robert-Guroff M., Ghayeb J., Chang N.T., Wong-Staal F. (1986). Cytoplasmic localization of the HTLV-III 3' orf protein in cultured cells. *Virology* 155, 593-599.
- 111.** Fukasawa M., Miura T., Hasegawa A., Morikawa S., Tsujimoto H., Miki K., Kitamura T., Hayami M. (1988). Sequence of simian immunodeficiency virus from African green monkey, a new member of HIV-SIV group. *Nature* 333, 457-461.
- 112.** Fultz P.N., McClure H.M., Anderson D.C., Switzer W.M. (1989). Identification and biologic characterization of an acutely lethal variant of simian immunodeficiency virus from sooty mangabeys (SIV/SMM). *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 5, 397-409.
- 113.** Fultz P.N., McClure H.M., Anderson D.C., Swenson B., Anand R., Srinivasan A. (1986). Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from naturally infected sooty mangabey monkeys (*Cercocebus atys*). *Proc Natl Acad Sci USA* 83, 5286-5290.
- 114.** Galat G. (1983). Socio-écologie du singe vert (*Cercopithecus aethiops sabaues*) en référence de quatre Cercopithécinés forestiers sympatriques (*Cercocebus atys*, *Cercopithecus campbelli*, *Cercopithecus diana* et *Cpetaurista d'afrique de l'Ouest.* *Thèse de Science, paris 6, Université Pierre et Marie Curie*
- 115.** Gallimore A., Cranage M., Cook N., Almond N., Bootman J., Rud E., Silvera P., Dennis M., Corcoran T., Stott J., McMichael A., Gotch F. (1995). Early suppression of SIV replication by CD8⁺ nef-specific Cytotoxic T cells in vaccinated macaques. *Nat. Med.* 1, 1167-1173.
- 116.** Gallo R.C., Salahuddin S.Z., Popovic M., et al. (1984). Human T-lymphotropic virus type III, HTLV-III, isolated from AIDS patients and donors at risk for AIDS. *Science* 224, 500-503.
- 117.** Garcia J.V., Miller A.D. (1991). Serine phosphorylation independent down-regulation of cell surface CD4 by nef. *Nature* 350, 508-511.
- 118.** Gigout L., Vaslin B., Matheux F., Caufour P., Neildez O., Cheret A., Lebel-Binay S., Theodoro F., Dilda P., benveniste O., Clayette P., Le Grand R., Dormont D. (1998). Consequences of ddI-induced reduction of acute SIVmac251 virus load on cytokine profiles in cynomolgus macaques. *Res. Virol.* 149(6), 341-354.
- 119.** Giorgi J.V., Liu Z., Hultin L.E., Cumberland W.G., Hennessey K., Detels R. (1993). From the multicentre AIDS Cohort group: Elevated levels of CD38⁺ CD8⁺, the pronostic

value of low CD4⁺ T cells levels: Results of 6 years of follow-up. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 6, 904-912.

120. Givan A.L., Fisher J.L., Waugh M., Ernstoff M.S., Wallace P.K. (1999). A flow cytometric method to estimate the precursor frequencies of cells proliferating in response to specific antigens. *J. Immunol. Methods* 230, 99-112.

121. Goepfert P.A., Bansal A., Edwards B.H., Ritter G.D.Jr., Tellez I., McPherson S.A., Sabbaj S., and Mulligan M.J. (2000). A significant number of human immunodeficiency virus epitope-specific cytotoxic T lymphocytes detected by tetramer binding do not produce gamma interferon. *J. Virol.* 74: 10249-10255.

122. Golding H., Robey F.A., Gatesi F.T., Linder W., Beining P.R., Hoffman T., Golding B. (1988). Identification of homologous regions in human deficiency virus 1 gp41 and human MHC class II beta domain. *J. Exp. Med.* 167, 914-923.

123. Goldstein S., Elkins W.R., Hirsch V.M. (1994). Tissue distribution and viral load in an African green monkeys naturally infected with SIVagm. *J. Med. Primatol.* 23, 243.

124. Goldstein S., Ourmanov I., Brown C.R., Beer B.E., Elkins W.R., Plishka R., Buckler-White A., Hirsch V.M. (2000). Wide range of viral load in healthy African green monkeys naturally infected with simian immunodeficiency virus. *J. Virol.* 74, 11744-11753.

125. Gorochov G., Neumann A.U., Kereveur A., Parizot C., Li T., Katlama C., Karmochkine M., Raguin G., Autran B., Debré P. (1998). Perturbation of CD4⁺ and CD8⁺ T-cell repertoire during progression to AIDS and regulation of the CD4⁺ repertoire during antiviral therapy. *Nat. Med.* 4, 215-221.

126. Gotch F., Gallimore A., McMichael A. (1996). Cytotoxic T cells - protection from disease- protection from infection. *Immunol Lett.* 51, 125-128.

127. Gotch F.M., Nixon D.F., Alp N., McMichael A.J., Borysiewicz L.K. (1990). High frequency of memory and effector gag specific Cytotoxic T lymphocytes in HIV seropositive individuals. *Int. Immunol.* 2, 707-712.

128. Goulder P.J., Phillips R.E., Colbert R.A., McAdam S., Ogg G., Nowak M.A., Giangrande P., Luzzi G., Morgan B., Edwards A., McMichael A.J., Rowland-Jones S. (1997). Late escape from an immunodominant Cytotoxic T-lymphocyte response associated with progression to AIDS. *Nat. Med.* 1997, 212-217.

129. Graziosi C., Pantaleo G., Butini L., Demarest J.F., Saag M.S., Shaw G.M., Fauci A.S. (1993). Kinetics of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) DNA and RNA synthesis during primary HIV-1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 90, 6405-6409.

130. Graziosi C., Pantaleo G., Demarest J.F., Cohen O., Vaccarezza M., Butini L., Montroni M., Fauci A. (1993). HIV-1 infection in the lymphoid organs. *AIDS* 7(S2), S53-S58.

131. Graziosi C., Pantaleo G., Fauci A.S. (1994). Comparative analysis of constitutive cytokine expression in peripheral blood and lymph nodes of HIV-infected individuals. *Res. Immunol.* 145, 602-605.

132. Graziosi C., Pantaleo G., Gantt K.R., Fortin J.P., Demarest J.F., Cohen O.J., Sekaly R.P., Fauci A.S. (1994). Lack of evidence for the dichotomy of Th1 and Th2 predominance in HIV-infected individuals. *Science* 265, 248-252.

133. Groux H. (2003). Type 1 regulatory cells: their role in the control of immune responses. *Transplantation* 75: 8S-12S.

134. Gummuluru S., Novembre F.J., Lewis M., Gelbard H.A., Dewhurst S. (1996). Apoptosis correlates with immune activation in intestinal lymphoid tissue from macaques acutely infected by a highly enteropathic simian immunodeficiency virus, SIVsmmPBj14. *Virology* 225, 21-32.

135. Guyader M., Emerman M., Sonigo P., Clavel F., Montagnier L., Alizon M. (1987). Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. *Nature* 326, 662-669.

- 136.** Haas G., Plikat U., Debre P., Lucchiari M., Katlama C., Dudoit Y., Bonduelle O., Bauer M., Ihlenfeldt H.G., Jung G., Maier B., Meyerhans A., Autran B. (1996). Dynamics of viral variants in HIV-1 Nef and specific cytotoxic T lymphocytes in vivo. *J. Immunol.* 157, 4212-4221.
- 137.** Hadzopoulou-Cladaras M., Felber B.K., Cladaras C., Athanassopoulos A., Tse A., Pavlakis G. (1989). The rev (trs/art) protein of human immunodeficiency virus type 1 affects viral mRNA and protein expression via a cis-acting sequence in the *env* region. *J Virol* 63, 1265-1274.
- 138.** Hartung S., Boller K., Cichutek K., Norley S.G., Kurth R. (1992). Quantitation of a lentivirus in its natural host: simian immunodeficiency virus in African Green Monkeys. *J. Virol.* 66, 2143-2149.
- 139.** Hauber J., Malim M.H., Cullen B.R. (1989). Mutational analysis of the conserved basic domain of human immunodeficiency virus tat protein. *J Virol* 63, 1181-1187.
- 140.** Hayami M., Otha Y., Hattori T., et al (1985). Detection of antibodies to human T-lymphotropic virus type III in various non-human primates. *J Exp Med* 55, 251-255.
- 141.** Haynes B.F., Pantaleo G., Fauci A.S. (1996). Toward an understanding of the correlates of protective immunity to HIV infection. *Science* 271, 324-327.
- 142.** Heeney J.L., Holterman L., Ten Haaft P., Dubbes R., Koornstra W., Teeuwssen V., Bourquin P., Norley S. and Nipjhuis H. (1994). Vaccine protection and reduced virus load from heterologous macaque propagated SIV challenge. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10 (Suppl 2), S117-121.
- 143.** Heinzinger N.K., Bukrinsky S.A., Haggerty A., Ragland A.M., Kewalramani V., Lee M., Gendelmann H., Ratner L., Stevenson M., Emerman M. (1994). The vpr protein of human immunodeficiency virus type 1 influences nuclear localisation of viral nucleic acids in non dividing cells. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 91, 7311-7315.
- 144.** Hellerstein M., Hanley M.B., Cesar D., Siler S., Papageorgopoulos C., Wieder E., Schmidt D., Hoh R., Neese R., Macallan D., Deeks S., McCune J.M. (1999). Directly measured kinetics of circulating T lymphocytes in normal and HIV-1 infected humans. *Nat. Med.* 5, 83-89.
- 145.** Henderson L.E., Sowder R.C., Copeland T.D., Benveniste R.E., Oroszlan S. (1988). Isolation and characterization of a novel protein (X-ORF product) from SIV and HIV-2. *Science* 241, 199-201.
- 146.** Hendry R.M., Wells M.A., Phelan M.A., Schneider A.L., Epstein J.S., Quinnan G.V. (1986). Antibodies to simian immunodeficiency virus in African Green Monkeys in Africa in 1957-1962. *Lancet* ii, 455.
- 147.** Hirsch V., Campbell B., Bailes E., Goeken R., R B.C., Axthelm M., Murphey Corb M., Sharp P.M. (1998). Pathogenesis of SIV from l'hoest monkeys (*Cercopithecus l'hoesti*) for macaques. 16th Annual Symposium on Nonhuman Primate Models for AIDS, 5.
- 148.** Hirsch V.M., Dapolito G.A., Goldstein S., McClure P., Emau P.N., Fultz P.N., Isahakia M., Lenroot R., Myers G., Johnson P.R. (1993). A distinct African lentivirus from sykes' monkeys. *J. Virol.* 67, 1517-1528.
- 149.** Hirsch V.M., Fuerst T.R., Sutter G., Carrol M.W., Yang L.C., Goldstein S., Piatak Jr. M., Elkins W.R., Alvord W.G., Montefiori D.C., Moss B., Lifson J.D. (1996). Patterns of viral replication correlate with outcome in simian immunodeficiency virus (SIV)-infected macaques: effect of prior immunization with a trivalent SIV vaccine in modified vaccinia virus Ankara. *J. virol.* 70(6), 3741-3752.
- 150.** Hirsch V.M., Johnson P.R. (1994). Pathogenic diversity of simian immunodeficiency viruses. *Virus Res.* 32, 183-203.
- 151.** Hirsch V.M., Olmsted R.A., Murphey-Corb M., Purcell R.H., Johnson P.R. (1989). African primate lentivirus (SIVsm) closely related to HIV-2. *Nature* 339, 389-392.

- 152.** Ho D.D. (1995). Time to hit HIV, early and hard (editorial; comment). *N. Engl. J. Med.* 333(7), 450-451.
- 153.** Ho D.D., Neumann A.U., Perelson A.S., Chen W., Leonard J.M., Markowitz M. (1995). Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 373, 123.
- 154.** Ho D., Sarngadharan M., Resnick L., Dimarzo Veronese F., Rota T., Hirsch M. (1985). Primary human T-lymphotropic virus type III infection. *Ann. Intern. Med.* 103 (6), 880-883.
- 155.** Hodge S., Novembre F.J., Dewhurst S. (1998). Induction of fas ligand expression by an acutely lethal simian immunodeficiency virus, SIVsmmPBj14. *Virology* 252, 354-363.
- 156.** Hoffenbach A., Langlade-Demoyen P., Dadaglio G., Vilmer E., Michel F., Mayaud C., Autran B., Plata F. (1989). Unusually high frequencies of HIV specific Cytotoxic T lymphocytes in humans. *J. Immunol.* 145, 3699-3705.
- 157.** Homsy J., Meyer M., Tateno M., Clarkson S., Levy J.A. (1989). The Fc and not CD4 receptor mediates antibody dependent enhancement of HIV infection of human cells. *Science* 244, 1357-1360.
- 158.** Holzammer S., Holznagel E., Kaul A., Kurth R., Norley S. (2001). High virus loads in naturally and experimentally SIVagm infected African green monkeys. *J. I.* 283(2), 324-331.
- 159.** Huet T., Cheynier R., Meyerhans A., Roelants G., Wain-Hobson S. (1990). Genetic organization of a chimpanzee lentivirus related to HIV-1. *Nature* 345, 356-359.
- 160.** Jassoy C., Walker B. (1997). HIV-1 specific Cytotoxic T lymphocytes and the control of HIV-1 replication. *Springer Semin. Immunopathol.* 18, 341-354.
- 161.** Joag S.V., Stephens E.B., Adams R.J., Foresman L., Narayan O. (1994). Pathogenesis of SIVmac infection in chinese and Indian rhesus macaques: effects of splenectomy on virus burden. *Virology* 200, 436-446.
- 162.** Jolly P.E., Huso D., Hart G., Narayan O. (1989). Modulation of lentivirus replication by antibodies. Non-neutralizing antibodies to caprine arthritis-encephalitis virus enhance early stages of infection in macrophages, but not cause increased production of virions. *J. Gen. Virol.* 70, 2221-2226.
- 163.** Jonuleit H., Schmitt E., Schuler G., Knop J., Enk A.H. (2000). Induction of interleukin 10-producing, nonproliferating CD4⁺ T cells with regulatory properties by repetitive stimulator with allogenic immature human dendritic cells. *J. Exp. Med.* 192: 1213-1222.
- 164.** Josephs S.F., Wong-Staal F., Manzari V., Gallo R.C., Sodroski J.G., Trus M.D., Perkins D., Putarca R., Haseline W.A. (1984). Long terminal repeat of an American isolate of type I human T cell leukemia virus. *Virology* 139, 340-345.
- 165.** Kalams S.A., Johnson R.P., Dynan M.J., Hartman K.E., Harrer T., Harrer E., Trocha A.K., Blattner W.A., Buchbinder S.P., Walker B.D. (1996). T cell receptor usage and fine specific of human immunodeficiency virus type 1 specific Cytotoxic T lymphocytes clones: analysis of quasispecies recognition reveals a dominant response against a minor in vivo variant. *J. Exp. Med.* 183, 1669-1679.
- 166.** Kaminchik J., Bashan N., Itach A., Sarver N., Gorecki M., Panet A. (1991). Genetic characterization of human immunodeficiency virus type 1 nef gene products translated in vitro and expressed in mammalian cells. *J. Virol.* 65, 583-588.
- 167.** Kanki P.J., Alroy J., Essex M. (1985). Isolation of T-lymphotropic retrovirus related to HTLV-III/LAV from wild-caught African green monkeys. *Science* 230, 951-954.
- 168.** Kannagi M., Masuda T., Hattori T., Kanoh T., Nasu K., Yamamoto N., Harada S. (1990). Interference with human immunodeficiency virus (HIV) replication by CD8⁺ T cells in peripheral blood leukocytes of asymptomatic HIV carriers *in vitro*. *J. Virol.* 64, 3399-3406.
- 169.** Kessler H.A., Blauw B., Spear J., Paul D.A, Falk L.A., Landay A. (1987).. Diagnosis of human immunodeficiency virus infection in seronegative homosexuals presenting with an acute viral syndrome. *JAMA* 258 (9), 1196-1199.

- 170.** Kestens L., Vanham G., Gigase P., Young G., Hannel I., Vanlangendonck F., Hulstaert F., Bach B.A. (1992). Expression of activations, HLA-DR and CD38, on CD8 lymphocytes during HIV-1 infection. *AIDS* 6, 793-797.
- 171.** Kestens L., Vingerhoets J., Peeters M., Vanham G., Vereecken C., Penne G., Niphius H., Eeerd V.P., Groen V.D.G., Gigase P., and al. (1995). Phenotypic and functional parameters of cellular immunity in a chimpanzee with a naturally acquired SIV infection. *J. Infect. Dis.* 172, 957-963.
- 172.** Kestler H.W., Ringler D.J., Mori K., Panicali D.L., Seghal P.K., Daniel M.D., Desrosiers R. (1991). Importance of the nef gene for the maintenance of high virus load and for development of AIDS. *Cell* 65, 651-662.
- 173.** Khatissian E., Chakrabarti L., Hurtrel B. (1996). Cytokine patterns and viral load in lymph nodes during the early stages of SIV infection. *Res. Viro.* 147(2-3), 181-189.
- 174.** Khatissian E., Tovey M.G., Cumont M.C., Monceaux V., Lebon P., Montagnier L., Hurtrel B., Chakrabarti L. (1996). The relationship between the interferon alpha response and viral burden in primary SIV infection AIDS *Res. Hum. Retroviruses* 12, 1273-1278.
- 175.** Kindt T.J., Hirsch V.M., Johnson P.R., Sawasdikosol S. (1992). Animal models for acquired immunodeficiency syndrome. *Adv. Immunol.* 52, 425-474.
- 176.** Kinloch De Loes S., De Saussure P., Saurat J.H., Stadler H., Hirschel B., Perrin L.H. (1993). Symptomatic primary immunodeficiency virus type 1 infection. *Clin Infect Dis* 17, 59-65. 277
- 177.** Klatzmann D., Barré-Sinoussi F., Nugeyre M.T., Dauguet C., Brun-Vezinet F., Rouzioux C., Gluckmann J.C., Chermann J.C., Montagnier L. (1984). Selective tropism of lymphadenopathy associated virus (LAV) for helper-inducer T lymphocytes. *Sciences* 225, 59.
- 178.** Klein M., Van Baalen C., Holwerda A., Garde S., Bende R., Keet I., Eeftinck-Schattenkerk J., Osterhaus A., Schuitmaker H., Miedema F. (1995). Kinetics of gag-specific Cytotoxic T lymphocyte responses during clinical course of HIV-1 infection: a longitudinal analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics. *J. Exp. Med.* 181, 1365-1372.
- 179.** Knuchel M., Bednarik D.P., Chikkala N., Ansari A.A. (1994). Biphasic in vitro regulation of retroviral replication by CD8+ cells from nonhuman primates. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 7(5), 438-446.
- 180.** Kodama T., Silva D.P., Daniel M.D., Philips-Conroy J.E., Jolly C.J., Rogers J., Desrosiers R.C. (1989). Prevalence of antibodies to SIV in baboons in their native habitat. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 3, 337-343.
- 181.** Koralnik I.J., Gessain A., Klotman M.E., Lo Monaco A., Berneman Z.N. (1992). Protein isoforms encoded by the pX region of human T-cell leukemia/lymphotropic virus type 1. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 89, 8813-8817.
- 182.** Kornfeld C., Pandrea I., Diop O.M., Gueye A., Apetrei C., Faye A., Poaty Mavoungou V., Rouquet P., Onanga R., Fair J., Legrand R., Roques P., Simon F., Barré-Sinoussi F., Müller-Trutwin M.C. (2001). *8th annual HIV dynamics and evolution meeting, Paris, France.*
- 183.** Kostense S., Ogg GS., Manting H., Gillespie G., Joling J., Vanderberghe K., Veenhof E.Z., van Baarle D., Juriaans S., Klein M.R., Miedema F. (2001). High viral burden in the presence of major HIV-specific CD8⁺ T cell expansions: evidence for impaired CTL effector function. *Eur. J. Immunol.* 31: 677-686.
- 184.** Koup R.A., Safrit J.T., Cao Y., Andrews C.A., McLeod G., Borkowsky W., Farthing C., Ho D (1994). Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome. *J. Virol.* 68 (7), 4650-4655.

- 185.** Kraus G., Werner A., Baier M., Binninger D., Ferdinand F.J., Norley S., Kurth R. (1989). Isolation of human immunodeficiency viruses from African Green Monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86, 2892-2896.
- 186.** Kurth R., Norley S. (1994). Simian immunodeficiency viruses of African green monkeys. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 188, 21-33.
- 187.** Lackner A.A. (1994). Pathology of simian immunodeficiency virus induced disease. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 188, 35-76.
- 188.** Langenkamp A., Messi M., Lanzavecchia and Sallusto F. (2000). Kinetics of dendritic cell activation: impact on priming of Th1, Th2 and nonpolarized T cells. *Nat. Immunol.* 1: 311-316.
- 189.** Langlade-Demoyen P., Ngo-Giang-Huong N., Ferchal F., Oksenhendler E. (1994). Human immunodeficiency virus (HIV) nef-specific cytotoxic T lymphocytes in noninfected heterosexual contact of HIV-infected patients. *J. Clin. Invest.* 93, 1293-1297.
- 190.** Lanzavecchia A., Roosneck E., Gregory T., Berman P., Abrignani S. (1988). T cells can present antigens such a HIV gp 120 targeted to their own surface molecules. *Nature* 334, 530-532.
- 191.** Le Grand R., Clayette P., Noack O., Vaslin B., Theodoro F., Michel G., Roques P., Dormont D. (1994). An animal model for antileviral therapy: effect of zidovudine on viral load during acute infection after exposure of macaques to simian immunodeficiency virus. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10, 1279-1287.
- 192.** Le P.T., Lazorick S., Whichard L.P., Haynes B.F., Singer K.H. (1991). Regulation of cytokine production in the human thymus: epidermal growth factor and transforming alpha regulate mRNA levels of interleukin-1 alpha (IL-1 alpha), IL-1 beta, and IL-6 in human thymic epithelial cells at a post-transcriptional level. *J. Exp. Med.* 174, 1147-1157.
- 193.** Lee T.H., Sheppard H.W., Reis M., Dondero D., Busch M.P. (1994). Circulating HIV-1 infected cell burden from seroconversion to AIDS: importance of post-seroconversion viral load on disease course. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 7(4), 381-388.
- 194.** Letvin N.L., Daniel M.D., Sehgal P.K., Desrosiers R.C., Hunt R.D., Waldron L.M., MacKey J.J., Schmidt D.K., Chalifoux L.V., King N.W. (1985). Induction of AIDS-like disease in macaque monkeys with T-cell tropic retrovirus STLV-III. *Science* 230, 71-73.
- 195.** Letvin N.L., King N.W. (1990). Immunologic and pathologic manifestations of the infection of rhesus macaques with SIVmac. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 3, 1023-1040.
- 196.** Levy J.A. (1993). Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiol. Rev.* 57, 183-289.
- 197.** Levy J.A. (1996). Infection by human immunodeficiency virus CD4 is not enough. *N Engl J Med* 14, 1528-1530.
- 198.** Levy J.A., Hoffman A.D., Kramer S.M., Lanois J.A., Shimabukuro J.M., Oskiro L.S. (1984). Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science* 227, 840-842.
- 199.** Lewis M., Zack P.M., Elkins W.R., Jahrling P.B. (1992). *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 8, 1631-1639.
- 200.** Li T.S., Tubiana R., Katlama C., Calvez Ait mohand H., Autran B. (1998). Long lasting recovery in CD4⁺ T cell function mirrors viral load reduction after highly active anti-retroviral therapy in patients with advanced HIV disease. *Lancet* 351, 1682-1686.
- 201.** Lifson J.D., Feinberg M.B., Reyes G.R., and al. (1986). Induction of CD4-dependent cell fusion by the HTLV-III/LAV envelope glycoprotein. *Nature* 323, 725-728.
- 202.** Lifson J.D., Nowak M.A., Goldstein S., Rossio J.L., Kinter A., Vasquez G., Wiltrout T.A., Brown C., Schneider D., Wahl L., Lloyd A.L., Williams J., Elkins W.R., Fauci A.S., Hirsch V.M. (1997). The extent of early viral replication is a critical determinant of the natural history of simian immunodeficiency virus infection. *J. Virol.* 71(12), 9508-9514.

- 203.** Lohman B.L., McChesney M.B., Miller C.J., McGowan E., Joye S.M., Van Rompay K.K., Reay E., Antipa L., Pedersen N.C., Marthas M.L. (1994). A partially attenuated simian immunodeficiency virus induces host immunity that correlates with resistance to pathogenic virus challenge. *J. Virol.* 68, 7021-7029.
- 204.** Lowenstine N.L., Pedersen N., Higgins J., et al. (1986). Seroepidemiologic survey of captive old world primates for antibodies to human and simian retroviruses and isolation of a lentivirus from sooty mangabeys (*Cercocebus atys*). *Int. J. Cancer* 38, 563-575.
- 205.** Luciw P.A., Cheng-Mayer C., Levy J.A. (1987). Mutational analysis of the human immunodeficiency virus: the orf-B region down-regulates virus replication. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84, 1434-1438.
- 206.** Lyerly H.K., Matthews T.J., Langlois A.J., Bolognesi D.P., Weinhold K.J. (1987). Human T-cell lymphotropic virus III B glycoprotein (gp120) bound to CD4 determinants on normal lymphocytes and expressed by infected cells serves a target for immune attack. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84, 4601-4605.
- 207.** Mackewicz C.E., Blackbourn D.J., Levy J.A. (1995). CD8⁺ T cells suppress human immunodeficiency virus replication by inhibiting viral transcription. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 92, 2308-2312.
- 208.** Mackewicz C., Levy J.A. (1992). CD8⁺ cell anti-HIV activity: nonlytic suppression of virus replication. *AIDS Res hum Retroviruses* 8(6), 1039-1050.
- 209.** Mackewicz C.E., Ortega H.W., Levy J.A. (1991). CD8⁺ cell anti-HIV activity correlates with the clinical state of the infected individual. *J. Clin. Invest* 87(4), 1462-1466.
- 210.** Mackewicz C., Yang L., Lifson J., Levy J. (1996). Non Cytolytic CD8 T-cell anti-HIV responses in primary HIV-1 infection. *Lancet* 344, 1671-1673.
- 211.** Macreadie I.G., Ward A.C., Faila P., Gracic E., McPhee D., Azad A.A. (1993). Expression of HIV-1 in yeast: the 27 kDa Nef protein is myristylated and fractionates with the nucleus. *Yeast* 9, 565-573.
- 212.** Maggi E., Mazetti M., Ravina A., Annunziato F., De Carli M., Piccinni M.P., Manetti R., Carbonari M., Pesce A.M., Del Prete G., Romagnani S. (1994). Ability of HIV-1 to promote a Th1 to Th0 shift and to replicate preferentially in Th2 and Th0 cells. *Science* 265, 244-248.
- 213.** Malim M.H., Böhnlein S., Hauber J., Cullen B.R. (1989). Functional dissection of the HIV-1 rev trans-activator. Derivation of a trans-dominant repressor of rev function. *Cell* 58, 205-214.
- 214.** Malim M.H., Hauber J., Le SY, maizel J.V., Cullen B.R. (1989). The HIV-1 rev transactivator acts through a structured target sequence to activate nuclear export of unspliced viral mRNA. *Nature* 338, 254-257.
- 215.** Marcon L., Choe H., Martin K.A., Farzan M., Ponath P.D., Wu L., Newman W., Gerard N., Gerard C., Sodroski J. (1997). Utilization of C-C chemokine receptor 5 by the envelope glycoproteins of a pathogenic simian immunodeficiency virus, SIVmac239. *J. Virol.* 71, 2522-2527.
- 216.** Marx P.A., Chen Z. (1998). The function of simian chemokine receptors in the replication of SIV. *Semin. Immunol.* 10, 215-223.
- 217.** McCune J.M. (1997). Thymic function in HIV-1 disease. *Semin. Immunol.* 9, 397-404.
- 218.** McCune J.M., Rabin L.B., Feinberg M.B., Llieberman M., Kosek J.C., Weissman I.L. (1988). Endoproteolytic cleavage of gp160 is required for the activation of human immunodeficiency virus. *Cell* 53, 55-67.
- 219.** McClure H.M., Anderson D.C., Fultz P.N., Ansari A.A., Lockwood E., Brodie A. (1989). Spectrum of disease in macaque monkeys chronically infected with SIV/SMM. *Vet Immunol. Immunopathol.* 21, 13-24.
- 220.** McClure J., Scheibel M., Steele J., Dorofeeva N., Schmidt A., Hu S.L., Morton W. (1994). HIV-2 macaque model for HIV infection and pathogenesis. *J. Med. Primatol.* 23, 243.

- 221.** Mellors J.W., Kingsley L.A., Rinaldo Jr. C.R., Todd J.A., Hoo B.S., Kokka R.P., Gupta P. (1995). Quantitation of HIV-1 RNA in plasma predicts outcome after seroconversion. *Ann. Int. Med.* 122, 573-579.
- 222.** Mellors J.W., Rinaldon Jr. C.R., Gupta P., White R.M., Todd J.A., Kingsley L.A. (1996). Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 272, 1167-1170.
- 223.** Meyard L., Schuitemaker H., Miedema F. (1993). T cell dysfunction in HIV infection : anergy due to defective antigen-presenting cell function. *Immunol. Today* 14, 161.
- 224.** Miller M.D., Lord C.I., Stallard V., Mazzara G.P., Letvin N.L. (1989). Gag-specific Cytotoxic T lymphocytes in rhesus monkeys infected with simian immunodeficiency virus of macaques. *J. Immunol.* 144, 122-128.
- 225.** Mohri H., Bonhoeffer S., Monard S., Perelson A.S., Ho D.D. (1998). Rapid turnover of T lymphocytes in SIV-infected rhesus macaques. *Science* 279, 1223-1227.
- 226.** Montefiori D.C., Lefkowitz Jr. L.B., Keller R.E., Holmberg V., Sandstrom E., Phair J.P. (1991). Absence of a clinical correlation for complement-mediated infection-enhancing antibodies in plasma or sera from HIV-1 infected individuals. *AIDS* 5, 513-517.
- 227.** Moore J.P., Cao Y., Ho D.D., Koup R.A. (1994). Development of the anti-gp120 antibody response during seroconversion to human immunodeficiency virus type 1. *J. virol.* 68(8), 5142-5155.
- 228.** Morton W.R., Kuller L., Benveniste R.E., Clark E.A., Tsai C.C., Gale M.J., Thouless M.E., Overbaugh J., Katze M.G. (1989). Transmission of the simian immunodeficiency virus SIV_{mm} in macaques and baboons. *J. Med. Primatol.* 18, 237-245.
- 229.** Morton W.R., McClure J., Schmidt A., Kuller M., Gale M., and Hu S.L. (1990). *8th annual symposium on nonhuman primate models for AIDS. New Orleans, Louisiana, USA*
- 230.** Mosmann T.R. (1994). Cytokine patterns during the progression to AIDS. *Science* 265, 193-194.
- 231.** Muesing M.A., Smith D.M., Capon D.J. (1987). Regulation of mRNA accumulation by a human immunodeficiency virus trans-activator protein. *Cell* 48, 691-701.
- 232.** Müller J.G., Czub S., Marx A., Brinkmann R., Plesker R., Müller-Hermelink H.K. (1994). Detection of SIV in rhesus monkey thymus stroma cell cultures. *Res. Virol.* 145, 239-244.
- 233.** Müller M.C., Corbet S., Dias Tavares M., Herve V., Nerrienet E., Georges-Courbot M.-C., Saurin W., Sonigo P., Barré-Sinoussi F. (1995). *Meeting of the Laboratory of Tumor Cell Biology, Bethesda, Maryland, USA.*
- 234.** Muller M.C., Saksena N.K., Nerrienet E., Chappay C., Herve V.M., Durand J.P., Legal-Campodonico P., Lang M.C., Digoutte J.P., Georges A.J., and al. (1993). Simian immunodeficiency viruses from central and western Africa: evidence for a new species-specific lentivirus in tantalus monkeys. *J. Virol.* 67(3), 1227-1235.
- 235.** Munoz A., Wang M.C., Bass S., Taylor J.M., Kingsley L.A., Chmiel J.S., Polk B.F. (1989). Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS)-free time after human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) seroconversion in homosexual men. Multicenter AIDS Cohort Study Group. *Am. J. Epidemiol.* 130 (3), 530-539.
- 236.** Murphy-Corb M., Martin L.M., Rangan S.R.S., Baskin G.B., Gormus B.J., Wolf R.H., Andes W.A., West M., Montelaro R.C. (1986). Isolation of an HTLV-III related retrovirus from macaques with simian AIDS and its possible origin in asymptomatic mangabeys. *Nature* 321, 435-437.
- 237.** Murphy P.M. (1996). Chemokine receptors: structure, function and role in microbial pathogenesis. *Cytokine Growth Factor Rev.* 7, 47-64.
- 238.** Nkowane B.M. (1991). Prevalence and incidence of HIV infection in Africa: a review of data published in 1990. *AIDS* 5, 7-16.

- 239.** Norley S.G. (1996). SIVagm infection of its natural African green monkeys host. *Immunol. Let.* 51, 53-58.
- 240.** Norley S.G., Kraus G., Ennen J., Bonilla J., König H., Kurth R. (1990). Immunological studies of the basis for the apathogenicity of simian immunodeficiency virus from African green monkeys. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 9067-9071.
- 241.** Nowak M.A., May R.M., Phillips R.E., Rowland-Jones S., Lalloo D.G., McAdam S., Klenerman P., Koppe B., Sigmund K., Bangham C.R. and al. (1995). Antigenic oscillations and shifting immunodominance in HIV-1 infections. *Nature* 375, 606-611.
- 242.** Oberlin E., Amara A., Bachelier F., Bessia C., Virelizier J., Arenzana-Seisdedos F., Schwartz O., Heard J., Clark-Lewis I., Legler D., Loetscher M., Baggiolini M., Moser B. (1996). The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LSTR/fusin and prevents infection by T-cell line adapted HIV-1. *Nature* 382, 833-835.
- 243.** Ogg G.S., Xia J., Bonhoeffer S., Dunbar P.R., Nowak M.A., Monard S., Segal J.P., Cao Y., Rowland-Jones S., Cerundo V., Hurley A., Markowitz A., Ho D.D., Nixon D.F., McMichael A.J. (1998). Quantitation of HIV-1 specific Cytotoxic T lymphocytes and plasma load of viral RNA. *Science* 279, 2103-2106.
- 244.** Ohashi T., Arai M., Kato H., Kubo M., Fuji M., Yamamoto N., Iwamoto A., Kannagi M. (1998). High SDF-1 expression in HIV-1 carriers does not correlate with CD8+ T-cell mediated suppression of viral replication. *Virology* 244, 467-472.
- 245.** Ohkawa S., Wilson L.A., Larosa G., Javaherian K., Martin L.N., Murphey-Corb M. (1994). Immune response induced by prototype vaccines for AIDS in rhesus monkeys. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10, 27-38.
- 246.** Ohta Y., Masuda T., Tsujimoto H., Ishikawa K., Kodama T., Morikawa S., Nakai M., Honjo S., Hayami M. (1988). Isolation of SIV from African green monkeys and seroepidemiologic survey of the virus in various non-human primates. *Int. J. Cancer* 41, 115-122.
- 247.** Ostrowski M.A., Gu J.X., Kovacs C., Freedman J., Luscher M.A., MacDonald K.S. (2001). Quantitative and qualitative assessment of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) specific CD4+ T cell immunity to gag in HIV-1-infected individuals with differential disease progression: reciprocal interferon-gamma and interleukin-10 responses. *J. infect. Dis.* 184: 1268-1278.
- 248.** Pantaleo G., Demarest J.F., Schacker T., Vaccarezza M., Cohen O.J., Daucher M., Graziosi C., Schnittman S.S., Quinn T.C., Shaw G.M., Perrin L., Tambussi G., Lazzarin A., Sekaly R.P., Soudeyns H., Corey L., Fauci A.S. (1997). The qualitative nature of the primary immune response to HIV infection is a prognosticator of disease progression independent of the initial level of plasma viraemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 94, 254-258.
- 249.** Pantaleo G., Graziosi C., Demarest J.F., Butini L., Montroni M., Fox C.H., Orenstein J.M., Kotler D.P., Fauci A.S. (1993). HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature* 362, 355-358.
- 250.** Pantaleo G., Graziosi C., Demarest J.F., Cohen O.J., Vaccarezza M., Muro-Cacho C., Fauci A.S. (1994). Role of lymphoid organs in the pathogenesis of Human Immunodeficiency Virus (HIV) infection. *Immunol. Rev.* 140, 105-130.
- 251.** Pantaleo G., Graziosi C., Fauci A.S. (1993). The role of lymphoid organs in the pathogenesis of HIV infection. *Seminars Immunol* 5, 157-163.
- 252.** Papiernik M., Brossard Y., Mulliez N., Roume J., Bréchet C., Barin F., Goudeau A., Bach J.F., Griscelli C., Henricon R. (1992). Thymic abnormalities in fetuses aborted from human immunodeficiency virus type 1 seropositive women. *Pediatrics* 89, 297-301.
- 253.** Patterson B.K., Landay A., Anderson J., Brown C., Behbahani H., Jiyamapa D., Burki Z., Stanlaslawski D., Czerniewski M.A., Garcia P. (1998). Repertoire of chemokine receptor

- expression in the female genital tract: implications for human immunodeficiency virus transmission. *Am. J. Pathol.* 153, 481-490.
- 254.** Paul W. (1995). Can the immune response control HIV infection. *Cell* 82, 177-182.
- 255.** Peeters M., Honoré C., Huet T., Bedjabaga L., Ossari S., Bussi P., Cooper R.W., Delaporte E. (1989). Isolation and partial characterization of an HIV-1 related virus occurring naturally in chimpanzees in Gabon. *AIDS* 3, 625-630.
- 256.** Pellegrin I., Legrand E., Neau D., Bonot P., Masquelier B., Pellegrin J.L., Ragnaud J.M., Bernard N., Fleury H.J. (1996). Kinetics of appearance of neutralizing antibodies in 12 patients with primary or recent HIV-1 infection and relationship with plasma and cellular viral loads. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retroviral* 11(5), 438-447.
- 257.** Philips R.E., Rowland-Jones S., Nixon D.F., Gotch F.M., Edwards J.P., Ogunlesi A.O., Elvin J.G., Rothbard J.A., Bangham C.R., Rizza C.R., McMichael A. (1991). Human immunodeficiency virus genetic variation that can escape Cytotoxic T cell recognition. *Nature* 354, 453-459.
- 258.** Piatak J.M., Saag M.S., Yang L.C., Clark S.J., Kappes J.C., Luk K.C., Hahn B.H., Shaw G.M., Lifson J.D. (1993). High levels of HIV-1 in plasma during all stages of infection determined by competitive PCR. *Science* 259, 1749-1754.
- 259.** Pilgrim A. and al. (1997). Neutralizing antibody responses at various stages of infection with human immunodeficiency virus type 1. *J. Infect. Dis.*
- 260.** Plaeger-Marshall S., Spina C.A., Giordi J.V., Mitsuyasu R., Wolfe P., Gottlieb M., Beall G. (1987). Alterations in cytotoxic and phenotypic subsets of natural killer cells in AIDS. *J. Clin. Immunol.* 7, 16.
- 261.** Poli G., Vicenzi E., Ghezzi S., Lazzarin A. (1995). Cytokines in the acquired immunodeficiency syndrome and other infectious diseases. *Int. J. Clin. Lab Res.* 25, 128-134.
- 262.** Powell J.D., Bednarik D.P., Folks T.M., Jehuda-Cohen T., Villinger F., Sell K.W., Ansari A.A. (1993). Inhibition of cellular activation or retroviral replication by CD8⁺ T cells derived from non-human primates. *Clin. Exp. Immunol.* 91, 473-481.
- 263.** Powell J.D., McClure H.M., Anderson D., Fultz P.N., Sell K.W., Ahmed-Ansari A. (1989). Phenotypic and functional differences in NK and LAK cells in the peripheral blood of sooty mangabeys and rhesus macaques. *Cell Immunol.* 124, 107-118.
- 264.** Powell J.D., Yehuda-Cohen T., Villinger F., McClure H.M., Sell K.W., Ahmed-Ansari A. (1990). Inhibition of SIV/SMM replication in vitro by CD8⁺ cells from SIV/SMM infected seropositive clinically asymptomatic sooty mangabeys. *J. Med. Primatol.* 19(3-4), 239-249.
- 265.** Putkonen P., Warstedt K., Thorstensson R. and al. (1989). Experimental infection of cynomolgus monkeys (*Macaca fascicularis*) with simian immunodeficiency virus (SIVsm). *J. Acquir. Immune Defic. Syndr.* 2, 359-365.
- 266.** Racz P., Tenner-Racz K., Van Vloten F., Schmidt H., Dietrich M., Gluckman J.C., Letvin N.L., Janossy G. (1990). Lymphatic tissue changes in AIDS and other retrovirus infections: tools and insights. *Lymphology* 23(2), 85-91.
- 267.** Rappocciolo G., Allan J.S., Eichberg J.W., Chanh T.C. (1992). A comparative study of natural killer activity, lymphoproliferation and cell phenotypes in non human primates. *Vet. Pathol.* 29, 53-59.
- 268.** Reimann K.A., Tenner-Racz K., Racz P., Montefiori D.C., Yasutomi Y., Lin W., Ransil B.J., Letvin N.L. (1994). Immunopathogenic events in acute infection of rhesus monkeys with simian immunodeficiency virus macaques. *J. Virol.* 68, 2362-2370.
- 269.** Rey-Cuille M.A., Berthier J.L., Bomsel-Demontoy M.C., Chaduc Y., Montagnier L., Hovanessian A.G., Chakrabarti L.A. (1998). Simian immunodeficiency virus replicate to high levels in sooty mangabeys without inducing disease. *J. Virol.* 72(5), 3872-3886.

- 270.** Rimaniol A.C., Garcia G., Till S.J., Capel F., Gras G., Balabanian K., Emilie D., Humbert M. (2003). Evaluation of CD4⁺ T cells proliferating to grass pollen in seasonal allergic subjects by flow cytometry. *Clin Exp. Immunol* 132, 76-80.
- 271.** Rinaldo C., Huang X.L., Fan Z., Ding M., Beltz L., Logar A., Panicali D., Mazzara G., Liebmann J., Cottrill M., Gupta P. (1995). High levels of anti-human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) memory Cytotoxic T-lymphocyte activity and low viral load are associated with lack of disease in HIV-1-infected long-term nonprogressors. *J. Virol.* 69, 5838-5842. 625
- 272.** Ringler D.J., Wyand M.S., Walsh D.G., Mackey J.J., Chalifoux L.V., Popovic M., Minassian A.A., Sehgal P.K., Daniel M.D., Desrosiers R.C., King N.W. (1989). Cellular localization of simian immunodeficiency virus in lymphoid tissues. *Am. J. Pathol.* 134, 373-383.
- 273.** Riviere Y., McChesnay M.B., Porrot F., Tanneau-Salvadori F., Sansonetti P., Lopez O., Pialoux G., Feuillie V., Mollereau M., Chamaret S., Tekaia F., Montagnier L. (1995). Gag-specific Cytotoxic responses to HIV type 1 are associated with a decrease risk of progression to AIDS-Related Complex to AIDS. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 11, 903-907.
- 274.** Riviere Y., Tanneau-Salvadori F., Regnault A., Lopez O., Sansonetti P., Guy B., Kieny M.P., Fournel J.J., Montagnier L. (1989). Multiple Cytotoxic effector cells are induced by infection with the human immunodeficiency virus. *Res. Immunol.* 140, 110-115; discussion 121.
- 275.** Robinson J.W.R., Montefiori D.C., Mitchell W.M. (1990). Complement-mediated antibody-dependent enhancement of HIV-1 infection requires CD4 and complement receptors. *Virology* 175, 600-604.
- 276.** Romagnani S., Maggi E., Del Prete G. (1994). An alternative view of the Th1/Th2 switch hypothesis in HIV infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 10(5), 3-9.
- 277.** Rosenberg E.S., Billingsley J.M., Caliendo A.M., Boswell S.L., Sax P.E., Kalams S.A., Walker B.D. (1997). Vigorous HIV-1 specific CD4⁺ T cell responses associated with control of viremia, *Science* 278: 1447-1450.
- 278.** Rosenberg Z.F. and Fauci A. (1989). The immunopathogenesis of HIV infection. *Adv. Immunol.* 47, 377-429.
- 279.** Rosenzweig M., DeMaria M.A., Harper D.M., Friedrich S., Jain R.K., Johnson R.P. (1998). Increased rates of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocyte turnover in simian immunodeficiency virus-infected macaque. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 95, 6388-6393.
- 280.** Rowland-Jones S., Nixon D., Aldhous M., Gotch F., Ariyoshi K., Hallam N., Kroll J., Froebel K., Mc Michael A. (1993). HIV-specific Cytotoxic T-cell activity in an HIV-exposed but uninfected infant. *Lancet* 341, 860-861.
- 281.** Rowland-Jones S., Sutton J., Ariyoshi K., and al. (1995). HIV-1 specific Cytotoxic T cells in HIV-exposed but uninfected Gambian women. *Nature Medecine* 1, 59-64. 611
- 282.** Rubin H., Temin H.M. (1959). A radiological study of cell-virus interaction in the Rous Sarcoma. *Virology* 7, 75-91.
- 283.** Sadat-Sowti B., Debre P., Idziorek T., Guillon J.M., Hadida F., Okzenhendler E., Katlama C., Mayaud C., Autran B. (1991). A lectin-binding soluble factor released by CD8⁺CD57⁺ lymphocytes from AIDS patients inhibits T cell cytotoxicity. *Eur. J. Immunol.* 21, 737-741.
- 284.** Saragosti S., Ekwalinga M., Daza M.C., Mende M., Shamara K.B. (2001). *8th annual HIV dynamics and evolution meeting, Paris, France.*
- 285.** Savino W., Dardenne M., Marche C., Trophilme D., Dupuy J.M., Pekovic D., Lapointe N., Bach J.F. (1986). Thymic epithelium in AIDS. An immunohistologic study. *Amer. J. Pathol.* 122, 302-307.

- 286.** Scala E., and al. (1997). C-C chemokines, IL-6 and soluble antiviral factor activity factor activity are increased in cloned T cells from subjects with long-term non-progressive HIV infection. *J. Immunol.* 158, 4485-4492.
- 287.** Schenkel A.R., Uno H., Pauza C.D. (1999). Asymptomatic simian immunodeficiency virus infection decreases blood CD4⁺ T cells by accumulating recirculating lymphocytes in the lymphoid tissues. *J. Virol.* 73, 601-607.
- 288.** Schmitz J.E., Kuroda M.J., Santra S., Sasseville V.G., Simon M.A., Lifton M.A., Racz P., Tenner-Racz K., Dalesandro M., Scallon B.J., Ghayeb J., Forman M.A., Montefiori D.C., Rieber E.P., Letvin N.L., Reimann K.A. (1999). Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8⁺ lymphocytes. *Science* 283, 857-860.
- 289.** Schnittman S.M., Denning S.M., Greenhouse J.J., Justement J.S., Baseler M., Kurtzberg J., Haynes B.F., Fauci A.S. (1990). Evidence for susceptibility of intrathymic T-cell precursors and their progeny carrying T-cell antigen receptor phenotypes TCRab⁺ and TCRgd⁺ to human immunodeficiency virus infection: a mechanism for CD4⁺ (T4) lymphocyte depletion. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87, 7727-7731.
- 290.** Schnittman S.M., Singer K.H., Greenhouse J.J., Stanley S.K., Wichard L.P., Haynes B.F., Fauci A.S. (1991). Thymic microenvironment induces HIV expression: physiologic secretion of IL-6 by thymic epithelial cells up-regulates virus expression in chronically infected cells. *J. Immunol.* 147, 2553-2558.
- 291.** Schnittman S.M., Fauci A.S. (1994). Human immunodeficiency virus and acquired immunodeficiency syndrome: an update. *Adv. Intern. Med.* 39, 305-355.
- 292.** Schwartz S., Felber B.K., Pavlakis G.N. (1991). Expression of human immunodeficiency virus type 1 *vif* and *vpr* mRNAs is *rev*-dependent and regulated by splicing. *Virology* 183, 677-686.
- 293.** Shearer G.M. and Clerici M (1993). Abnormalities of immune regulation in human immunodeficiency virus infection. *Pediatr. Res.* 33 (1 suppl), S71-74, discussion S74-75.
- 294.** Shen L., Chen Z.W., Letvin N.L. (1994). The repertoire of cytotoxic T lymphocytes in the recognition of mutant simian immunodeficiency virus variants. *J. Immunol.* 153, 5849-5854.
- 295.** Sheppard H.W., Ascher M.S., McRae B., Anderson R.E., Lang W., P A.J. (1991). The initial immune response to HIV and immune system activation determine the outcome of HIV disease. *J. Acquired Immune Def. Syndr.* 4, 704-712. 290
- 296.** Shin H.D., Winkler C., Stephens J.C., Bream J., Young H., Goedert J.J., O'Brien T.R., Vlahov D., Buhbinder S., Giorgi J., Rinaldo C., Donfield S., Willoughby A., O'Brien S.J., and Smith M.W. (2000). Genetic restriction of HIV-1 pathogenesis to AIDS by promoter alleles of IL10. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 97 : 14467-14472.
- 297.** Siegel F., Kurth R., Norley S. (1995). Neither whole inactivated virus immunogen nor passive immunoglobulin transfer protects against SIVagm infection in the African green monkeys natural host. *J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol.* 8, 217-226.
- 298.** Sinclair E., Barbosa P., Feinberg M.B. (1997). The *nef* gene products of both simian and human immunodeficiency viruses enhance virus infectivity and are functionally interchangeable. *J. Virol.* 71, 3641-3651.
- 299.** Sinicco A., Palestro G., Caramello P., Giacobbi D., Giuliani G., Paggi G., Sciandra M., Gioannini P. (1990). Acute HIV-1 infection: clinical and biological study of 12 patients. *J Acquir. Immune Defic Syndr.* 3(3), 260-265.
- 300.** Soares M.A., Robertson D.L., Hui H., Allan J.S., Shaw G.M., Hahn B.H. (1997). A full-length and replication competent proviral clone of SIVagm from tantalus monkeys. *Virology* 228(2), 394-399.

- 301.** Sodroski J., Patarca R., Rosen C.A., Wong-Staal F., Haseltine W.A. (1985). Location of the trans-activating region on the genome of the human T-Cell lymphotropic virus type III. *Science* 229, 74-77.
- 302.** Soto-Ramirez L.E., Renjifo B., McLane M.F., Marlonk R., O'Hara C., Suthent R., Wasi C., Vithayasai P., Vithayasai V., Apichartpiyakul C., Auewarakyl P., Pena Cruz V., Chi D.S., Osathanondh R., Mayer K., Lee T.H., Essex M. (1996). HIV-1 Langherans' cell tropism associated with heterosexual transmission of HIV. *Science* 271, 1291-1293.
- 303.** Spiegel H., Berbst H., Niedobitek G., Foss H.D., Stein. (1992). Follicular dendritic cells are a major reservoir for human immunodeficiency virus type 1 in lymphoid tissues facilitating infection of CD4⁺ T-helper cells. *Am. J. Pathol.* 140, 15-22.
- 304.** Spira A., Marx P., Patterson B., Mahoney J., Koup R., Wolinsky S., Ho D. (1996). Cellular targets of infection and route of viral dissemination after an intravaginal inoculation of simian immunodeficiency virus into rhesus macaques. *J. Exp. Med.* 183, 215-225.
- 305.** Stahmer I., Zimmer J.P., Ernst M., Fenner T., Finnern R., Schmitz H., Flad H.D., Gerdes J. (1991). Isolation of normal human follicular dendritic cells and CD4-independent in vitro infection by human immunodeficiency virus (HIV-1). *Eur. J. Immunol.* 21, 1873-1878.
- 306.** Stanley S.K., McCune J.M., Kaneshima H., Justement J.S., Sullivan M., Boone E., Baserl M., Adelsberger M., Bonyhadi M., Orenstein J., Fox C., Fauci A.S. (1993). Human immunodeficiency virus infection in the human thymus and disruption of the thymic microenvironment in the SCID-hu mouse. *J. Exp. Med.* 178, 1151-1163.
- 307.** Stanley S.K., Kessler S.W., Justement J.S., Schnittmann S.M., Greenhouse J.J., C B.C., Musongela L., Musey K., Kapita B., Fauci A.S. (1992). CD34⁺ bone marrow cells are infected with HIV in a subset of seropositive individuals. *J. Immunol.* 149, 689-697.
- 308.** Starpans S.I., Dailey P.J., Rosenthal A., Horton C., Grant R.M., Lerche N., Feinberg M.B. (1999). Simian immunodeficiency virus disease course is predicted by the extent of virus replication during primary infection. *J. Virol.* 73, 4829-4839.
- 309.** Strebel K., Daugherty D., Clouse K., Cohen D., Folks T., Martin M.A. (1987). The HIV 'A' (sor) gene product is essential for virus infectivity. *Nature* 328, 728-730.
- 310.** Strebel K., Kilmkait T., Maldarelli F., Martin M.A. (1989). Molecular and biochemical analyses of human immunodeficiency virus type 1 vpu protein. *J. Virol.* 63, 3784-3791.
- 311.** Subbramanian R.A., Cohen E.A. (1994). Molecular biology of the human immunodeficiency virus accessory proteins. *J. Virol.* 68, 6831-6835.
- 312.** Ten Haaft P., Cornelissen M., Goudsmit J., Koornstra W., Dubbes R., Niphuis H., Peeters M., Thiriart C., Bruck C., Heeney J.L. (1995). Virus load in chimpanzees infected with human immunodeficiency virus type 1: effect of pre-exposure vaccination. *J. Gen. Virol.* 76, 1015-1020.
- 313.** Tenner-Racz K., Racz P., Dietrich M., Kern P. (1985). Altered follicular dendritic cells and virus-like particles in AIDS and AIDS related lymphadenopathy. *Lancet* i, 105-106.
- 314.** Tenner-Racz K., Racz P., Thomé C., Meyer C.G., Anderson P.J., Schlossman S.F., Letvin N. (1993). Cytotoxic effector cell granules recognized by the monoclonal antibody TIA-1 are present in CD8⁺ lymphocytes in lymph nodes of human immunodeficiency virus-1 infected patients. *Am. J. Pathol.* 142, 1750-1758.
- 315.** Tenner-Racz K., Stellbrink H.J., Van Lunzen J., Schneider C., Jacobs J.P., Raschdorff B., Großschupf G., Steinman R.M., Racz P. (1998). The unenlarged lymph nodes of HIV-infected asymptomatic patients with high CD4 T cell counts are sites for virus replication and CD4 T cell proliferation. The impact of highly active antiretroviral therapy. *J. Exp. Med.* 187, 949-959.
- 316.** Tenner-Racz K., Von Stemma M.R., Gülk B., Schmitz J., Racz P. (1994). Are follicular dendritic cells, macrophages and interdigitating cells of the lymphoid tissue productively infected by HIV. *Res. Virol.* 145, 177-182.

- 317.** Tersmette M., De Goede R., Winkel I., Gruters R., Guypers H., Huisman J., Miedema F. (1988). Differential syncytium-inducing capacity of human immunodeficiency virus isolates: frequent detection of syncytium-inducing isolates in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related. *J. Virol.* 62, 2026-2032.
- 318.** Than S., Hu R., Oyaizu N., Romano J., Wang S., Sheikh S., and Pahwa W. (1997). Cytokine pattern in relation to disease progression in human immunodeficiency virus-infected children. *J. Infect. Dis.* 175: 47-56.
- 319.** Tindall B., Barker S., Donovan B., Barnes T., Roberts J., Kronenberg C., Gold J., Penny R., Cooper D. (1988). Characterization of the acute clinical illness associated with human immunodeficiency virus infection. *Arch Intern Med* 148, 945-949.
- 320.** Tsubota H., Ringler D.J., Kannagi M., King N.W., Solomon K.R., Mackey J.J., Walsh D.G., Letvin N.L. (1989). CD8⁺CD4⁻ lymphocyte lines can harbor the AIDS virus *in vitro*. *J. Immunol.* 143, 858-863.
- 321.** Tsujimoto H., Cooper R.W., Kodama T., Fukasawa M., Miura T., Ohta Y., Ishikawa K.I., Nakai M., Frost E., Roelants G.E., Roffi J., Hayami M. (1988). Isolation and characterisation of simian immunodeficiency virus from mandrills in Africa and its relationship to other human and simian immunodeficiency viruses. *J. Virol.* 62, 4044-4050.
- 322.** Tsujimoto H., Hasegawa A., Maki N., Fukasawa M., Miura T., Speidel S., Cooper R.W., Moriyama E.N., Gojobori T., Hayami M. (1989). Sequence of a novel simian immunodeficiency virus from a wild caught mandrill in Africa. *Nature* 341, 539-541.
- 323.** Tyler D.S., Lysterly H.K., Weinhold K.J. (1989). Anti-HIV-1 ADCC. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 5, 557.
- 324.** Valentin H., Nugeyre M.T., Vuillier F., Boumsell L., Schmid M., Barré-Sinoussi F., Pereira R.A. (1994). Two subpopulation of human triple-negative thymic cells are susceptible to infection by human immunodeficiency virus type 1 *in vitro*. *J. Virol.* 68, 3041-3050.
- 325.** Vanhems E.A (1996). *11e CIS, Vancouver.*
- 326.** Veazey R.S., DeMaria M., Chalifoux L.V., Shvetz D.E., Pauley D.R., Knight H.L., Rosenzweig M., Johnson R.P., Desrosiers R.C., Lackner A.A. (1998). Gastrointestinal tract as a major site of CD4⁺ T cell depletion and viral replication in SIV infection. *Science* 280 (5362), 427-431.
- 327.** Von Herrath M., Oldstone M.B., Fox H.S. (1995). Simian immunodeficiency virus (SIV) specific CTL in cerebrospinal fluid and brains of SIV-infected rhesus macaques. *J. Immunol.* 154, 5582-5589.
- 328.** Vowels B.R., Gershwin M.E., Gardner M.B., McGraw T.P. (1990). Natural killer cell activity of rhesus macaques against retrovirus-pulsed CD4⁺ target cells. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 6, 905-918.
- 329.** Vuillier F., Bianco N.E., Montagnier L., Diegheiro G. (1989). Selective depletion of low density CD8⁺/CD16⁺ lymphocytes during HIV-infection. *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 4, 121.
- 330.** Wain-Hobson S., Sonigo P., Danos O., Cole S., Alizon M. (1985). Nucleotide sequence of the AIDS virus LAV. *Cell* 40, 9-17.
- 331.** Wakrim L., Nicol I., LeGrand R., Boussin F., Vaslin B., Roques P., Dormont D. (1994). Adaptation of human immunodeficiency virus type 2 (HIV-2) primary isolates to the *in vivo* replication in macaque. *J. Med. Primatol.* 23, 244.
- 332.** Walker B.D., Chakrabarti S., Moss B., Paradis T.J., Flynn T., Durno A.G., Blumberg R.S., Kaplan J., Hirsch M.S., Schooley R.T. (1987). HIV-specific T lymphocytes in seropositive individuals. *Nature* 328, 345-348.
- 333.** Walker C.M., Erickson A.L., Hsueh F.C., Levy J.A. (1991). Inhibition of human immunodeficiency virus replication in acutely infected CD4⁺ cells by CD8⁺ cells involves a noncytotoxic mechanism. *J. Virol.* 65, 5921-5927.

- 334.** Walker C.M., Moody D.J., Stites D.P., Levy J.A. (1986). CD8⁺ lymphocytes can control HIV infection in vitro by suppressing virus replication. *Science* 234, 1563-1566.
- 335.** Walker C.M., Levy J.A. (1989). A diffusible lymphokine produced by CD8⁺ T lymphocytes suppresses HIV replication. *Immunology* 66, 628-630.
- 336.** Ward J.M., O'Leary T.J., Baskin G.B., Benveniste R., Harris C.A., Nara P.L., Rhodes R.H. (1987). Immunohistochemical localization of human and simian immunodeficiency viral antigens in fixed tissue section. *Am. J. Pathol.* 127, 199-205.
- 337.** Wei W., Ghosh S.K., Taylor M.E., Johnson V.A., Emini E.A., Deutsch P., Lifson J.D., Bonhoeffer S., Nowak M.A., Hahn B.H., Saag M.S., Shaw G.M. (1995). Viral dynamics in human immunodeficiency virus type 1 infection. *Nature* 379, 117.
- 338.** Weinhold K.J., Lyerly H.K., Stanley S.D., Austin A.A., Matthews T.J., Bolognesi D.P. (1989). HIV-1 gp120 mediated immune suppression and lymphocyte destruction in the absence of viral infection. *J. Immunol.* 142, 3091-3097.
- 339.** Weiss L., Donkova-Petrini V., Caccavelli L., Carbonneil L., and levy Y. (2003). Expansion of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells which suppress HIV-specific CD4 T cell responses in HIV-infected patients. 2nd IAS, oral presentation. Paris: 2003
- 340.** Weissman D., Rabin R.L., Rubbert A., Dybul M., Swofford R., Venkatesan S., Farber J.M., Fauci A.S. (1997). Macrophage-tropic HIV and SIV envelope proteins induce a signal through the CCR5 chemokine receptor. *Nature* 389, 981-984.
- 341.** Werner A., Winskowsky G., Kurth R. (1990). Soluble CD4 enhances simian immunodeficiency virus SIVagm infection. *J. Virol.* 64, 6252-6256.
- 342.** WHO (1995). AIDS 4, Global Data. *Weekly Epidemiol. Rec.* 70, 5-12.
- 343.** Willey R.L., Maldarelli F., Maartin M.A., Strebel K. (1992). Human immunodeficiency virus type 1 vpu protein induces rapid degradation of CD4. *J. Virol.* 66, 7193-7200.
- 344.** Wolinsky S.M., Korber B.T.M., Neumann A.U., Daniels M., Kunstman K.J., Whetsell A.J., Furtado M.R., Cao Y., Ho D.D., Safrit J.T., Koup R.A. (1996). Adaptive evolution of human immunodeficiency virus type 1 during the natural course of infection. *Science* 272, 537-542.
- 345.** Wood G.S., Garcia C.F., Dorfman L.F., Warnke R.A. (1985). The immunohistology of follicle lysis in lymph nodes from homosexual men. *Blood* 66, 1092-1097.
- 346.** Wyand M.S., Ringler D.J., Naidu Y.M., Mattmuller M., Chalifoux L.V., Sehgal P.K., Daniel M.D., Desrosiers R.C., King N.W. (1989). Cellular localization of simian immunodeficiency virus in lymphoid tissues. *In Situ hybridisation. Am. J. Pathol.* 134, 385-393.
- 347.** Xu C., Politch J.A., Tucker L., Mayer K.H., Seage G.R., Anderson D.J. (1997). Factors associated with increased levels of human immunodeficiency type 1 DNA in simian. *J. Infect. Dis.* 176, 941-947.
- 348.** Yamamoto H., Hirayama M., Genya C., Kaplan J. (1994). TGF beta mediates natural suppressor activity of IL-2 activated lymphocytes. *J. Immunol.*, 3842-3847
- 349.** Yang O.O. and al. (1997). Suppression of human immunodeficiency virus type 1 replication by CD8⁺ cells: evidence for HLA class I-restricted triggering of cytolytic and noncytolytic mechanisms. *J. Virol.* 71, 3120-3128.
- 350.** Yao X.J., Garzon S., Boisvert F., Haseltine W.A., Cohen E.A. (1993). The effect of vpu on HIV-1 induced syncytia formation. *J. Acquired Immune Defic. Syndr.* 6, 135-141.
- 351.** Yasutomi Y., Reinmann K., Lord C., Miller M., Letvin N. (1993). Simian immunodeficiency virus specific CD8⁺ lymphocyte response in acutely infected rhesus monkeys. *J. Virol.* 67, 1707-1711.
- 352.** Zaitseva M., Blauvelt A., Lee S., Lapham C.K., Klaus-Kovtun V., Mostowski H., Manischewitz J., Golding H. (1997). Expression and function of CCR5 and CXCR4 on

- human Langerhans cells and macrophages: implications for HIV primary infection. *Nat. Med.* 3, 1369-1375.
- 353.** Zhang J., Martin L.N., Warson E.A., Montelaro R.C., West M., Epstein L., Murphy-Corb M. (1988). Simian immunodeficiency virus / Delta-induced immunodeficiency disease in rhesus monkeys: relation of antibody response and antigenémie. *J. Infect. Dis.* 158, 1277-1286.
- 354.** Zhang Y.J., Putkonen P., Albert J., Öhman P., Biberfeld G., Fenyö E.M. (1994). Stable biological and antigenic characteristics of HIV-1 SBL6669 in nonpathogenic infection of macaques. *Virology* 200, 583-589.
- 355.** Zhang Z.Q., Notermans D.W., Sedgewick G., Cavert W., Wietgreffe S., Zupancic M., Gebhard K., Henry K., Boies L., Chen Z., Jenkins M., Mills R., McDade H., Goodwin C., Schuwirth C.M., Danner S.A., Haase A.T. (1998). Kinetics of CD4⁺ T cell repopulation after treatment of HIV-1 infection. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 95, 1154-1159.
- 356.** Zhu T., Mo H., Wang N., Nam D.S., Cao Y., Koup R.A., Ho D.D. (1993). Genotypic and phenotypic characterization of HIV-1 in patients with primary infection. *Science* 261, 1179-1181.
- 357.** Zinkernagel R.M. (1995). Are HIV-specific CTL responses salutary or pathogenic. *Curr. Opin. Immunol.* 7, 462-470.