

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT
SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE**

REPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple-Un But Une Foi



Année : 2012- 2013

N°/

Faculté de Pharmacie

TITRE :

**Echecs virologiques chez les enfants infectés
par le VIH-1 et sous traitement ARV au CHU-
Gabriel Touré**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 2013

Devant la Faculté de Pharmacie

Par : M Moussa SANOGO

Pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie (Diplôme d'Etat)

JURY

Président : Professeur Flabou BOUGOUDOGO
Membre : Docteur Fatoumata Dicko TRAORE
Docteur Samba A. SANGARE
Docteur Moussa SANOGO
Co-directeur : Docteur Almoustapha Issiaka MAIGA
Directeur de thèse : Professeur Souleymane DIALLO II

REMERCIEMENTS

A Allah et son prophète Mohamed (PSL)

Je rends grâce à Dieu (loué soit-Il), et à son messager Mohamed (paix et salut de Dieu sur lui) de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail qui me tenait tant à cœur.

A tout le corps professoral de la FMOS et la FP: ce travail est avant tout le vôtre.

Au Dr Almoustapha I Maïga

A mes frères et sœurs.

A mes amis Djibril Ba et François Kamaté.

A mes camarades du CHU- Gabriel Touré, Alpha Diallo, Sounkarou Traore et Seydou Doumbia.

A mes aînés du CHU- Gabriel Touré Dr Namory Camara, Dr Allaye Traoré et Dr Hamadoun Maïga

Au Dr Samba Sanogo

A mes beaux-frères et belles-sœurs.

A mes cousins et cousines

A l'AEP, la FESPAO et L'AEI

A tout le personnel du laboratoire d'analyse biomédical du CHU- Gabriel Touré.

A tous mes camarades de la promotion "**Pr. Souleymane Diallo**".

A toutes les personnes vivant avec le VIH

A tous ceux dont j'ai omis le nom ici

Je vous remercie pour votre soutien et vos conseils.

DEDICACES

A mon père : YAYA SANOGO

Ce travail est le fruit de tes encouragements et soutiens. Tu m'as toujours guidé dans le bon sens.

A toi, tous mes remerciements.

A ma mère : DOUMBIA MASSANDJE

Ce travail est le couronnement de tes souffrances, de ta patience. Nous avons bénéficiées auprès de toi toute la tendresse qu'une mère doit à ses enfants. Ton soutien moral et maternel ne nous a jamais fait défaut. Puisse ce travail être pour toi non seulement une fierté mais aussi le témoignage de notre profond attachement. Que Dieu le tout puissant t'accorde une longue vie et te préserve à nos côtés.

A ma grande sœur: KADIDIATOU SANOGO

Les mots me manquent pour exprimer toute ma reconnaissance. Ton soutien et tes conseils ont été déterminants dans ma vie. Tu es plus qu'une sœur pour moi. Ton attention à mon égard et ton souci permanent pour ma réussite ne me sont jamais passés inaperçus. Je te serai toujours reconnaissant.

A mes frères et sœurs SANOGO

Je vous porte dans mon cœur, que Dieu vous donne santé et longévité. Ce travail est pleinement le vôtre.

A monsieur et madame SOGODOGO

Les mots me manquent pour exprimer toute ma reconnaissance. Trouvez ici l'expression de mes sincères remerciements.

Hommages aux membres du jury

A notre Maître et Président du jury

Pr FLABOU BOUGOUDOGO,

- **Maître de conférences Agrégé de Bactériologie et Virologie à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Responsable de l'enseignement de la bactériologie et de la virologie à la Faculté de Pharmacie.**

Cher Maître, vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations.

Votre dynamisme, votre sens du travail parfait, vos qualités humaines et surtout votre très grande culture scientifique ont forcé notre admiration. Nous espérons avoir fait honneur à vos qualités incontestables de Maître. Nous sommes honorés d'être compté parmi vos élèves. Trouvez dans ce travail toute notre reconnaissance et notre fidèle attachement. Que Dieu tout puissant veille sur vous cher Maître. Amen.

A notre maître et juge

Dr FATOUMATA DICKO Traoré,

- **Maître-assistant de pédiatrie à la FMOS ;**
- **Responsable de l'unité de néonatalogie dans le département de pédiatrie du CHU-Gabriel Touré ;**
- **Responsable de l'unité PTME au centre d'excellence pour la prise en charge pédiatrique du VIH du CHU-Gabriel Touré.**

Cher maître

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

Nous avons été comblés par votre accueil et votre disponibilité dès notre première rencontre. Nous gardons de vous l'image d'une femme de science remplie d'esprit de recherche.

Recevez ici cher maître l'expression de notre profonde considération.

A Notre Maître et codirecteur de thèse

Dr ALMOUSTAPHA ISSIAKA MAIGA

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

Cher Maître,

Les mots ne peuvent pas exprimer avec exactitude notre profonde admiration et notre profond respect. Vous nous avez suivi et guidé pas à pas dans l'élaboration de ce travail. Votre rigueur dans le travail, votre dévouement sans limite et votre générosité sont des qualités que nous nous efforcerons d'approcher. Nous sommes aujourd'hui comblés d'une immense joie de vous connaître et d'être votre éternel disciple.

Nous vous remercions, cher Maître, pour la patience dont vous avez eu à notre égard durant toute notre formation.

Recevez ici notre gratitude et notre attachement total.

Que Dieu vous protège. Amen.

A notre Maître et juge

Dr MOUSSA SANOGO,

- **Pharmacien et PhD en santé publique ;**
- **DES en Gestion Hospitalière ;**
- **DGA du CHU-GT.**

Cher maître, nous avons été très impressionné par la simplicité avec laquelle vous avez accepté de juger ce travail. votre rigueur pour le travail bien fait, votre disponibilité et votre souci pour la formation de vos élèves font de vous un maître exemplaire. Vos critiques et suggestions ont contribué à l'améliorer la qualité de ce travail.

Trouvez, cher maître, l'expression de notre profonde gratitude et sincère respect.

A notre Maître et directeur de thèse

Pr SOULEYMANE DIALLO II,

- **Colonel major des forces armées Maliennes ;**
- **Pharmacien biologiste des services de santé des armées ;**
- **Maître de conférences en bactériologie et virologie à la Faculté de Pharmacie ;**
- **Coordinateur du projet hygiène des mains et sécurité des patients au CHU Gabriel TOURE ;**
- **Directeur général du centre d'infectiologie Charles Mérieux.**

Ce travail est sans doute le fruit de vos efforts. Votre rigueur scientifique, votre esprit d'ouverture et votre amour pour le travail bien fait font de vous un exemple à suivre. Soyez rassuré que vos nombreux conseils et enseignements n'auront pas été vains et que nous sommes très fiers d'être compté parmi vos élèves. Nous garderons de vous l'image d'un homme de science d'une extrême ténacité et d'un enseignant soucieux de la formation de ses élèves.

En espérant que cet humble travail saura combler votre attente, veuillez recevoir cher maître, l'expression de notre profonde reconnaissance.

**A notre maître et juge
DR SAMBA ADAMA SANGARE**

- **Assistant en bactériologie et virologie à la Faculté de Pharmacie.**

Cher Maître,

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

Nous avons été touchés par votre simplicité et vos qualités intellectuelles qui font de vous un bon maître. Recevez ici l'expression de nos vifs remerciements et notre profond respect.

Liste des figures et tableaux

La liste des figures

- **Figure 1** : Structure du VIH.....15
- **Figure 2** : Cycle de multiplication du VIH.....17
- **Figure 3** : Répartition des patients selon l'âge.....69
- **Figure 4** : Répartition des patients selon le Sexe.....70
- **Figure 5** : Répartition des patients selon la résidence.....71

La liste des tableaux

- **Tableau 1** : Répartition des patients en fonction du traitement ARV..... 72
- **Tableau 2** : Répartition des patients en fonction de l'observance au traitement ARV.....73
- **Tableau 3** : Croisement entre le niveau de CD4 et l'observance au traitement ARV à 6 mois.....74
- **Tableau 4** : Croisement entre le niveau de CD4 et l'observance au traitement ARV à 12 mois.....75
- **Tableau 5** : Croisement entre le niveau de CD4 et l'observance au traitement ARV à 24 mois.....76
- **Tableau 6** : Croisement entre le niveau de la charge virale et l'observance au traitement ARV à 6 mois.....77
- **Tableau 7** : Croisement entre le niveau de la charge virale et l'observance au traitement ARV à 12 mois.....78
- **Tableau 8** : Croisement entre le niveau de la charge virale et l'observance au traitement ARV à 24 mois.....79
- **Tableau 9** : Croisement entre l'observance et le schéma thérapeutique.....80

Liste des abréviations

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

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

Table des matières

REMERCIEMENTS	1
DEDICACES.....	3
Hommages AUX Membres DU JURY.....	4
Liste des figures et tableaux.....	10
Liste des abréviations	12
1. INTRODUCTION :	16
2. OBJECTIFS	18
2.1. OBJECTIF GENERAL :	18
2.2. OBJECTIFS SPECIFIQUE :	18
3. GENERALITE	19
3.1. HISTORIQUE.....	19
3.2. CARACTERES DU VIRUS :	24
3.2.1. Structure physico-chimique	24
3.2.2. Cycle de multiplication	25
3.2.3. Cellules cibles et Réservoir viral	27
3.3. POUVOIR PATHOGENE	28
3.3.1. Infection humaine	28
3.3.2. Pouvoir pathogène expérimental.....	33
3.4. EPIDEMIOLOGIE.....	33
3.4.1. Caractère pandémique.....	33
3.4.2. Diversité génétique du VIH à travers le monde	34
3.4.3. Mode de Transmission	35
3.5. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE.....	37
3.5.1. Dépistage et confirmation.....	37
3.5.2. Recherche d'une antigénémie.....	40
3.5.3. Isolement du virus	40
3.5.4. Diagnostic moléculaire	40
3.5.5. Diagnostic virologique de l'infection à VIH chez le nouveau-né et le nourrisson.....	41
3.6. TRAITEMENT DES PERSONNES INFECTEES PAR LE VIH.....	42
3.6.1. Objectifs du traitement antirétroviral.....	42
3.6.2. Quand débiter un traitement ARV :(selon les recommandations 2013 de OMS) [30]	42
3.6.3. Le choix des molécules.....	44
3.7. La résistance aux Antirétroviraux.....	47

3.7.1. Définition	47
3.7.2. Mécanisme d'apparition des mutations de résistance	47
3.7.3. Mécanisme de la résistance aux antirétroviraux	48
3.8. Echec thérapeutique	55
3.8.1. Echec clinique	55
3.8.2. Echec immunologique	55
3.9. Observance (selon Mémento Thérapeutique du VIH/SIDA en Afrique. 2009 : 2 ^{ème} Edition p41)..	57
3.9.1 Définition	57
3.9.2 Mesure de l'observance	57
4. METHODOLOGIE.....	58
4.1. Lieu et cadre de l'étude	58
4.2. Type et durée de l'étude	58
4.3. Population d'étude.....	58
4.4. Critères d'inclusion	58
4.5. Critères de non inclusion.....	58
4.6. Techniques utilisées	59
4.6.1. Technique Abbott HIV-1 RealTimeTM.....	59
4.7. Collecte des données.....	77
4.8. Supports des données	77
4.9. Analyses des données	77
4.10. Aspects éthiques	77
5. RESULTATS.....	78
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION	90
7. CONCLUSION	99
8. RECOMMANDATIONS.....	100
9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	101
FICHE SIGNALÉTIQUE.....	108

1. INTRODUCTION :

Les virus de l'Immunodéficience Humaine appartiennent à la famille des *Retroviridae*, définie principalement par son mode de réplication: le génome, constitué d'ARN, est transcrit en ADN grâce à la transcriptase inverse (TI) d'origine virale [1]. En Effet, en 1983 Montagnier. L, Chermann. J et Barré. S du département de rétrovirologie de l'Institut Pasteur de Paris ont isolé le VIH-1. Barin et al, ont montré qu'un rétrovirus humain apparenté au VIH-1 circulait en Afrique de l'Ouest [2]. Il s'agissait du VIH-2 qui n'a pas connu un développement mondial même si des cas sporadiques ont été signalés de par le monde. Les modes de transmission de ces 2 types de VIH sont semblables, cependant, le VIH-2 est cinq fois moins transmissible que le VIH-1 ceci, lorsque le transmetteur est asymptomatique [3].

L'infection à VIH est un problème de santé publique d'envergure mondiale. Depuis la description des premiers cas en 1983, l'infection à VIH est devenue une véritable pandémie. Le nombre de personne vivant avec le VIH à la fin 2012 était estimé à 34 millions de personnes. Selon les estimations 0,8% des adultes âgés de 15 et 49 ans dans le monde entier vit avec le VIH bien que les circonstances de l'épidémie qui pèsent sur les pays et les régions continuent de varier considérablement [3]. L'Afrique subsaharienne reste l'une des régions les plus gravement touchées avec près d'un adulte sur 20 (4,9%) vivant avec le VIH, ce qui représente 69% des personnes vivant avec le VIH dans le monde.

A l'échelle mondiale, le nombre de nouvelles infections continue de diminuer : le nombre de personnes infectées par le VIH en 2012 était de 20% inférieur à celui de 2001. Le nombre de décès liés au Sida en Afrique subsaharienne a diminué de 32% de 2005 à 2011, ceci, malgré le fait que

la région représentait 70% du nombre total des décès dus au Sida en 2011 [4].

A l'instar des autres pays du monde, le Mali est aussi confronté à la problématique de l'infection à VIH. La prévalence nationale est estimée à 1,1% selon l'enquête démographique et de santé V (EDS-V) et le pourcentage de jeunes femmes et hommes âgés de 15 à 24 ans infecté par le VIH est de 2,2% [4]. Selon les résultats de la surveillance sentinelle 2009, les prévalences les plus élevées ont été observées aux CSref de Koulikoro (5%), de Koutiala (4,3%), de la commune III de Bamako (4,1%), de la commune I de Bamako (4,0%). La plus faible prévalence a été observée au CSref de Kidal (0,7%). [5]

Au plan thérapeutique, l'avènement des ARV a suscité un réel espoir pour les personnes vivantes avec le VIH. L'objectif du traitement antirétroviral est de réduire considérablement la morbidité et la mortalité liées au Sida en ralentissant la réplication du VIH de façon à baisser la charge virale plasmatique en dessous des seuils de détection des automates d'analyse (< 40 copies/ml) [6]. C'est un traitement à vie qui nécessite une excellente observance de la part des patients. Le traitement antirétroviral est une trithérapie associant généralement deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse à un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse ou un inhibiteur de la protéase. Il arrive souvent que le traitement ARV échoue du fait de l'inobservance des patients.

Notre travail, qui fait suite à l'installation d'un automate de charge viral au laboratoire du CHU- Gabriel Touré, se propose de déterminer les causes des échecs virologiques, d'en dégager les solutions afin de mieux gérer les cas pour une meilleure prise en charge des enfants infectés par le VIH au CHU-GT. Pour mener à bien notre étude nous nous sommes fixés plusieurs objectifs.

2. OBJECTIFS

2.1. OBJECTIF GENERAL :

Etude des échecs virologiques chez les enfants sous ARV au CHU Gabriel Touré.

2.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES :

- Décrire le profil sociodémographique des enfants suivis au CHU- Gabriel Touré.
- Identifier les schémas thérapeutiques utilisés dans le traitement ARV chez les enfants.
- Déterminer le profil immunologique des patients.
- Déterminer le profil virologique des patients.

3. GENERALITE

3.1. HISTORIQUE

A l'heure actuelle, les origines du VIH restent encore obscures. La transmission à l'homme d'un Simian Immunodeficiency Virus (SIV) au début du XXème siècle serait à l'origine du VIH. En effet, des virus apparentés au VIH, appelés SIV, ont été détectés chez plus de trente espèces de singes en Afrique (singes verts, mangabés, mandrills, babouins, chimpanzés, gorilles... [7]).

- **Les premières traces médicales du VIH/SIDA :**

C'est le 5 juin 1981 qu'apparaît la première trace médicale du Sida. Cinq cas graves de pneumocystose sont rapportés par le CDC («*Center for Disease Control and prevention*») d'Atlanta dans l'article du "*Mortality and Morbidity Weekly Report*" intitulé : «*Pneumocystis Pneumonia-Los Angeles*». Cet article décrit cinq cas rares de pneumonie à *Pneumocystis jiroveci* d'octobre 1980 à mai 1981 dans trois hôpitaux de Los Angeles. Les cinq patients sont jeunes, homosexuels et souffrent aussi de candidoses. Ces cas de pneumocystose sont extrêmement rares et ne touchent habituellement que des personnes immunodéprimées suite à une chimiothérapie [8]. Le 4 juillet 1981, un nouvel article est publié dans le "*Mortality and Morbidity Weekly Report*" : «*Kaposi sarcome and pneumocystis among homosexual men*» à propos de 26 cas de cancer de kaposi (une forme de cancer rare rencontré habituellement chez des sujets âgés) diagnostiqués chez des jeunes homosexuels [8].

Dès juillet 1981, des articles paraissent sur le : « cancer gay » et mentionnent la multiplicité des rapports sexuels comme facteur de risque.

A ce moment, le poppers (drogue très en vogue dans la communauté "gay") est évoqué comme cause de cette nouvelle affection [8].

Au début de l'année 1982, des cas semblables sont décrits dans d'autres pays du monde et le "*New England Journal of Médecine*" mentionne 159 cas dont des hétérosexuels et des usagers de drogues.

L'hypothèse avancée pour expliquer la cause de cette maladie est l'épuisement immunitaire et on suppose alors que cette immunosuppression est due à l'association d'une infection virale et de drogues [8]. Une nouvelle maladie liée à un déficit de l'immunité est soupçonnée. Cette affection nouvelle est identifiée par son premier acronyme : «Gay-Related Immune Disorder» (GRID).

En avril 1982, il a été signalé le premier cas d'hémophile affecté par cette maladie. En mai, le CDC renomme le GRID : «Acquired Immuno Deficiency Syndrome» (AIDS), nouveau nom, plus neutre, qui ne porte pas la qualification «gay» [8].

En 1982, les médecins sont confrontés à des cas similaires au sein des Communautés haïtiennes, chez des hémophiles et des transfusés, chez des toxicomanes utilisateurs de drogues par voie injectable, et chez un nouveau-né transfusé [8].

Un épidémiologiste américain mentionne alors cette maladie comme « la maladie des 4 H » pour caractériser les 4 communautés à risque de cette affection : les homosexuels, les héroïnomanes, les haïtiens et les hémophiles [8]. Dès la fin de 1982, on constate des cas de transmission materno-foetale et néonatale [8].

Ces nouveaux cas, et l'identification dans certaines situations d'un patient responsable d'une contamination, ont permis de confirmer l'origine infectieuse de la maladie et de préciser ses modes de transmission (le sang et les relations sexuelles) [9].

En 1983, des cas de Sida sont répertoriés dans 33 pays. La plupart des cas se situent aux Etats-Unis et en Europe mais le problème du Sida africain apparait avec les premiers cas identifiés de malades zaïrois [10].

- **1983-1986 : une recherche scientifique dynamique :**

En 1983, Montagnier L, Chermann J et Barre S de l'Institut Pasteur de Paris isolent une particule virale dans les lymphocytes ganglionnaires d'un patient homosexuel présentant des adénopathies persistantes généralisées. Ils baptisent le virus : "Lymphadenopathy Associated Virus" (LAV) [8].

Cette même année, une étude sur des sérums provenant de patients américains et français entreprise en collaboration entre le CDC d'Atlanta et l'Institut Pasteur a permis de renforcer l'hypothèse du lien entre le virus et le Sida en montrant la présence d'anticorps chez les malades [11]. En 1984, le Professeur Gallo et son équipe du "*National Cancer Institute*" de Bethesda parviennent à isoler le virus qu'ils nomment "Human T-cell Lymphotropic Virus" Type III (HTLV III) [12]. Une polémique débute alors sur la paternité de la découverte du virus par les américains ou les français. Un terme sera mis à cette polémique par le séquençage des deux virus, prouvant que tous deux sont issus d'une seule et même souche et que les deux appellations désignent donc le même virus. En 2008, Luc Montagnier et Françoise Barre-Sinoussi obtiendront, le prix Nobel de médecine pour leur découverte du VIH clôturant définitivement cette polémique sur la paternité de la découverte du virus.

En 1985, la commercialisation d'un test de dépistage du VIH commence. Ce test permet de détecter dans le sang les anticorps anti-VIH produits par l'organisme. En France, à partir d'août 1985, il est mis en place un dépistage systématique lors des dons de sang [13].

En 1986, la communauté scientifique renomme le virus *VIH* ou "*Human*

Immunodeficiency Virus" (HIV) en désignation anglaise [12].

Un second VIH est isolé chez des sujets originaires d'Afrique de l'ouest en 1986. Il fut appelé VIH-2 et le premier découvert est alors appelé le VIH-1 [12]. En octobre 1987, l'assemblée générale des nations unies vote une résolution appelant les nations à soutenir la stratégie de prévention du Sida définie par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) [9].

- **1987-2010 : Un arsenal thérapeutique et des campagnes de prévention**

En 1987, la zidovudine est mise sur le marché en France et aux Etats-Unis. Au cours de cette année, près de 1000 personnes vont mourir du Sida en France et les projections sont alarmantes. Ceci explique les stratégies de prévention du Sida mises en place cette année là.

En France, la publicité sur les préservatifs est enfin autorisée, la vente libre de seringue et d'aiguille est autorisée dans les pharmacies, et les premiers dépistages anonymes et gratuits sont organisés par Médecin du Monde [8].

De 1990 à 1995, c'est la période des bithérapies. En effet, de nouvelles molécules antirétrovirales (la zalcitabine, la didanosine) sont mises à disposition et on se rend compte que l'efficacité des monothérapies successives est très vite limitée par le développement de résistances du virus à ces molécules [14].

L'évaluation des bithérapies montre qu'elles ont une efficacité supérieure aux monothérapies (du moins transitoirement) et on assiste à l'amorce d'une réduction de la mortalité [14].

En 1995, en France, des campagnes de distributions gratuites de seringues et d'aiguilles sont mises en place. On commence également une politique de substitution des drogues avec la mise sur le marché de la méthadone, la même année. Ces mesures visent à réduire le nombre

des contaminations chez les usagers de drogues par voie intraveineuse (IV) [8].

A partir de 1996, c'est l'ère des trithérapies, une révolution hautement capitale dans l'histoire de la maladie. En effet, une nouvelle classe d'antirétroviraux fait son apparition : les inhibiteurs de protéase (IP). Les trithérapies sont des associations de 3 molécules, généralement de 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) et d'un IP. Ces trithérapies limitent durablement la réplication du virus et permettent un rétablissement partiel du système immunitaire, réduisant ainsi l'apparition de maladies opportunistes [8].

On assiste donc à une diminution importante de la morbidité et de la mortalité de cette maladie dans les pays industrialisés et on passe d'une maladie aiguë à une maladie chronique (les trithérapies ne guérissent pas l'infection mais permettent dans de nombreux cas de vivre avec cette maladie) [8].

De 1998 à nos jours, il y a eu un développement continu de nouvelles molécules et de nouvelles classes thérapeutiques d'antirétroviraux.

Les nouvelles classes thérapeutiques sont :

- les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)

à partir de 1998,

- les inhibiteurs de fusion (IF) à partir de 2003,
- les inhibiteurs d'intégrase et les antagonistes du co-recepteur CCR5 en 2007.

Les nouvelles molécules des trois premières classes thérapeutiques arrivées sur le marché ont des formes galéniques simplifiées où combinées, une meilleure tolérance et entraînent moins de résistances [14]

3.2. CARACTERES DU VIRUS :

3.2.1. Structure physico-chimique

3.2.1.1. structure :

Le VIH a une structure commune à tous les lentivirus. Il est constitué d'une enveloppe composée de deux glycoprotéines (GP), gp 120 reconnaissant le CD4 et GP41 transmembranaire qui assure la fusion virus-cellule cible.

A l'intérieur, la capside renferme les 2 brins d'ARN génomiques et 3 enzymes ; la transcriptase inverse, une intégrase et une protéase. Ce sont des enzymes qui permettent la transcription du génome et l'intégration de l'ADN cellulaire.

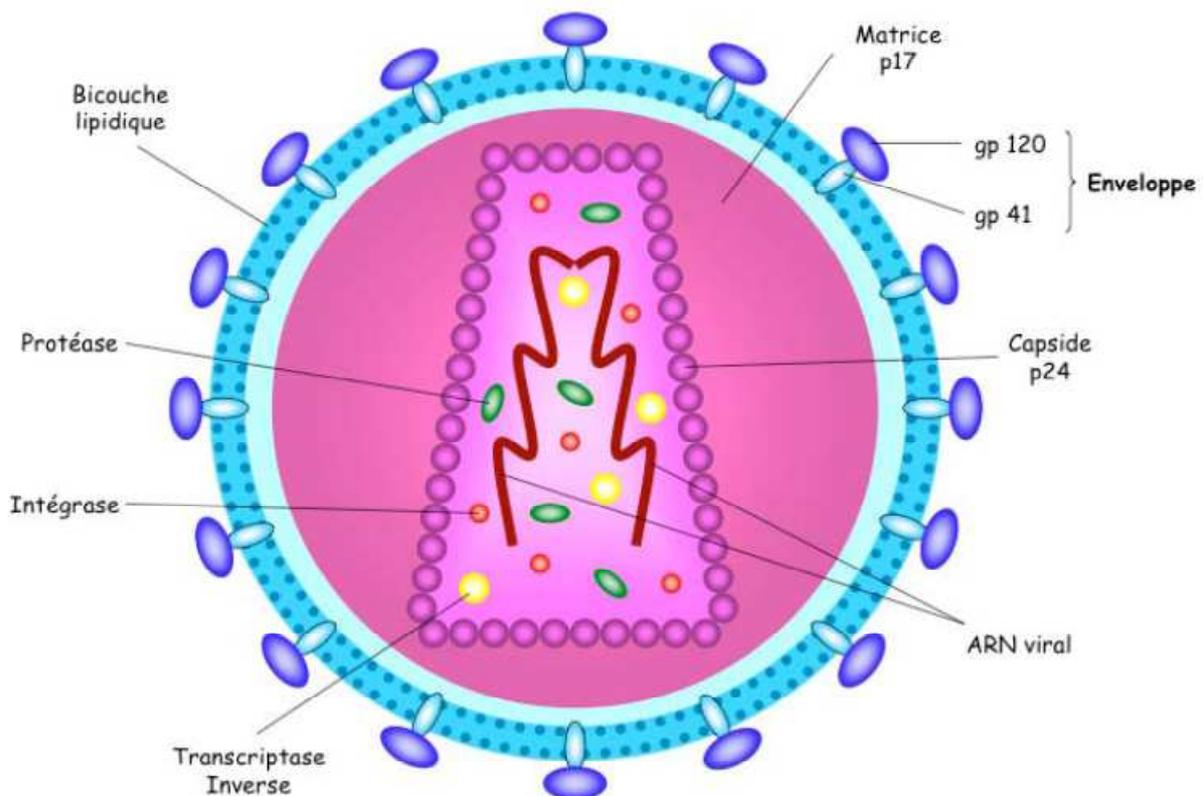


Figure 1 : Structure du VIH [15]

3.2.1.2. Stabilité physico-chimique :

Le VIH étant un virus enveloppé, il est sensible aux solvants des lipides et aux détergents. Il ne résiste pas à la chaleur puisqu'il est inactivé à 56°C pendant 30 minutes et également par traitement pendant 5 minutes à l'hypochlorite de sodium à 0,2%, l'éthanol à 70 %, le glutaraldéhyde à 0,2 % [16].

3.2.2. Cycle de multiplication

Cibles des molécules antirétrovirales, les principales étapes du cycle réplicatif du VIH sont communes aux Rétrovirus. Le virus entre en contact avec le récepteur CD4 via sa glycoprotéine gp120, qui va subir certaines modifications lui permettant de se fixer à un corécepteur (CCR5 ou CXCR4). Cette fixation dévoile la gp41, permettant ainsi la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire. Jusqu'à une époque récente, il avait été admis que la transcription inverse de l'ARN viral n'avait lieu qu'après la décapSitation. Or, de récentes études ont montré que cette étape pouvait avoir lieu également dans la capsid, présente dans le cytoplasme [17]. L'ARN génomique y est ainsi rétro-transcrit en ADN par la TI. L'ADN migre ensuite dans le noyau sous forme de complexe de pré-intégration pour être intégré dans le génome de la cellule hôte sous forme provirale grâce à l'intégrase. L'ADN proviral reste ensuite soit à l'état latent, soit est transcrit en ARN par la machinerie cellulaire. Les ARN produits sont destinés à plusieurs étapes: certains serviront de matériel génétique pour les nouveaux virions, d'autres seront traduits en polyprotéines, en ayant subi une étape d'épissage au préalable ou non. Les polyprotéines produites vont subir certaines modifications; la gp160 est clivée par une protéase cellulaire en gp120 et gp41, protéines qui vont ensuite migrer vers la membrane

cellulaire. Les précurseurs gag et gag-pol vont ensuite être clivés par la protéase virale, qui se sera auto-clivée de gag-pol au préalable. Tous ces éléments vont ensuite se rapprocher de la membrane cellulaire pour être empaquetés. Le virion ainsi formé, après bourgeonnement, entre dans un processus de maturation grâce à la protéase pour aboutir à un virus mature dont la capsid est définitivement assemblée [18].

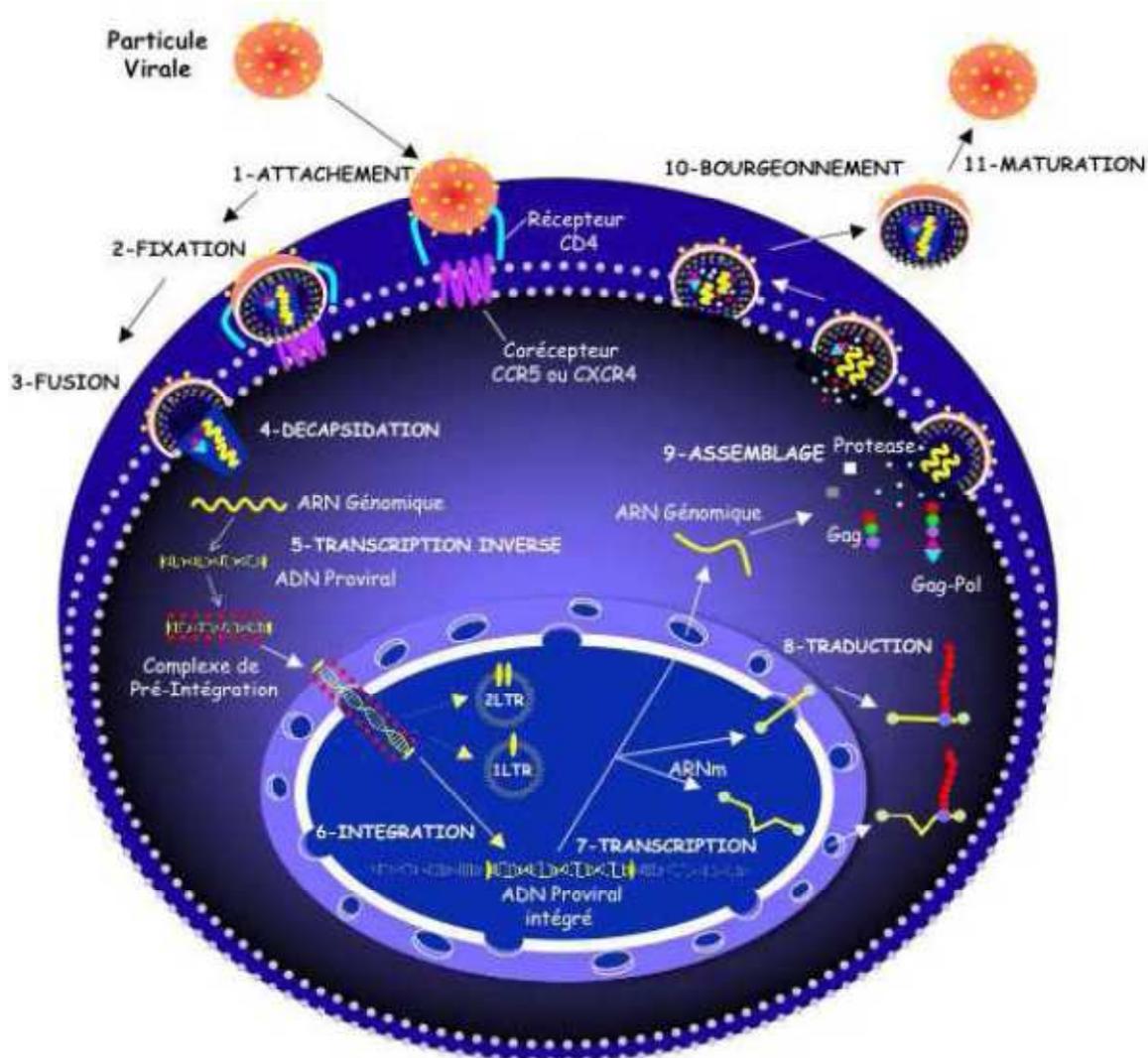


Figure 2 : Cycle de multiplication du VIH [16]

3.2.3. Cellules cibles et Réservoir viral

Les cellules sensibles à l'infection par le VIH expriment le récepteur CD4 à la surface de leur membrane. Ce récepteur, découvert en 1984, s'avère ne pas être suffisant pour permettre l'entrée du virus. Dix ans plus tard, les récepteurs aux chimiokines, CXCR4 et CCR5, ont été désignés comme co-récepteurs indispensables à l'entrée du VIH-1 dans sa cellule cible. Parmi les cellules cibles, on retrouve principalement les lymphocytes T CD4 auxiliaires, mais également les cellules présentatrices d'antigènes, telles que les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules de Langerhans et les cellules microgliales du cerveau. La majorité des infections (99%) a lieu dans les cellules lymphocytaires activées CD4+ des organes lymphoïdes, réservoir principal du virus. En effet, il semble que le processus de pathogénicité du VIH soit initié précocement dans les organes lymphoïdes. De plus, une des particularités du VIH est de persister sous forme d'ADN proviral dans les cellules T4 mémoires. Certaines d'entre elles entrent en phase quiescente après infection et intégration du provirus; la réplication cellulaire, donc celle du provirus, est inhibée par un certain nombre de facteurs cellulaires, résultant en un ADN proviral silencieux dans la cellule, et ce jusqu'à plusieurs mois. Ce n'est que lors d'une stimulation immunitaire que les réplifications cellulaire et virale reprennent, aboutissant ainsi à la production de virions capables d'infecter de nouvelles cellules [19].

3.3. POUVOIR PATHOGENE

3.3.1. Infection humaine :

La durée de l'infection par le VIH et la diversité des tableaux cliniques rencontrés ont très vite conduit à diverses classifications du virus. Le Sida représente la forme compliquée et tardive de l'infection par le VIH. Le Sida correspond à un ensemble de syndromes, il est défini par la survenue de maladies dites opportunistes qui apparaissent en raison du déficit immunitaire engendré par le VIH.

En 1982, le Sida était défini comme une maladie touchant l'immunité à médiation cellulaire. En 1987, cette définition a été révisée et de nouvelles pathologies furent ajoutées :

Manifestations neurologiques, tuberculoses disséminées....

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

▪ Classification clinique suivant le CDC (Edition de 1993) :

Catégorie A :

Un ou plusieurs critères listés ci-dessous chez un adulte ou un adolescent infecté par le VIH s'il n'existe aucun des critères des catégories B et C Infection à VIH asymptomatique

- Lymphadénopathie persistante généralisée
- Primo-infection symptomatique

Catégorie B :

Manifestations cliniques chez un adulte ou un adolescent infecté par le VIH, ne faisant pas partie de la catégorie C et qui répondent au moins à l'une des conditions suivantes :

- Angiomatose bacillaire ;
- Candidose oropharyngée ;
- Candidose vaginale persistante, fréquente ou répondant mal au
Traitement ;
- Dysplasie du col (modérée ou grave), carcinome in situ ;
- Syndrome constitutionnel : fièvre ($38^{\circ}5$) ou diarrhée supérieure à 1
mois ;
- Leucoplasie orale chevelue de la langue ;
- Zona récurrent ou envahissant plus d'un dermatome ;
- Purpura thrombocytopénique idiopathique ;
- Listériose ;
- Neuropathie périphérique ;

Catégorie C :

Cette catégorie correspond à la définition du Sida chez l'adulte. Lorsqu'un sujet a présenté l'une des pathologies ci-dessous, il est classé définitivement dans la catégorie C :

- Candidose trachéale, bronchique, pulmonaire, œsophagienne, extrapulmonaire ;
- Cryptococcose extrapulmonaire ;
- Pneumonie à *Pneumocystis jiroveci* ;
- Toxoplasmose cérébrale ;
- Infection à CMV autre que hépatique, splénique ou ganglionnaire ;
- Rétinite à CMV ;
- Encéphalopathie due au VIH ;
- Infection herpétique, ulcère > 1 mois, ou broncho-pulmonaire, Œsophagienne ;
- Infection à *Mycobacterium tuberculosis* pulmonaire ou extrapulmonaire ;
- Infection à mycobactérie identifiée ou non, disséminée ou Extrapulmonaire ;
- Infection à *Mycobacterium avium*, disséminée ou extrapulmonaire ;
- Pneumopathie bactérienne récurrente ;
- Septicémie à salmonelloses non typhiques récurrente ;
- Cryptosporidiose intestinale évoluant depuis plus d'un mois ;
- Isosporidiose intestinale chronique évoluant depuis plus d'un mois ;
- Leucoencéphalopathie multifocale progressive ou LEMP ;

- Coccidioïdomycose, disséminée ou extrapulmonaire ;
- Histoplasmosse disséminée ou extrapulmonaire ;
- Sarcome de Kaposi ;
- Lymphome de Burkitt ;
- Lymphome immunoblastique, lymphome cérébral primaire, cancer
Invasif du col ;
- Syndrome cachectique dû au VIH ;

▪ **La Classification OMS 2010 en stades cliniques :**

✚ **Stade clinique 1, il est défini par :**

- ❖ Patient asymptomatique.
- ❖ Adénopathies persistantes généralisées.

✚ **Stade clinique 2, défini par :**

- ❖ Perte de poids inférieure à 10 % du poids corporel ;
- ❖ Manifestations cutanées muqueuses mineures (dermite séborrhéique, ulcérations buccales récurrentes) ;
- ❖ Zona au cours des 5 dernières années ;
- ❖ Infections récidivantes des voies respiratoires supérieures ;

✚ **Stade clinique 3, défini par :**

- ❖ Perte de poids supérieure à 10 % du poids corporel.
- ❖ Diarrhée chronique inexpliquée pendant plus d'un mois.
- ❖ Fièvre prolongée inexpliquée pendant plus d'un mois.
- ❖ Candidose buccale (muguet).
- ❖ Leucoplasie chevelue buccale.
- ❖ Tuberculose pulmonaire dans l'année précédente.
- ❖ Infections bactériennes sévères (pneumopathies par exemple).

✚ **Stade clinique 4, défini par :**

- ❖ Pneumocystose.
- ❖ Toxoplasmose cérébrale.
- ❖ Maladie de Kaposi.
- ❖ Lymphome.

- ❖ Mycobactériose atypique généralisée, et plus généralement toute affection grave apparaissant chez un patient infecté par le VIH, ayant une baisse importante de son immunité (taux de CD4 inférieur à 350/mm³).

3.3.2. Pouvoir pathogène expérimental

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

Le modèle expérimental le plus étudié est le modèle SIV. Les virus simiens SIVmac et SIVsm sont associés au développement rapide du Sida chez le macaque. Ce modèle permet donc de réaliser des études visant à une meilleure connaissance de la physiopathologie de l'infection ainsi que l'évaluation de certaines approches thérapeutiques [20].

3.4. EPIDEMIOLOGIE

3.4.1. Caractère pandémique

Depuis son identification en 1981 aux Etats-Unis, l'OMS estimait en décembre 2012 que le nombre total de décès dus au Sida dans le monde était de l'ordre de 25 millions. On estimait en fin 2012 que 34 millions d'individus étaient infectés par le HIV dans le monde, dont plus de la moitié en Afrique subsaharienne. LA diffusion du HIV est mondiale. Cependant, l'épidémie concerne essentiellement certaine population à

risque dans les pays industrialisés (homosexuels masculins, toxicomanes) alors que dans les pays en développement l'ensemble de la population est touchée, du fait de la transmission hétérosexuelle. L'Asie, épargnée jusqu'au milieu des années 80, ne l'est plus.

Le HIV-2 est présent pratiquement exclusivement en Afrique de l'Ouest, et est, pour l'instant, peu répandu dans d'autres régions du monde. De par leurs relations avec l'Afrique de l'ouest, la France et le Portugal sont les pays occidentaux les plus concernés par le HIV-2.

3.4.2. Diversité génétique du VIH à travers le monde

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

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

Les analyses phylogénétiques du VIH-1 à partir de différents isolats ont permis de le classer en 4 groupes génétiques M (main), O (outlier), N (non-M, non-O) et le dernier groupe P découvert récemment par l'équipe de Plantier [21]. De même que les VIH-1, les VH-2 sont également classées jusqu'à présent en sept sous-types distincts (**Roquebert B, Damond F, Brun-Vizinet DD. "HIV genetic diversity and its consequences". Pathol Biol. 2009; 57: 142–8.**) (A, B, C, D, E, F et G).

La majorité des infections par le VIH est causée par le groupe M, les infections par les groupes N et O étant restreintes à l'Afrique centrale.

Dans le groupe M, 9 sous-types sont reconnus et désignés par les lettres A-D, F-H, J et K, les variations génétiques entre les sous-types allant de 25 à 35% selon les sous-types et les régions du génome considérés [22].

Il existe également des variations au sein d'un sous-type, entre 15 et 20%, tels que le sous-type F, divisé en sous sous-types F1 et F2 et le sous-type A en A1, A2 et A3. Les analyses de tout le génome ont révélé l'existence de virus recombinants inter sous-types, issus de patients surinfectés ou co-infectés. Ces virus recombinants sont appelés CRFs ("Circulating Recombinant Forms") lorsqu'ils ont été identifiés chez au moins 3 individus non liés épidémiologiquement et caractérisés sur tout le génome.

Dans le cas contraire, ils sont appelés URFs ("Unique Recombinant Forms"), plus de 200 actuellement [23].

A l'heure actuelle 55 CRFs ont été identifiés, les recombinants CRF01_AE et CRF02_AG jouant un rôle important dans les épidémies régionales [24].

3.4.3. Mode de Transmission

De nos jours, les modes de transmission de l'infection par le VIH sont parfaitement connus et permettent d'élaborer des méthodes préventives vis-à-vis des groupes à haut risque de transmission ou d'acquisition du virus.

3.4.3.1. Transmission sexuelle

C'est actuellement le mode de transmission de l'infection par le VIH le plus répandu dans le monde : 85 à 90 % des infections par le VIH ont été acquises à l'occasion de rapports sexuels non protégés.

Dans les pays en développement, la transmission hétérosexuelle est prédominante et exponentielle. Dans les pays développés, au début de l'épidémie, les personnes à pratiques homosexuelles étaient

principalement touchées, mais actuellement la transmission hétérosexuelle progresse de façon inquiétante [25].

Le VIH est cependant moins contagieux que la plupart des IST, sa probabilité de transmission est de l'ordre de 0,3% lors d'un rapport sexuel, alors que pour le VHB ce chiffre s'élève à 3% et pour la syphilis à 30% [26]. Au-delà des probabilités, le risque de transmission est en étroite corrélation avec le type de rapport sexuel, la quantité de virus présente dans les sécrétions cervico-vaginales et le sperme, ainsi que de nombreux cofacteurs.

La transmission sexuelle s'effectue lors de rapports anaux, de rapports vaginaux et plus rarement lors de relations orogénitales.

3.4.3.2. Les rapports insertifs sont moins à risque que les rapports réceptifs.

Les rapports anaux réceptifs sont ceux ayant le risque de transmission le plus élevé [27].

3.4.3.3. La probabilité de transmission du VIH par rapport anal réceptif non protégé est estimée entre 0,3 et 3%.

_ la probabilité de transmission du VIH par rapport anal insertif non protégé est estimée entre 0,01 et 0,18%.

_ la probabilité de transmission du VIH par rapport vaginal réceptif non protégé est estimée entre 0,05 et 0,15%.

_ la probabilité de transmission du VIH par rapport vaginal insertif non protégé est estimée entre 0,03 et 0,09%.

3.4.3.4. Les rapports oraux-génitaux ne semblent pas dénués de risque

Plusieurs publications rapportent des cas de transmission du VIH, essentiellement par fellation passive, non protégée avec éjaculation. Peu d'études ont calculé la probabilité de transmission du VIH, le risque est donc difficilement quantifiable (faible à très faible : moins de 0,04%) [28].

Ainsi, les muqueuses peuvent être classées par ordre croissant de transmission du VIH : anus, vagin, bouche. Cet ordre est en étroite corrélation avec la vascularisation de la muqueuse, sa fragilité et sa capacité d'absorption.

La présence concomitante d'autres IST, augmente très sensiblement la possibilité de transmission du VIH, du fait de la présence de lésion ou d'érosions au niveau des muqueuses génitales.

On peut citer également d'autres facteurs augmentant le risque de transmission sexuelle du VIH :

- _ Stade de l'infection du partenaire (plus la virémie est élevée, plus le risque est élevé)
- _ Rapports sexuels pendant les menstruations, ou rapports traumatiques avec saignement.
- _ Comportements sexuels individuels : multiplicité des partenaires....

3.4.3.5. Transmission sanguine

L'injection de sang en provenance d'un sujet contaminé est susceptible de transmettre le VIH. Il peut s'agir d'échange de seringues entre usagers de drogue, d'un acte de soin ou d'Accident d'Exposition au Sang (AES) des professionnels de santé.

3.5. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

3.5.1. Dépistage et confirmation

2.5.1.1 Tests de dépistage

Les tests ELISA automatisables :

Les tests ELISA reposent sur la visualisation d'une réaction colorée de type antigène-anticorps. En fonction des composants antigéniques utilisés et des particularités techniques de la réaction, on distingue différentes générations de tests ELISA.

❖ **Les tests sérologiques de première et deuxième génération :**

Ces tests ne sont plus utilisés mais cités pour mémoire. Ils reposaient sur l'utilisation comme antigènes de lysats viraux, obtenus à partir de cultures de cellules T humaines, ou de peptides synthétiques. Ils ne permettaient de mettre en évidence que des anticorps de type IgG.

❖ **Les tests sérologiques de troisième génération :**

Ils détectaient toutes les classes d'anticorps y compris les IgM. Des protéines recombinantes ou synthétiques servaient d'antigène, améliorant nettement la sensibilité et la spécificité de ces tests.

Ils permettaient de détecter une primo-infection par le VIH en moyenne 22 jours après le comptage. Ils furent très largement utilisés [29].

❖ **Les tests sérologiques de quatrième génération :**

Ces tests ELISA combinés ont été conçus pour détecter simultanément les anticorps anti- VIH et l'antigène p24, améliorant ainsi la sensibilité au cours de la phase de séroconversion. Les industriels qui fabriquent ces « trousse diagnostiques » veillent à ce que les antigènes qui les composent, soient les plus représentatifs de l'ensemble des souches virales existantes.

🚦 **Les tests de dépistage rapide ou TDR :**

Dans les situations de grande urgence (Accidents d'Exposition au Sang ou au Sexe) et dans l'impossibilité de réaliser un diagnostic biologique de l'infection par le VIH, dans des délais compatibles avec la prise en charge, un test de dépistage rapide (TDR) peut être pratiqué.

Le TDR se réalise sur sang total, plasma ou sérum, au moyen d'un réactif à lecture subjective et offre un résultat en moins de trente minutes.

Les TDR présentent néanmoins quelques limites :

- leur spécificité est plus faible que celle d'un test traditionnel entraînant un risque de résultat faussement positif.
- tous ne permettent pas de détecter l'antigène p24, par conséquent ils ne sont pas adaptés au diagnostic d'une infection récente

3.5.1.2 Tests de confirmation:

❖ La technique du Western Blot (WB)

C'est la méthode de confirmation de référence. Tout d'abord les protéines d'un lysat viral VIH-1 ou VIH-2 vont être séparées les unes des autres par électrophorèse, avant d'être transférées sur une membrane de nitrocellulose.

Les différentes protéines qui constituent le virus, vont être reconnues par des anticorps spécifiques présents dans le sérum et vont former des bandes révélées par une réaction immun-enzymatique.

❖ Interprétation des tests de confirmation

- Un résultat est considéré comme négatif en l'absence de toute bande
- Un résultat est considéré comme positif s'il y a présence au minimum de deux anticorps dirigés contre deux protéines d'enveloppe (gp41, gp120, gp160), associés à au moins un anticorps dirigé contre une protéine interne du virus (p24, p55, p17, p68, p34).
- Un résultat est considéré comme probable si un anticorps anti-gp160 et un anticorps anti-p24 sont retrouvés ou si deux anticorps dirigés contre des protéines d'enveloppe sont identifiés (gp120, gp160).

Ainsi, en cas de doute ou de positivité du WB, il faut contrôler les résultats sur un second prélèvement.

3.5.2. Recherche d'une antivenérien

L'antigène p24 (protéine d'enveloppe du VIH) est détectable dans le sang pendant une période située entre le 15^{ième} et le 25^{ième} jour qui suit la contamination éventuelle. Lorsque l'antivenérien p24 est positive, une recherche des anticorps anti-VIH est nécessaire pour confirmer rapidement le diagnostic.

3.5.3 Isolement du virus

C'est une technique fastidieuse et coûteuse, ne se pratiquant que dans des laboratoires hautement sécurisés.

In vitro, une co-culture est réalisée à partir de lymphocytes du patient suspecté d'infection et de lymphocytes provenant d'un sujet sain servant de support à la multiplication virale. La mise en évidence, au bout de quelques semaines, d'une activité « reverse transcriptase » ou de la présence d'Ag p24 dans le surnageant de culture témoigne de la présence du VIH.

Cette technique n'a pas sa place en pratique courante pour le diagnostic de l'infection par le VIH [29].

3.5.4. Diagnostic moléculaire

Différentes techniques de biologie moléculaire permettent de détecter les acides nucléiques viraux.

L'amplification génique (PCR), permet de détecter l'ADN proviral et après une étape supplémentaire de transcription inverse, l'ARN génomique contenu dans les particules virales. Cependant, elle comporte certaines limites techniques avec notamment un risque de faux positifs liés aux contaminations par l'ADN amplifié en cours de manipulation et un risque de faux négatifs en raison de la variabilité du génome viral.

Une technique d'hybridation amplifiée, sans amplification génique, basée sur l'utilisation de sondes ramifiées («ADN branché») a été développée, mais elle comporte néanmoins un risque plus élevé de faux positifs (Calvez V. et al, 2007).

3.5.5. Diagnostic virologique de l'infection à VIH chez le nouveau-né et le nourrisson

Le diagnostic de l'infection VIH chez un enfant, de moins de 18 mois, né de mère séropositive, se fait par détection du virus par PCR (amplification génomique) car les anticorps présents proviennent de sa mère. La recherche du virus peut se faire par PCR ADN-VIH-1 à partir des cellules sanguines, ou par PCR ARN-VIH-1 plasmatique (la sensibilité de ces deux marqueurs est équivalente). La PCR VIH est effectuée à la naissance, puis à 1, 3 et 6 mois. Pour affirmer qu'un enfant n'est pas infecté, il faut deux prélèvements négatifs après l'âge d'un mois et en l'absence de traitement antirétroviral de l'enfant.

En cas d'allaitement maternel, il est nécessaire de rechercher l'infection dans les trois mois qui suivent l'arrêt définitif de l'allaitement.

Pour affirmer qu'un enfant est infecté, il faut deux prélèvements positifs, en sachant qu'un résultat positif à la naissance est en faveur d'une infection in utero, et qu'un résultat positif plus tardivement est en faveur d'une infection en période post partum [6].

3.6. TRAITEMENT DES PERSONNES INFECTEES PAR LE VIH

3.6.1. Objectifs du traitement antirétroviral

Le but principal de la thérapeutique antirétrovirale est d'entraver la progression de la maladie vers le stade Sida et ce, en restaurant un taux de lymphocytes CD4 supérieur à 500/mm³ et en rendant indétectable la charge virale plasmatique c'est-à-dire inférieure à 40 copies/ml.

A cette efficacité immunobiologique, d'autres objectifs doivent être recherchés conjointement :

- Empêcher le développement des maladies opportunistes.
- Limiter la toxicité des traitements à court, moyen et long termes.
- Préserver la qualité de vie des patients.
- Prévenir les phénomènes de résistances du VIH aux ARV.

3.6.2. Quand débiter un traitement ARV :(selon les recommandations 2013 de OMS) [30]

3.6.2.1. Chez l'adulte et l'adolescent

- ❖ Un TAR doit être mis en route en priorité chez toute personne présentant une infection à VIH sévère ou à un stade clinique avancé (stade clinique de l'OMS 3 ou 4) et chez toute personne dont le nombre de CD4 est ≤ 350 cellules/mm³.
- ❖ Un TAR doit être mis en route chez toute personne vivant avec le VIH dont le nombre de CD4 est > 350 cellules/mm³ et ≤ 500 cellules/mm³, quel que soit le stade clinique de l'OMS.
- ❖ Un TAR doit être mis en route chez toute personne vivant avec le VIH quel que soit le stade clinique ou le nombre de CD4, dans les situations suivantes :
 - Personne vivant avec le VIH et présentant une tuberculose active.
 - Personne présentant une coïnfection par le VIH et le VHB avec des signes d'atteinte hépatique chronique sévère.

- Partenaire séropositif dans un couple sérodiscordant ; un TAR doit lui être proposé afin de réduire la transmission du VIH au partenaire non infecté.

3.6.2.2. Chez la femme enceinte et la femme allaitante au sein

- ❖ Une association de trois ARV (TAR) doit être mise en route chez toute femme vivant avec le VIH enceinte ou allaitant au sein et doit être poursuivie au moins pendant toute la période où il existe un risque de transmission de la mère à l'enfant. Le TAR doit être poursuivi pour la vie entière si la femme remplit les critères pour recevoir ce traitement.
- ❖ Pour des raisons programmatiques et opérationnelles, en particulier en cas d'épidémie généralisée, un TAR doit être mis en route comme traitement à vie chez toute femme vivant avec le VIH enceinte ou allaitant au sein.
- ❖ Une fois terminée la période où il existe un risque de transmission de la mère à l'enfant, il peut être envisagé, dans certains pays, d'arrêter le schéma d'ARV chez les femmes qui ne remplissent pas les critères pour recevoir un TAR pour leur propre santé

3.6.2.3. Chez l'enfant

- Un TAR doit être mis en route chez tout enfant infecté par le VIH âgé de moins de cinq ans, quel que soit le nombre de CD4 ou le stade clinique de l'OMS.
 - Nourrisson chez qui le diagnostic est posé au cours de la première année de vie.
 - Enfant infecté par le VIH âgé d'un an à moins de cinq ans.
- Un TAR doit être mis en route chez tout enfant infecté par le VIH âgé de cinq ans et plus dont le nombre de CD4 est ≤ 500 cellules/mm³, quel que soit le stade clinique de l'OMS.

- Nombre de CD4 \leq 350 cellules/mm³.
- Nombre de CD4 compris entre 350 et 500 cellules/mm³.
- Un TAR doit être mis en route chez tout enfant infecté par le VIH présentant une infection à VIH symptomatique sévère ou à un stade avancé (stade clinique de l'OMS 3 ou 4) quel que soit l'âge ou le nombre de CD4.
- Un TAR doit être mis en route chez tout enfant âgé de moins de 18 mois chez qui un diagnostic clinique présomptif d'infection à VIH a été posé.

3.6.3. Le choix des molécules

🚦 ARV de première intention chez l'adulte et l'adolescent.

- Un TAR de première intention doit être composé de deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) plus un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI).
 - L'option privilégiée recommandée pour mettre en route un TAR est TDF + 3TC (ou FTC) + EFV en association à dose fixe.
 - Si l'association TDF + 3TC (ou FTC) + EFV est contre-indiquée ou n'est pas disponible, il est recommandé d'utiliser l'une des options suivantes :
 - AZT + 3TC + EFV
 - AZT + 3TC + NVP
 - TDF + 3TC (ou FTC) + NVP.
 - Les pays doivent cesser d'utiliser le d4T dans les schémas thérapeutiques de première intention en raison de ses effets toxiques métaboliques bien connus.
- 🚦 Traitement ARV de première intention chez la femme enceinte et chez la femme allaitant au sein ainsi que chez leurs nourrissons.

- Chez la femme enceinte et chez la femme allaitant au sein, y compris chez la femme enceinte au cours du premier trimestre de grossesse et la femme en âge de procréer, il est recommandé d'utiliser comme TAR de première intention une association à dose fixe en prise unique quotidienne de TDF + 3TC (ou FTC) + EFV. Cette recommandation s'applique aussi bien pour le traitement à vie que pour le TAR mis en route pour la PTME puis arrêté.
- Un nourrisson né d'une mère qui reçoit un TAR et allaité au sein doit recevoir une prophylaxie pour nourrisson par prise quotidienne de NVP pendant six semaines. Si le nourrisson reçoit une alimentation de remplacement, il doit recevoir une prophylaxie pour nourrisson par prise quotidienne de NVP (ou d'AZT deux fois par jour) pendant quatre à six semaines. La prophylaxie pour nourrisson doit commencer à la naissance ou lorsque l'on prend connaissance après l'accouchement de l'exposition au VIH.
- ✚ Traitement de première intention chez l'enfant âgé de moins de 3 ans.
 - Un schéma thérapeutique à base de LPV/r doit être utilisé comme TAR de première intention chez tout enfant infecté par le VIH âgé de moins de trois ans (36 mois), qu'il ait ou non été exposé à un INNTI. S'il n'est pas faisable d'utiliser du LPV/r, le traitement doit être mis en route en utilisant un schéma thérapeutique à base de NVP.
 - Lorsque le suivi de la charge virale est disponible, il peut être envisagé, une fois obtenue une suppression virale prolongée, de changer le LPV/r par un INNTI.
 - Chez le nourrisson et l'enfant âgé de moins de trois ans infectés par le VIH qui développent une tuberculose alors qu'ils reçoivent un schéma de TAR contenant de la NVP ou du LPV/r, il est

recommandé d'utiliser comme option l'association ABC + 3TC + AZT. Une fois le traitement antituberculeux terminé, il faut arrêter ce schéma thérapeutique et reprendre le schéma thérapeutique initial.

- Chez le nourrisson et l'enfant âgé de moins de trois ans infectés par le VIH, la base d'INTI à utiliser pour le TAR doit être composée d'ABC + 3TC ou d'AZT + 3TC.
- ✚ Traitement de première intention chez l'enfant âgé de 3 ans et plus.
 - Chez l'enfant infecté par le VIH âgé de trois ans et plus, l'EFV est l'INNTI privilégié pour le TAR de première intention et la NVP est l'option de remplacement.
 - Chez l'enfant infecté par le VIH âgé de trois ans et plus et de moins de 10 ans (ou pesant moins de 35 kg), la base d'INTI du schéma de TAR doit être constituée de (par ordre de préférence) :
 - ABC + 3TC
 - AZT ou TDF + 3TC ou FTC.
 - Chez l'adolescent infecté par le VIH (âgé de 10 ans ou plus) pesant 35 kg ou plus, la base d'INTI du schéma de TAR doit être harmonisée avec celle utilisée chez l'adulte et constituée de :
 - TDF + 3TC ou FTC
 - AZT + 3TC
 - ABC + 3TC.

3.7. La résistance aux Antirétroviraux

3.7.1. Définition

La résistance aux antirétroviraux est liée à la capacité du virus à se répliquer en présence d'ARV.

On distingue 03 types de résistance ; la résistance acquise sous traitement (résistance secondaire), la résistance primaire et la résistance naturelle (manque de sensibilité).

En effet, pour cette dernière, les patients porteurs de virus résistants peuvent transmettre ces virus à leurs partenaires qui vont alors s'infecter d'emblée avec des virus résistants lors de la primo-infection.

3.7.2. Mécanisme d'apparition des mutations de résistance

Plusieurs facteurs liés à la durée de vie et au cycle de réplication du VIH sont des contributeurs clés vers une émergence rapide et généralisée de résistance qui est observée avec cet organisme.

Les mutations entraînent des modifications des enzymes ou protéines, en diminuant la sensibilité des virus aux antirétroviraux par des mécanismes différents selon les classes et même selon l'antirétroviral dans une même classe [31].

Ces mécanismes peuvent être dus :

- Variabilité génétique importante du VIH,

La TI fait une erreur par cycle de réplication (1 erreur tous les 10 000 nucléotides), d'où l'introduction au hasard de mutations tout au long du génome.

Pendant que la plupart de ces erreurs sont des substitutions de bases, autres mutations comme les insertions ou duplications peuvent aussi se produire. Ce qui conduit à un taux important de recombinaisons, d'où l'existence d'une population virale diversifiée appelée quasi-espèce ou variants viraux.

- Dynamique de production virale très rapide, il a été calculé qu'environ 10 milliards de virions étaient produits chaque jour chez une personne infectée.
- Préexistence, avant tout traitement, de variants viraux présentant des mutations de résistance aux ARV, qui peuvent s'accumuler.

3.7.3. Mécanisme de la résistance aux antirétroviraux

Différents mécanismes de résistance ont été identifiés en fonction des classes d'antirétroviraux et même selon les antirétroviraux au sein d'une même classe.

3.7.3.1. Les analogues nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI)

Deux mécanismes moléculaires distincts sont responsables de la résistance aux analogues nucléosidiques : la diminution de l'incorporation de l'analogue lors de la synthèse de l'ADN et l'excision de l'analogue de la chaîne d'ADN.

▪ Diminution de l'incorporation de l'analogue :

La diminution de l'incorporation des nucléosides ou nucléotides artificiels au profit de nucléotides naturels est observée avec certaines mutations, et en particulier la mutation M184V associée à une résistance de haut niveau au 3TC (lamivudine) et au FTC (emtricitabine). Ce résidu est localisé au niveau du site catalytique de la transcriptase inverse. La substitution d'une méthionine par une valine gêne l'incorporation du 3TC/FTC au niveau du site catalytique de l'enzyme générant la résistance à cette molécule. L'apparition de la résistance au 3TC/FTC est rapide avec la sélection de la mutation M184V en quelques semaines.

Ce mécanisme de résistance est également caractéristique des mutations K65R, K70E et L74V :

- La mutation L74V est sélectionnée par la didanosine et l'abacavir (en association fréquente avec la M184V) et les mutations K65R et K70E principalement par le ténofovir ;

- L'impact de la mutation K65R est nul sur les analogues de la thymidine (la zidovudine est l'INTI de choix en présence de K65R), certain sur le ténofovir probable sur l'abacavir (avec des niveaux variables). L'utilisation de ténofovir en association avec l'abacavir doit être réservée aux patients en échec dont les virus présentent des mutations TAM. En effet, ces dernières empêchent la sélection de la mutation K65R.

Le complexe MDR ("Mutation Drug Résistance"), relevant de ce même mécanisme, est composé des mutations A62V, V75I, F77L, F116Y et Q151M.

Un autre profil de résistance à l'ensemble des analogues nucléosidiques et au ténofovir consiste en des insertions au codon 69 de la transcriptase inverse. Ce complexe comprend une mutation au codon 69, typiquement une sérine, et une insertion d'acides aminés (S-S, SA, S-G ou autre). Ces insertions au codon 69 sont souvent associées à d'autres mutations sur le gène de la transcriptase inverse. La fréquence de ces insertions est heureusement rare [32].

▪ **Excision des analogues médiée par l'ATP ou réaction de pyrophosphorolyse :**

Ce mécanisme intervenant dans la résistance aux INTI est conféré à un groupe de six mutations : M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F et K219Q/E. Ces mutations, initialement décrites comme des mutations de résistances sélectionnées par la zidovudine puis également par la stavudine, affectant la réponse virologique à ces molécules, ont été appelées TAM pour Thymidine Analogue Mutations [33, 34].

L'accumulation des TAMs est graduelle et l'ordre d'apparition peut varier. Les profils de TAM sélectionnés sous traitement peuvent se répartir en deux groupes : l'un comprenant les mutations M41L + L210W + T215Y (deux tiers des cas) et l'autre D67N + K70R + T215F + K219Q/E (un tiers des cas).

En effet, les TAM modifient la structure de la transcriptase inverse, facilitant l'entrée de l'ATP au niveau d'un site proche de l'analogue incorporé à l'ADN. Le phosphate terminal de l'ATP réagit avec la liaison phosphodiester liant l'analogue à l'ADN. Cette réaction entraîne l'excision de l'analogue et la libération du groupement OH du dernier nucléotide. La synthèse de l'ADN viral peut alors reprendre. Ce mécanisme sensible est efficace pour la zidovudine. L'incorporation des désoxynucléotides naturels et de la plupart des analogues nucléosidiques dans l'ADN est rapidement suivie de leur translocation en un « complexe fermé » et, dans cette conformation, la liaison phosphodiester est réfractaire à l'excision par l'ATP. La mutation M184V semble entraîner une diminution de la pyrophosphorolyse, ce qui inhiberait ainsi l'effet des TAM [35]. Les TAM sont responsables d'une résistance à l'ensemble des INTI à des niveaux divers, sauf à la 3TC et au FTC. Cette résistance croisée est variable en fonction du nombre de TAM et de l'INTI. Par ailleurs, les mutations K70R et K219Q/E ont moins d'impact que les quatre autres sur la résistance croisée. La mutation M184V, en présence de TAM, augmente la résistance in vivo à l'abacavir et n'a pas d'impact sur le ténofovir ni sur la didanosine.

3.7.3.2 Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)

Les inhibiteurs non nucléosidiques comme l'éfavirenz et la névirapine pour les molécules de première génération sont de petites molécules qui se fixent au niveau d'une poche hydrophobe située à proximité du site catalytique de la transcriptase inverse. Ces composés sélectionnent des mutations situées au niveau de leur site de fixation qui affecte la flexibilité de l'enzyme, bloquant ainsi la synthèse de l'ADN. Ce sont typiquement des molécules dont la « barrière génétique » est basse puisqu'une mutation au niveau de la poche hydrophobe confère une résistance croisée entre efavirenz et névirapine, INNTI de première génération. De nouvelles molécules de seconde génération, comme l'étravirine et la Rilpivirine sont actives in vitro et/ou in vivo sur certains virus ayant une résistance aux INNTI de première génération [36,37]. L'essai DUET a ainsi démontré que la mutation K103N n'avait pas d'impact délétère sur la réponse virologique à l'Etravirine. En revanche, la mutation Y181C a un impact négatif quand elle est associée à d'autres mutations de résistance aux INNTI. Enfin, les mutations Y181I/V, même isolées, réduisent significativement la réponse à l'étravirine [38]. Il existe in vivo une résistance croisée élevée entre étravirine et Rilpivirine.

Il est évident que l'accumulation de mutations de résistance aux INNTI de première génération diminue l'efficacité de l'étravirine : il est donc recommandé de ne pas laisser une réplique résiduelle sous éfavirenz ou névirapine pour ne pas accumuler ces mutations et réduire l'efficacité de traitement ultérieur par des molécules de seconde génération telles que l'étravirine ou la Rilpivirine.

3.7.3.3. Inhibiteurs de protéase (IP)

Les inhibiteurs de protéase (IP) constituent une famille importante qui bénéficie d'une barrière à la résistance élevée même s'il existe au sein de cette classe une importante résistance croisée.

La résistance aux IP est un phénomène graduel avec accumulation progressive de mutations au niveau du site actif de l'enzyme et à distance de celui-ci. On distingue des mutations de résistance majeures et mineures :

- Les mutations mineures/secondaire, qui sont des mutations pouvant faire partie du polymorphisme de la protéase virale, apparaissent plus tardivement et vont augmenter la résistance aux IP et aider le virus à retrouver ses capacités répliquatives.
- Les mutations majeures/primaires sont généralement sélectionnées les premières lors d'un échappement et diminuent la liaison des IP à leur substrat enzymatique.

De nombreuses études montrent qu'il existe une grande différence entre les IP potentialisés par le ritonavir (IP/r) et les IP non potentialisés en terme de réponse virologique et de taux de sélection de mutations de résistance chez les patients naïfs d'antirétroviraux [39].

3.7.3.4. Les inhibiteurs d'entrée

L'entrée du virus dans la cellule requiert plusieurs étapes, avec successivement la liaison de la gp-120 à la molécule CD4, puis à un corécepteur, récepteur de chimokines, CCR5 et/ou CXCR4. Ces événements sont responsables de l'association des deux boucles trimériques, HR-1 et HR-2 (Heptad Repeat), localisées dans la gp 41, conduisant à un rapprochement des membranes virale et cellulaire et à leur fusion. La composition en acides aminés de la boucle variable V3 de la gp-120 détermine la reconnaissance spécifique du corécepteur.

➤ **Inhibiteur de fusion :**

L'inhibiteur de fusion, enfuvirtide ou T20 (Fuzéon), est un peptide de 36 acides aminés dérivé de la région HR-2 de la gp-41. Il se fixe à la boucle trimérique HR-1 inhibant ainsi la fusion et l'entrée du virus dans la cellule. Des mutations dans HR-1 réduisant la sensibilité au T-20 ont été identifiées in vitro mais aussi in vivo chez des patients échappant à l'enfuvirtide dans les essais cliniques [40]. Ces mutations sont situées au niveau des codons 36 à 45 de la gp 41. Elles apparaissent rapidement (quelques semaines) en cas de réplication virale sous T 20. Des mutations sont sélectionnées plus tardivement dans HR-2, mais elles n'ont pas d'impact sur la résistance au T 20 et compensent probablement des mutations de HR-1 pour la capacité répliquative virale. Il n'existe pas de résistance croisée entre le T20 et d'autres inhibiteurs d'entrée tels que les inhibiteurs du corécepteur CCR5.

Inhibiteur des corécepteurs :

De petites molécules inhibitrices de l'interaction gp-120-CCR5, telles que le maraviroc, sont des antagonistes allostériques non compétitifs qui se lient au même site que la gp-120 sur le corécepteur CCR5. Le maraviroc (Celsentri) a obtenu son autorisation de mise sur le marché en Europe chez les patients prétraités par antirétroviraux et infectés par des isolats VIH à tropisme R5. In vitro, la résistance au maraviroc est liée à des échappements de la gp-120 qui permettent à l'enveloppe virale de s'attacher au complexe CCR5-maraviroc [41] mais peu d'isolats cliniques résistants au maraviroc ont été étudiés. La résistance semble associée à des mutations de la boucle V3, variables d'un isolat à l'autre, en particulier aux positions 13 et 26. En pratique clinique, les échappements thérapeutiques aux inhibiteurs de CCR5 ont été attribués le plus souvent à la sélection de virus de tropisme CXCR4, préexistants en proportion minoritaire au traitement et non détectés par les tests de

tropisme. La détermination du tropisme virale est donc absolument nécessaire avant la prescription d'inhibiteurs de CCR5.

3.7.3.5. La résistance aux inhibiteurs d'intégrase

Elle est due à la sélection et à l'émergence, sous traitement, de variants viraux initialement minoritaires, portant des mutations de résistance. In vivo, trois profils majoritaires distincts comportant soit la mutation N155H, soit la mutation Q148H/K/R, ou la mutation à la position 143 associés à une ou plusieurs mutations secondaires, ont été mis en évidence en cas d'échappement virologique au raltégravir [42]. En ce qui concerne l'élvitégravir, différents profils peuvent être sélectionnés, notamment les mutations E92G/Q ou N155H ou 148R/K [43]. Il existe une résistance croisée très importante entre la raltégravir et l'élvitégravir. La barrière génétique des molécules de 1ère génération (Raltégravir et Elvitégravir) de cette classe est faible et une seule mutation peut induire d'emblée une résistance complète à ces molécules.

Un nouvel inhibiteur d'intégrase, le S/GSK1349572 (le Dolutégravir), ayant un profil de résistance différent du raltégravir et de l'élvitégravir, est en cours de développement en phase III. Cette molécule est actuellement efficace sur des virus résistants aux molécules de 1ère génération mais reste résistant à tous les virus qui portent la mutation Q148R/K. Dans une étude théorique Maiga et al, ont montré que les VIH-1 de sous-type CRF02_AG échappent préférentiellement avec la voie N155H qui pourrait donner une bonne sensibilité de ces virus aux molécules de 2ème génération telle que le Dolutégravir.

3.8. Echec thérapeutique

L'échec thérapeutique regroupe différentes situations.

3.8.1. Echec clinique

Il se caractérise par la survenue de manifestations cliniques témoins de la progression de la maladie VIH (symptômes liés au VIH, nouvelle infection opportuniste ou rechute d'une infection préexistante, survenue de tumeurs) [44].

Habituellement, ce stade d'échec clinique est la conséquence d'un échec virologique et immunologique.

3.8.2. Echec immunologique

Il est défini par l'absence d'ascension des lymphocytes T CD4 malgré un traitement antirétroviral efficace depuis au moins 6 mois. Cette situation se rencontre fréquemment chez les patients ayant initialement un taux de lymphocytes T CD4 préthérapeutique bas, un âge plus avancé. Cet échec peut s'accompagner d'un succès ou d'un échec virologique [44].

3.8.3. Echec virologique

L'échec virologique constitue la situation la plus fréquemment rencontrée. Il est stricto-sensu défini comme toute valeur détectable de la charge virale plasmatique, c'est-à-dire, juste au-dessus du seuil de détection. Actuellement, un seuil à 40 copies/ml est le plus souvent utilisé et constitue l'objectif à atteindre pour toute intervention thérapeutique quelle que soit la situation thérapeutique : traitement initial ou traitements de ligne ultérieure [45]. Au Mali, l'échec virologique est défini comme étant l'impossibilité de réduire la charge virale à un niveau indétectable après six mois de traitement bien conduit. Il est caractérisé par une charge virale plasmatique supérieure à 1000 copies/ml après vérification de l'observance [46].

Il faut différencier l'échec virologique du « rebond virologique » qui est défini comme une charge virale détectable après une période

d'indéfectabilité (au moins 2 points consécutifs) ; celui-ci doit être distingué d'un « blip » de la charge virale (détection d'une charge virale plasmatique isolée comprise entre 50 et 1000 copies/ml sur un prélèvement avec un point suivant de charge virale, réalisé au plus tard un mois après, < 40 copies/ml) [47].

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

à une concentration de molécules antirétrovirales insuffisante, résultant soit d'un défaut d'observance, soit de posologies inadaptées, soit d'interactions médicamenteuses néfastes ; au développement de la résistance vis-à-vis d'une ou de plusieurs molécules antirétrovirales [48].

3.9. Observance (selon Mémento Thérapeutique du VIH/SIDA en Afrique. 2009 : 2^{ème} Edition p41)

3.9.1 Définition

L'observance se définit comme étant le degré de concordance entre le comportement d'un individu (en termes de prises médicamenteuses, de suivi du régime thérapeutique ou de changement de style de vie) et les recommandations médicales. Le seuil de bonne observance concernant les antirétroviraux se situe au-dessus de 90 %, voire de 95 %.

3.9.2 Mesure de l'observance

Le problème du choix de la méthode de mesure est récurrent. Il n'existe aucune mesure de référence. La combinaison de deux méthodes telles que l'entretien ou l'auto-questionnaire et la ponctualité des rendez-vous est recommandée.

Quelques outils pour mesurer l'observance :

- Auto-questionnaire et entretien,
- Méthode du carnet,
- Dénombrement des comprimés,
- Taux de renouvellement des ordonnances,
- Dosages biologiques,
- Observation direct du traitement.

4. METHODOLOGIE

4.1. Lieu et cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée dans l'unité de charge virale du laboratoire d'analyses biomédicales du CHU-Gabriel Touré.

4.2. Type et durée de l'étude

Il s'agissait d'une étude transversale descriptive qui s'est déroulée de juin 2012 à juillet 2013.

4.3. Population d'étude

Elle a concerné tous les enfants infectés par le VIH-1 suivis au service de pédiatrie du CHU-Gabriel Touré ayant bénéficié d'une charge virale dans notre laboratoire pendant la période d'étude.

4.4. Critères d'inclusion

Nous avons inclus tous les enfants infectés par le VIH-1 ayant bénéficié d'une charge virale dans notre laboratoire âgé de 0 à 17 ans, suivi à l'Hôpital Gabriel Touré et sous ARV depuis au moins 6 mois.

4.5. Critères de non inclusion

N'ont pas été inclus les patients dont les parents n'étaient pas consentant.

4.6. Techniques utilisées

➤ **Mesure de l'observance :**

La technique de l'auto-questionnaire et entretien a été utilisée pour évaluer l'observance de nos patients. L'évaluation aboutissait à trois réponses possibles : Mauvaise, bonne, excellente.

Nous avons considéré tous les patients ayant les mentions bonne et excellente comme étant observant et ceux ayant la mention mauvaise comme étant non observant.

➤ **Mesure de la charge virale :**

4.6.1. Technique Abbott HIV-1 RealTime™

• **Principe**

La RT-PCR en temps réel sur Abbott HIV-1 RealTime Quantitative Assay est un test d'amplification de signal de l'ARN cible converti en ADNc grâce à l'activité de transcription inverse de la polymérase thermostable rTth ADN pour la quantification directe d'ARN VIH-1 dans le plasma ou autres liquides biologiques des individus infectés. En premier lieu, les amorces ou primers de transcription inverse du VIH-1 et du contrôle interne s'hybrident avec leurs cibles respectives et s'étendent au cours d'une période d'incubation prolongée. Ces deux amorces sont non compétitives, et le CI (Contrôle Interne) est détecté même à des niveaux élevés de VIH. La cible de l'amorce VIH-1 est le gène de l'intégrase dans la région pol. Après l'étape de dénaturation, au cours de laquelle la température de la réaction s'élève au dessus du point de fusion du produit ADNc double brin : ARN, une deuxième amorce s'hybride avec le brin de l'ADNc et s'étend sous l'activité de l'ADN polymérase afin de créer un produit d'ADN à double brin.

Résultats et interprétation : Le cycle d'amplification au cours duquel le signal fluorescent est détecté par le *m2000rt*, est proportionnel au log de la concentration d'ARN VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. Le logiciel m2000 Software version 4.0 donne les résultats en copies/ml.

4.6.1.1 Organisation du local de Charge virale

L'unité de charge virale est subdivisée en 2 zones (zone 1 et zone 2). La zone 1 (Z1) est dédiée à l'extraction des acides nucléiques (secteur 1) et à l'ajout des acides nucléiques purifiés au master mix (secteur 2). La zone 2 (Z2) est uniquement réservée à la phase d'amplification et de détection.

4.6.1.2. Réactifs et matériels

Les réactifs et matériels ont été répartis par zone.

Zone 1

Secteur 1

- **Réactifs**

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

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

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

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

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

- Microparticules : 1,5% de microparticules (particules d'oxyde de fer Fe₂O₃) dans 50% de solution de lyse ;

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

- CONTROL - = contrôle négatif, flacon de 1,8 mL de plasma humain négative, analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC;
 - CONTROL + = "*Low Positive control*" (contrôle positif bas), flacon de 1,8 mL d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC;
 - CONTROL ++ = "*High Positive control*" (contrôle positif fort), flacon de 1,8 mL d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;
- Calibrateurs HIV: "*Abbott RealTime HIV-1 calibrator kit*":
- CAL A = Calibrator A (Calibrateur A), flacon de 1,8 mL d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;
 - CAL B = Calibrator B (Calibrateur A), flacon de 1,8 mL d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;
- Ethanol 70%;
 - Hypochlorite de sodium ;
 - Eau distillée.

- **Matériels et consommables**

- Deux bains secs pour des tubes de 1,5 mL (75°C) et des tubes de 12 x 75 mm (50°C) ;
- Trois pissettes, une pour l'éthanol, une pour l'hypochlorite de sodium et une pour l'eau distillée ;
- Un chronomètre ;
- Des poubelles et sacs plastiques autoclavables et non autoclavables ;
- Deux congélateurs de - 25°C et - 16°C ;
- Des marqueurs de tubes
- Vortex ;
- Supports (portoires) magnétiques (rouge) pour des tubes de 12 x 75 mm
- Supports (portoires) magnétiques (bleu) pour tubes de 1,5 ;
- Portoires (4) non magnétiques pour les échantillons, les contrôles, les calibrateurs, les tubes de 1,5 mL et les tubes de 12 x 75 mm ;
- Portoires métalliques (2) pour contrôles et calibrateurs ;
- Multipipette plus ou micropipette à répétition ;
- Micropipette de 1000 µL fixe pour la distribution des calibrateurs, des contrôles et des échantillons (protocole 600 µL) ;
- Micropipette de 500 µL fixe uniquement pour le contrôle interne ;
- Micropipette 1000 µL pour le lavage ;
- Micropipette de 100 µL pour la distribution du tampon d'éluion et de l'eau sans RNase ;
- Pipettes pasteur stériles à bout fin ;
- Supports de plaques optiques (supports anti-éclaboussures) ou «*splash free support base* » ;
- Films optiques ou «*optical adhesive cover* » ;
- Appicateurs pour films optiques ou «*adhésive cover applicator* » ;
- Embouts Combitips plus de 10 mL ;
- Pointes à filtre de 1000 µL ;

- Pointes à filtre de 100 µL ;
- Tubes de 12 x 75 mm et des bouchons ;
- Tubes microfuges à bouchon à vis de 1,5 mL ;
- Tubes DNase/RNase free 1.5 mL de type Beckman ;
- Cryotubes DNase/RNase free de 2 mL pour la conservation des aliquotes

Secteur 2

• Réactifs

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

Zone 2

Equipements :

- "*m2000rt instrument system*" = Ordinateur + module d'amplification/détection;
- Une imprimante de marque OKI B4600 pour l'impression des résultats de charge virale ;
- Des onduleurs pour assurer un débit normal pour le thermocycleur, l'ordinateur et l'imprimante en cas de coupure d'électricité ;

- **Réactifs**

- Kit de calibration optique qui comprend les éléments suivants :

- 1 Plaque de calibration de la région d'intérêt (ROI) ; 96 puits, 0,1 mL/puits, 0,2 μ M de fluorochrome dans une solution tampon ;
- 1 plaque de comptage du bruit de fond ; 96 puits, 0,05 mL/puits, solution tampon ;
- Plaques de fluorochromes purs (CyTM5, FAMTM, JOETM, NEDTM, ROXTM, SYBR®, TAMRATM et VIC®) ; 1 plaque par fluorochrome, 96 puits, 0,05 mL/puits, 0,2 μ M de fluorochrome dans une solution tampon.

- Ethanol 70% ;

- Eau distillée et de l'hypochlorite de sodium.

- **Matériels et consommables**

- Micropipette de 100 μ L ;

- Pointes à filtres, RNase free 100 μ L ;

- Gants non poudrés ;

- Sacs poubelles autoclavables ;

- Ecouillons.

4.6.1.3. Procédure de prélèvement de sang pour la charge virale

- **Lignes directives de prélèvement :**

Prélever au niveau du pli du coude 10 mL de sang veineux sur tube EDTA ou ACD dans les centres cliniques.

Les échantillons (de sang total) fraîchement prélevés peuvent être conservés pendant 6 heures entre 15 et 30°C (température du laboratoire) ou pendant 24 heures entre 2 et 8°C (au réfrigérateur).

Si l'échantillon étiqueté de plasma n'est pas analysé dans les 30 minutes de la séparation, le stocker à -20°C dans un congélateur.

Eviter les cycles de congélation et de décongélation.

4.6.1.4. Procédure de la technique

- **Consignes de sécurité :**

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

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

Toutes les procédures doivent être effectuées dans le laboratoire dédié pour la charge virale.

- **L'extraction des ARN du VIH-1**

La préparation des échantillons a pour objectifs d'extraire et d'isoler les molécules cibles d'ARN, afin de rendre les cibles accessibles pour l'amplification, et d'éliminer tout inhibiteur potentiel de l'amplification de l'extrait. Le système de préparation des échantillons "Abbott *mSample Preparation system*" utilise la technologie des particules magnétiques afin de capturer les acides nucléiques et laver les particules afin d'éliminer tout composant non lié de l'échantillon. Les acides nucléiques liés sont élués et transférés dans les tubes de 1,5 mL. Le contrôle interne est soumis à l'intégralité de la procédure de préparation des échantillons, avec les calibrateurs, les contrôles et les échantillons. Le temps moyen d'extraction quel que soit le nombre d'échantillons (24 ou 48) est de 4 heures.

Mode opératoire

La procédure d'extraction des ARN du VIH-1 est réalisée dans le secteur1.

1. Nettoyer le petit matériel avec de l'hypochlorite de sodium, puis à l'eau distillée et enfin à l'éthanol 70%. Utiliser du papier buvard pour le nettoyage ;

2. Allumer les bains à sec chauffant : régler le bain des tubes de 12 x 75 mm à 50°C et celui des tubes de 1,5 mL à 75°C ;

3. Décongeler les échantillons, les contrôles, les calibrateurs et le contrôle interne s'ils sont congelés à une température comprise entre 15 et 30°C ou 2 et 8°C :

Passer les échantillons 3 fois au vortex;

Pour les contrôles, les calibrateurs et le contrôle interne, mélangez le contenu des flacons en les passant au vortex et tapoter les flacons afin d'en faire tomber le contenu au fond.

Si les échantillons, les contrôles et les calibrateurs ne sont pas immédiatement traités, conserver les à une température entre 2 et 8°C pendant maximum 6 heures, le contrôle interne pouvant atteindre 24 heures au maximum ;

4. Etiqueter tous les tubes (nombre requis pour la manipulation, de 24 à 52) : pour chaque échantillon, un tube de 12 x 75 mm et un tube microfuge à bouchon à vis de 1,5 mL ;

5. Préparer le tampon *mLysis* et ajouter 500 µL de contrôle interne par flacon de tampon de lyse (1 flacon pour un protocole de 24 à 26 échantillons et 2 flacons pour un protocole de 48 à 52 échantillons) et mélanger par retournement 5 à 10 fois tout en évitant la formation de mousse ;

6. Remettre les particules *m*Microparticules en suspension en secouant doucement d'avant en arrière jusqu'à ce que les particules soient en suspension ;

7. Préparer les tampons de lavage *m*Wash 1 et *m*Wash 2 et le tampon d'élution *m*Elution en mélangeant par retournement 5 à 10 fois ;

8. **Lyse :**

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

Ajouter rapidement 100 µL de particules *m*Microparticules à chaque tube de 12 x 75 mm à l'aide d'une pipette à répétition ;

Mélanger le tampon de lyse *m*Lysis contenant du contrôle interne par retournement 5 à 10 fois et ajouter 2,4 mL (800 µL x 3) à l'aide de la pipette à répétition;

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

Mélanger les échantillons avec le tampon de lyse par aspiration-refoulement ;

(Utiliser des embouts à filtre et changer d'embouts après chaque transfert de liquide)

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

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

10. Retirer soigneusement le lysat de chaque tube à l'aide de pipettes pasteur stériles à bout fin. N'ouvrir qu'un tube à la fois, retirer autant de fluide que possible et éviter de toucher les microparticules avec le bout des pipettes pasteur ;

11. **Premier lavage Wash 1 :** Transférer les tubes de 12 x 75 mm vers un support non magnétique immédiatement après le retrait du tampon de lyse : ajouter 700 µL de solution *m*Wash 1 dans chaque tube et remettre

les particules magnétiques en suspension par aspiration-refoulement, rincer les particules des parois du tube si nécessaire ;

transférer le liquide de lavage et les particules dans un tube microfuge à bouchon à vis de 1,5 mL étiqueté ;

Placer les tubes de 1,5 mL dans un support de capture magnétique (bleu) pendant une minute ;

12. Retirer avec soins la solution de *mWash 1* de chaque tube à l'aide d'embouts de pipettes à filtre. N'ouvrir qu'un tube à la fois et changer d'embouts après tout transfert de liquide ;

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

ajouter 700 μ L de solution *mWash 1* dans chaque tube et remettre les particules magnétiques en suspension par aspiration-refoulement, rincer les particules des parois du tube si nécessaire ;

Placer les tubes de 1,5 mL dans un support de capture magnétique (bleu) pendant une minute ;

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

15. **Premier lavage Wash 2** :

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

ajouter 700 μ L de solution *mWash 2* dans chaque tube et remettre les particules magnétiques en suspension par aspiration-refoulement, rincer les particules des parois du tube si nécessaire ;

Placer les tubes de 1,5 mL dans un support de capture magnétique (bleu) pendant une minute ;

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

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

Ajouter 700 μ L de solution *mWash 2* dans chaque tube et remettre les particules magnétiques en suspension par aspiration-refoulement, rincer les particules des parois du tube si nécessaire ;

Placer les tubes de 1,5 mL dans un support de capture magnétique (bleu) pendant une minute ;

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

19. **Elution :**

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

Ajouter 25 μ L de tampon *mElution* dans chaque tube et remettre les particules magnétiques en suspension par aspiration-refoulement, rincer les particules des parois du tube si nécessaire ;

Placer les tubes de 1,5 mL dans un bain chauffant à 75°C ;

Incuber pendant 20 minutes ; démarrer la minuterie lorsque vous avez placé le dernier tube dans l'incubateur.

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

21. ajouter 63 μ L de solution *mWash 2* et remettre les particules magnétiques en suspension par aspiration refoulement ; rincer les particules des parois du tube, si nécessaire ;

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

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

- **Préparation et distribution des réactifs d'amplification**

Préparation des réactifs d'amplification

Cette étape se déroule au niveau du **secteur 2**. Changer de gants après l'étape 2. Si on effectue une série de 25 à 48 ou 52 réactions, préparer

une seconde solution de master mix à l'aide d'un autre coffret-réactifs pour amplification.

1. Retirer le coffret-réactifs de dosage du congélateur et les décongeler à une température entre 15 et 30°C ou 2 et 8°C (cette étape peut être réalisée pendant la phase d'incubation, étape 19 de la procédure d'extraction des acides nucléiques) ; une fois décongelés, les réactifs peuvent être conservés entre 2 et 8°C pendant 24 heures Maximum ;

2. Préparation du master mix :

Tapoter les flacons sur la pailasse afin d'en faire tomber le contenu au fond ;

Mélanger par aspiration et ajouter 271 µL du réactif d'activation VIH-1 (Réactif 1) dans le flacon d'enzyme ADN rTth polymérase thermostable (Réactif 3) puis mélanger ;

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

3. Pipeter le master mix contenu dans le flacon d'enzyme dans un tube DNase/RNase free et passer au vortex pour homogénéiser.

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

1. Retirer la base et couvercle "*StrataCooler 96*" (conserver à -20°C) et Portoir de travail en métal pour "*StrataCooler 96*" (conserver à +4°C) du réfrigérateur et les monter ;

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

3. distribuer le master mix à l'aide d'une pipette réservée à cet usage, distribuer des aliquots de 50 µL dans la plaque à 96 puits en allant du puits A à H et de A1 à A12. Utiliser le même embout pour distribuer le master mix dans tous les puits et éviter la formation de bulles dans les puits ;

4. vérifier visuellement le niveau de remplissage, que 50 μ L (et pas plus) ont bien été distribués dans chaque puits et transférer le "*StrataCooler 96*" avec la plaque à 96 puits dans la zone de préparation des échantillons (**Secteur 1**).

- **Préparation de l'amplification**

Cette étape est réalisée dans le **secteur 1**.

1. Addition de l'ARN :

Transférer 50 μ L d'échantillon vers la plaque à 96 puits placée sur le "*StrataCooler96*" dans l'ordre du puits A à H et de A1 à A12 et éviter toujours la formation de bulles dans les puits. Les puits A1, A2 et A3 sont respectivement occupés par les contrôle négatif, contrôle positif faible et le contrôle positif fort ;

Homogénéiser le mélange réactionnel en aspirant et rejetant la solution dans le puits 3 à 5 fois ; utiliser un embout de pipette différent pour chaque transfert d'éluât d'échantillon ;

2. Vérifier visuellement le niveau de remplissage (qu'un total de 100 μ L et pas plus a bien été distribué dans chaque puits ;

3. Sceller la plaque à 96 puits : utiliser un couvercle adhésif optique et fixer-le à l'aide de l'applicateur pour couvercles adhésifs optiques. Ne toucher en aucun cas la surface du film adhésif sinon changer de film adhésif ;

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

5. Retirer la plaque à 96 puits du "*StrataCooler 96*" et placer-la sur la base de support anti éclaboussures et transférer vers la zone d'amplification (**zone 2**).

- **Amplification/détection**

Amplification :

Au cours de l'amplification sur le *m2000rt*, l'ARN cible est converti en ADNc grâce à l'activité de transcription inverse de la polymérase

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

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

Détection : pendant les cycles de lecture sur le *m2000rt*, la température est encore abaissée de manière à permettre la détection par fluorescence des produits d'amplification au cours de l'hybridation des sondes du VIH-1 et du contrôle interne avec leurs cibles (détection par fluorescence en temps réel). La sonde VIH-1 possède une fraction fluorescente liée de manière covalente à l'extrémité 5' (sonde FAMTM). Un oligonucléotide court (Quencher = TAMRATM) est complémentaire de l'extrémité 5' de la sonde VIH-1 et possède une molécule de désactivation à son extrémité 3'. En présence d'une séquence cible du VIH-1, la sonde du VIH-1 s'hybride de préférence avec la séquence cible, la dissociant du "Quencher" et permettant ainsi la détection de la fluorescence.

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

Les sondes du VIH-1 et celles du contrôle interne sont chacune marquées avec un fluorophore différent, ce qui permet de détecter simultanément les deux produits amplifiés lors de chaque cycle. Le cycle d'amplification au cours duquel le signal fluorescent est détecté par le *m2000rt*, est proportionnel au log de la concentration d'ARN VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. La durée des étapes de l'amplification n'est pas fonction du nombre d'échantillons et est de 3 heures.

Calibration optique :

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

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

Calibration du dosage :

Une calibration du dosage, analysant deux calibrateurs de dosage en répliques de trois pendant une série d'analyse d'échantillons, est requise pour quantifier la concentration d'ARN du VIH-1 des échantillons et des contrôles, générer une courbe de calibration (concentration en VIH-1 versus cycle seuil auquel un niveau réactif de signal fluorescent est détecté). La pente de la courbe de calibration et l'ordonnée à l'origine sont calculées et enregistrées sur l'appareil. La concentration en ARN du VIH-1 d'un échantillon est calculée à partir de la courbe de calibration enregistrée. Une calibration du dosage est effectuée à l'installation du *m2000rt* et à chaque nouveau lot de réactifs d'extraction ("*mSample Preparation System*").

- **Procédure de démarrage de l'amplification et de détection**

Cette étape est réalisée dans la zone d'amplification (zone 2). L'ordinateur et le module *m2000rt*, doivent être démarrés 30 minutes avant (Cela peut être réalisé pendant la phase d'incubation de l'élution). A cette étape, pour accéder à l'écran principal du logiciel *m2000rt*, taper le nom d'utilisateur et le mot de passe. Dans l'écran principal, cliquer sur **<Start>** pour lancer l'initialisation qui dure 15 minutes environ.

1. Demandes de dosage: les demandes de dosage sont définies en fonction des plaques.

Chaque emplacement de puits de la plaque est identifié comme calibrateurs (si calibration il y a), contrôle, échantillon patient, ou non utilisé.

Sélectionner **<Orders>** (demandes) dans la barre de menu puis **<Test Orders>** (demandes de dosage), dans le menu **<Create Tasks>** (créer opérations) de l'écran **<Pending Test Orders>** (demandes de dosage en attente), sélectionner **<New Order>** (nouvelle demande). Ensuite

sélectionner l'application spécifique devant être utilisée dans la liste **<Select Application Specification>** qui est "**Assay HIV RNA**";

Saisir les informations suivantes:

- **<PCR Plate ID>**: Identification de la plaque de PCR ;
- **<Reagents>** : pour **<Sample Preparation>** (réactifs d'extraction) taper le numéro de lot et la date d'expiration (facultatif) et pour **<PCR Assay>** (réactifs d'amplification) taper également le numéro de lot et la date d'expiration.
- **<Plate Comments>** (commentaires relatifs à la plaque).

Sélectionner **<Next>** afin d'exécuter la création de la demande de dosage, l'écran **<Create Test Order: Controls and Calibrators>** s'affiche et saisir les informations suivantes: numéro de lot, date d'expiration et les concentrations;

Cliquer sur **<Next>** afin d'exécuter une création de demande de dosage, l'écran **<Create Test Order: Plate Information>** affiche une plaque vide;

Sélectionner les emplacements de la plaque et assigner chaque emplacement de puits occupé à un calibrateur, un contrôle ou un échantillon patient en allant de gauche à droite (de A1 à A12) et de haut en bas (de A à H);

Sélectionner **<Next>**

2. Démarrer l'amplification et la détection :

Ouvrir le tiroir plateau de l'appareil (*m2000rt*);

Retirer la plaque optique du support anti éclaboussures et charger-la dans le portoir de plaque du tiroir plateau de l'appareil;

Fermer le tiroir et sélectionner **<Start>** pour lancer l'analyse.

- **Procédures post-traitement**

Zones de préparation des échantillons et des réactifs

1. Au moment du traitement des échantillons, les consommables sont jetés dans un sac plastique hermétique (autoclavable) ;
2. Retirer les tubes de 1,5 mL du plan de travail et les jeter dans un sac en plastique hermétique ;
2. Décontaminer les paillasses ainsi que tout le petit matériel à l'hypochlorite de sodium, puis à l'eau distillée et enfin à l'alcool 70%. Utiliser du papier buvard pour le nettoyage ;
3. Nettoyer le "*StrataCooler 96*" avec uniquement de l'éthanol 70% et le ranger dans le réfrigérateur suivant le mode de conservation ;
4. Nettoyer la base de support anti-éclaboussures en la plongeant dans de l'hypochlorite de sodium pendant au moins 15 minutes, la nettoyer ensuite à l'eau distillée et à l'éthanol 70%.

Zone d'amplification

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

- **Interprétation et rendu des résultats**

Les résultats sont automatiquement rendus sur la station de travail *m2000rt*. Ils peuvent être exprimés en copies/mL, en log [copies/mL], en unités internationales (UI)/mL, ou en log [UI/mL] ; (1UI = 0,58 copies, 1 copie = 1,74 UI). Les expressions les plus utilisées sont : copies/mL et log [copies/mL].

4.7. Collecte des données

La collecte des données a été fait par la méthode des questionnaires. Les fiches d'enquête ont été remplies à partir des dossiers des patients se trouvant dans le service de prise en charge et aussi à partir des fiches de demande de charge virale fournie par les médecins au laboratoire.

4.8. Supports des données

Dossiers personnels des malades et les fiches de demande.

4.9. Analyses des données

Les données ont été saisies sur le logiciel Excel. Les données ont été analysées sur le logiciel SPSS10.0 et EPI info.

4.10. Aspects éthiques

Les enfants dont les parents ont signé un assentiment ont été inclus dans notre étude.

- Les adolescents ayant consenti également à participer à notre étude ont été inclus.
- Les analyses médicales et biologiques de nos patients étaient gratuites et gérées dans l'anonymat.
- la confidentialité des données a été respectée.

5. RESULTATS

Notre étude a porté sur 205 enfants ayant répondu à nos critères d'inclusion.

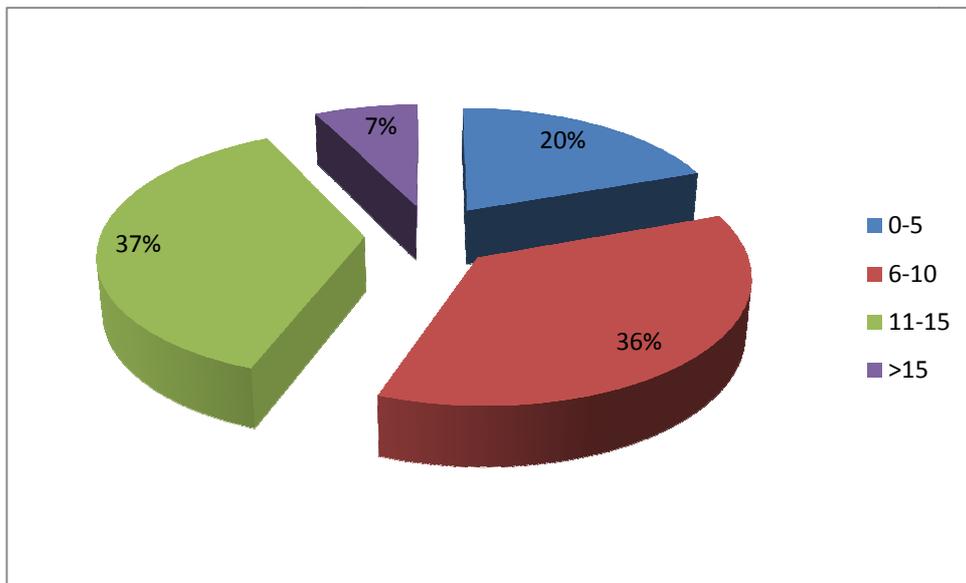


Figure 3 : Répartition des patients selon l'âge.

La tranche d'âge 11-15 ans était la plus représentée.

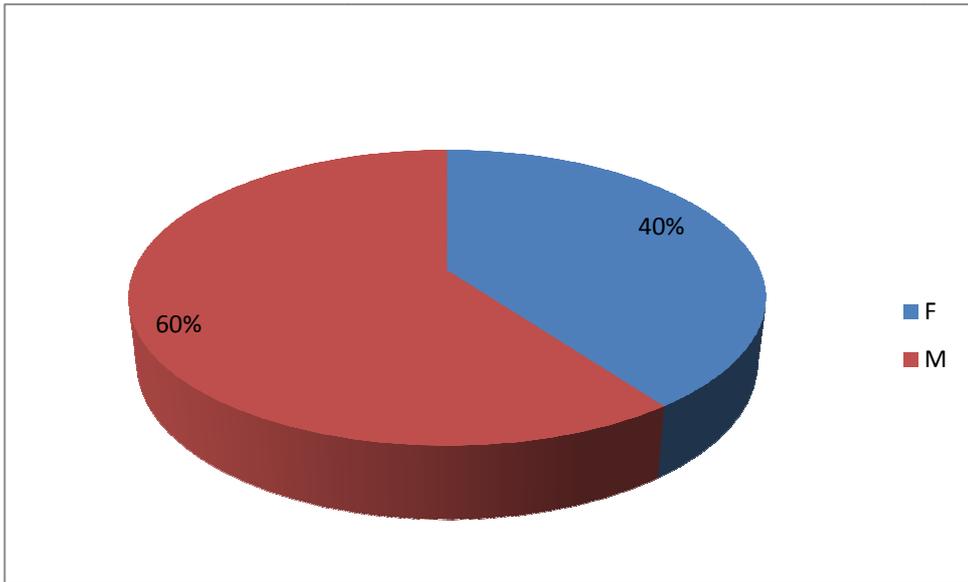


Figure 4 : Répartition des patients selon le sexe

Le sexe masculin était le plus représenté avec 123 enfants soit 60% (le sexe ratio est de 1,5).

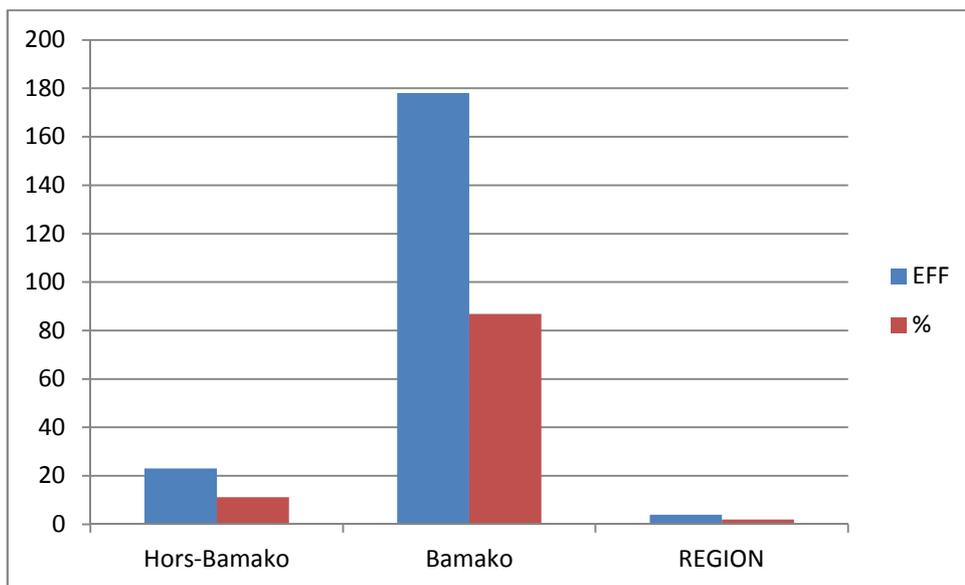


Figure 5: Répartition des patients selon la résidence.

Les patients résidant à Bamako étaient plus représentés avec 86,83%.

NB : Le terme hors-Bamako est utilisé pour les résidences se situant en périphérie de la ville de Bamako (Senou, Sanakoroba...).

Tableau I : Répartition des patients en fonction du schéma de traitement ARV

Schémas de Traitements	N	%
ABC/3TC/KLT	18	8,8
AZT/3TC/EFV	30	14,6
AZT/3TC/KLT	10	4,9
AZT/3TC/NVP	147	71,7
TOTAL	205	100

Les patients sous le schéma thérapeutique AZT/3TC/NVP étaient les plus nombreux soit 71,7%.

Tableau II: répartition des patients en fonction de l'observance au traitement ARV.

observance	Effectif	Pourcentage
NON	40	19,51%
OUI	165	80,49%
Total	205	100

La majorité de nos patients étaient observant au traitement ARV soit 80,49%.

Tableau III: Croisement entre le niveau de lymphocytes T CD4 et l'observance au traitement ARV à 6 mois.

Observance et taux de CD4	Non		Oui		Total		X2 (chi2) P(fisher)
	n	%	n	%	n	%	
<200	5	62,5	3	37,5	8	100	p=0,51
200-350	8	53,3	7	46,7	15	100	p=1
351-500	8	30,8	18	69,2	26	100	X2=2,04 p=0,15
>500	17	11,4	132	88,6	149	100	p=0,0003

Les patients ayant un taux de lymphocytes T CD4 supérieur à 500 cellules/mm³ étaient les plus observant, comparé au groupe des patients ayant un taux de CD4 entre 200-350 (p=0,0003).

Tableau IV: Croisement entre le niveau de lymphocytes T CD4 et l'observance au traitement ARV à 12 mois.

Observance et taux de CD4	Non		Oui		Total		X2 P
	n	%	n	%	n	%	
<200	4	66,7	2	33,7	6	100	p=0,65
200-350	7	70,0	3	30,0	10	100	p=1
351-500	7	33,3	14	66,7	21	100	p=0,06
>500	11	10,7	92	89,3	103	100	p=0,00007

Les patients ayant un taux de lymphocytes T CD4 supérieur à 500 cellule/mm³ étaient les plus observant, comparé au groupe des patients ayant un taux de CD4 entre 200-350 (p=0,0007).

Tableau V: Croisement entre le niveau de lymphocytes T CD4 et l'observance au traitement ARV à 24 mois.

Observance et taux de CD4	Non		Oui		Total		X2 (chi2) P (fisher)
	n	%	n	%	n	%	
<200	3	75,0	1	25,0	4	100	p=0,66
200-350	4	66,7	2	33,3	6	100	p=1
351-500	4	100	0	0,0	4	100	p=0,33
>500	3	3,9	73	96,1	76	100	p=0,0002

Les patients ayant un taux de lymphocytes T CD4 supérieur à 500 cellule/mm³ étaient les plus observant, comparé au groupe des patients ayant un taux de lymphocytes T CD4 entre 200-350 (p=0,0002)

Tableau VI: Croisement entre le niveau de la charge virale et de l'observance au traitement ARV à 6 mois.

Observance et charge virale	Non		Oui		Total		X2 (chi2) P (fisher)
	n	%	n	%	n	%	
<40	3	9,4	29	90,6	32	100	p=0,00052
40-1000	2	11,1	16	88,9	18	100	p=0,0028
1001-5000	6	75,0	2	25,0	8	100	p=1
5001-10000	1	25,0	3	75,0	4	100	p=0,15
>10000	7	50,0	7	50,0	14	100	p=0,24

La plupart des patients qui avait une charge virale indétectable (<40) et une charge virale entre 40-1000 était observant, comparé au groupe des patients ayant une charge virale entre 1001-5000 (p=0,00052 et p=0,0028).

Tableau VII: Croisement entre le niveau de la charge virale et de l'observance au traitement ARV à 12 mois.

Observance et charge virale	Non		Oui		Total		X2 (chi2) P (fisher)
	n	%	n	%	n	%	
<40	3	8,8	31	91,2	34	100	X2=20,34 p=0,0000065
40-1000	1	6,7	14	93,3	15	100	X2=12,96 p=0,00031
1001-5000	1	33,3	2	66,7	3	100	p=0,30
>10000	14	66,7	7	33,3	21	100	p=1

La plupart des patients qui avait une charge virale indétectable (<40) et une charge virale entre 40-1000 était observant, comparé au groupe des patients ayant une charge virale supérieur à 10000 avec des p respectivement de 0,0000065 et de 0,0003.

Tableau VIII: Croisement entre le niveau de la charge virale et de l'observance au traitement ARV à 24 mois.

Observance et charge virale	Non		Oui		Total		X2 (chi2) P (fisher)
	n	%	n	%	N	%	
<40	1	4,2	23	95,8	24	100	p=0,0015
40-1000	1	10,0	9	90,0	10	100	p=0,31
1001-5000	5	62,5	3	37,5	8	100	p=1
5001-10000	2	66,7	1	33,3	3	100	p=0,72
>10000	9	56,2	7	43,8	16	100	p=0,56

La plupart des patients qui avait une charge virale indétectable (<40), comparé au groupe des patients ayant une charge virale entre 1001-5000 (p=0,0015).

Tableau IX: Croisement entre l'observance et le schéma thérapeutique.

Observance et Traitement	Non		Oui		Total		X2 (Chi2) P (fisher)
	n	%	n	%	n	%	
ABC/3TC/LPV/r	4	22,2	14	77,8	18	100	p=0,018
AZT/3TC/EFV	4	13,3	26	86,7	30	100	p=0,0015
AZT/3TC/LPV/r	7	70,0	3	30,0	10	100	p=1
AZT/3TC/NVP	27	18,3	120	81,7	147	100	p=0,00094

Les patients qui étaient sur le schéma thérapeutique AZT/3TC/NVP (p=0,00094) et AZT/3TC/EFV (p=0,0015) étaient les plus observant, comparativement au patient étant sur le schéma AZT/3TC/LPV/r.

Tableau X : Répartition des patients selon la charge virale.

Charge virale en copie/ml	M6		M12		M24	
	n	%	n	%	n	%
<1000	50	65,78	49	67,71	34	55,73
≥1000	26	34,42	24	32,29	27	44,27
Total	76	100	73	100	61	100

Les taux d'échec virologique à 6 mois, 12 mois et 24 mois du traitement ARV étaient respectivement de 34,42%, 32,29% et 44,27%.

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

Limites et difficultés rencontrées :

Notre étude fait suite à l'installation d'un appareil *m2000rt* d'Abbott pour la charge virale plasmatique en avril 2012 à l'hôpital Gabriel Touré. Ce test est indispensable dans le suivi biologique des patients infectés par le VIH et sous traitement ARV. Nous avons réalisé une étude transversale, les données ont été recueillies à partir des dossiers des patients. C'est une étude qui a porté sur 205 enfants suivis au service de pédiatrie du CHU-Gabriel Touré. Très vite nous avons été confrontés à des problèmes tels que :

- L'irrégularité de certains enfants aux visites d'où l'absence de renseignement à certaines dates du bilan de suivi.
- L'indisponibilité temporaire ou permanente de certains examens (taux de CD4, charge virale) dans le dossier, dû au manque de suivi biologique régulier chez nos patients.

Ces problèmes énumérés ci-dessus expliquent les différences d'effectif à différent temps du traitement antirétroviral.

Le fait que des codes d'erreurs sont apparus au cours de nos manipulations techniques, pourrait s'expliquer par des défauts de manipulation pendant l'extraction manuelle. La technique Abbott est une technique très sensible avec une limite inférieure de détection de 40 copies/ml et 10.000.000 copies/ml comme limite supérieure de détection. Congo et al. ont trouvé dans leur étude au Burkina Faso et présenté au congrès ICASA 2011 à Addis Abeba en Ethiopie, une bonne corrélation ($p < 0,0001$) entre deux techniques d'extraction Abbott et Nuclisens Easy MAG (Biomérieux) pour la quantification plasmatique du VIH-1 et ont

montré que la technique Abbott donne un meilleur rendement avec les charges virales de faibles valeurs [49].

Pour limiter les échecs virologiques croissants sur une large échelle dans les pays en développement, il serait important de renforcer la capacité des laboratoires pour le suivi biologique aux thérapies ARV. Dans notre pays, des efforts considérables ont été fournis par les autorités nationales et les partenaires techniques et financiers pour la mise en place des tests de charge virale dans plusieurs laboratoires (Kayes, Ségou et Sikasso). La charge virale est en cours d'installation dans les nouveaux locaux de l'hôpital Somine Dolo.

La technique utilisée

La mesure de la charge virale plasmatique est l'un des marqueurs les plus importants pour suivre l'évolution de la virémie chez les PvVIH sous traitement ARV [50]. Les charges virales ont été réalisées avec la trousse « Abbott RealTime HIV-1 Quantitative Assay™ » contenant tous les réactifs nécessaires de l'extraction à la réaction de RT-PCR en plus du module *m2000rt* et accessoires. En plus des kits prêts à l'emploi, l'extraction de l'ARN à partir de 600 µl (protocole utilisé) présente la même sensibilité qu'à partir 1.0 ml (40-10 000 000 copies/ml) et la technique permet de détecter tous les sous-types VIH-1 du groupe M, N, O et P [51]. Ceci explique notre choix pour la trousse, et notre étude coïncide avec la mise en place des tests de charge virale au CHU-Gabriel Touré.

Manipulations techniques au laboratoire

Le déroulement des manipulations techniques pour les séries de 22, 24, et 48 échantillons a été d'abord utilisé pour vérifier la possibilité d'utilisation de 1 ou de 3 échantillons en plus. L'intérêt majeur est l'utilisation des séries de 48, 52 échantillons puisque cette procédure nous a permis un gain de plaque optique et de contrôles négatif et positif. En effet, en procédant ainsi, nous utilisons une plaque optique et un jeu de contrôles négatif et positifs au lieu de 2 plaques optiques et 2 jeux de contrôles négatif et positif. Aussi les 3 places qu'auraient occupées les contrôles lors de la seconde manipulation de 24 échantillons pouvaient alors être attribuées à 3 échantillons. Il serait alors plus avantageux d'effectuer une série de 48 à 52 échantillons au lieu de 2 séries de 24 à 26 échantillons. En plus, cela permettait un gain d'une journée de manipulation technique. Bado et al ont trouvé des résultats comparatifs aux nôtres dans une étude sur l'implémentation de la PCR en temps réel pour la mesure de la charge virale plasmatique du VIH-1 sur m2000rt d'Abbott au Burkina Faso [52].

Les contrôles de qualité

Les contrôles (contrôles négatif et positif) permettent de vérifier le réactif, l'instrument et la manipulation pour une série de manipulation. Dans notre étude, nous n'avons pas noté de code d'alarme en ce qui concerne ces contrôles. Cela montre la bonne qualité des réactifs (conservation et respect des dates de péremption) et l'état de bon fonctionnement du système. Aussi, cette observation nous prouve le bon traitement des contrôles lors de la procédure de préparation des échantillons.

Le contrôle interne a surtout pour rôle de vérifier que le réactif, l'instrument, la manipulation technique et l'amplification pour chaque échantillon sont dans les normes indiquées par le fabricant.

Le code 4442 était le plus fréquemment rencontré. Ce code s'affiche lorsque le nombre de cycles du contrôle interne est hors de la plage de validité du contrôle interne.

Cela montre le mauvais traitement de certains échantillons, un lavage insuffisant ou une élution mal faite par exemple. Des précautions ont été prises pour minimiser les risques de contamination et d'erreurs dans la manipulation technique.

Le code 4448 a été rencontré une seule fois. Il s'affiche lorsque le bruit de fond est excessif. Cela pourrait être lié au puits en question, puisque ce code s'est affiché que sur un puits de la plaque optique.

Le code 4450 est apparu 2 fois. Ce code s'affiche lorsqu'il y a des bruits de fond. Cela pourrait être lié à la présence de bulles d'air dans le puits correspondant.

Le code 4457 est apparu 4 fois. Ce code ne s'affiche que lorsqu'il y a inhibition de la réaction de PCR par des RNases ou d'autres substances inhibitrices. Ce qui montre que la technique de préparation des échantillons est assez bonne et toutes les mesures mises en oeuvre pour minimiser ce type de contamination sont respectées. Bado et al ont

trouvé des résultats comparatifs aux nôtres dans une étude sur l'implémentation de la PCR en temps réel pour la mesure de la charge virale plasmatique du VIH-1 sur m2000rt d'Abbott [52].

Les caractéristiques sociodémographiques :

Le sexe masculin représentait 60% de notre population d'étude avec un sexe ratio de 1,5. Nos résultats sont comparables à ceux de **Sylla et al** à Bamako [53] avec un sexe ratio de 1,5. **Kissougle et al** à Yaoundé [54] avaient trouvé un sexe ratio de 0,83. Cette différence pouvait s'expliquer par le fait que durant la période de notre étude il y avait plus de naissance de garçon que de fille.

Dans notre étude, la tranche d'âge 11-15 ans était la plus représentée avec 60%. Ce résultat est différent de celui de **Touré. M** au Mali [55] chez qui la tranche d'âge 1-4 ans était la plus représentée. Cette différence pourrait être due à la taille de nos deux échantillons. **Touré. M** n'avait que 36 patients tandis que la taille de notre échantillon était de 205 patients.

La plupart de nos patients résidaient à Bamako (86,83%). Cela pourrait s'expliquer par la situation géographique du site d'étude. CHU-Gabriel Touré étant un centre national qui reçoit également plusieurs cas de référence des autres centres de santé et reste en matière de pédiatrie la référence au Mali.

Les schémas thérapeutiques utilisés :

Duovir-N (AZT/3TC/NVP) a été le schéma le plus prescrit à nos patients (71,7% des prescriptions). Ces données sont conformes aux recommandations nationales en matière de prise en charge pédiatrique. Ce résultat est conforme à celui de **Germanaud et al** au Mali [56] qui dans leur étude avaient montré que le schéma Duovir-N (AZT/3TC/NVP) était le plus prescrit chez les enfants. Par contre notre résultat n'était pas conforme à celui de **Touré. M** [55] qui avait triomune (d4T/3TC/NVP) comme schéma le plus prescrit, suivit de Duovir-N. Cela pourrait s'expliquer par le retrait de la stavudine (d4T) pour cause de toxicité neurologique.

Le niveau de l'observance des patients.

Au cours de notre étude, le taux de bonne observance était de 80,49%. Au congo brazaville **Louaka et al** [57] avaient trouvé un taux de bonne observance de 75,7%. Nos résultats vont dans le même sens. La légère différence qui existe peut-être dû à la méthode utilisée pour évaluer l'observance. Dans nos deux études, nous avons utilisé la technique de l'auto-évaluation et entretien. C'est une technique qui est basée sur les réponses données par le patient. La fiabilité de cette technique dépend de la bonne foi du patient.

L'observance thérapeutique en fonction du taux de CD4.

Le dosage régulier du taux de CD4 chez les patients VIH positifs sous thérapie reste un facteur important et déterminant dans le suivi des personnes vivant avec le VIH. Nous avons constaté que le niveau de CD4 augmentait avec la bonne observance. Ainsi dans notre étude à 6 mois du traitement 88,6% des patients ayant un taux de CD4 supérieur à 500 étaient observant, à 12 mois du traitement 89,3% des patients

ayant un taux de CD4 supérieur à 500 étaient observant et à 24 mois du traitement 96% des patients ayant un taux de CD4 sup à 500 étaient observant. Ces résultats sont comparables à ceux de **Sylla et al [53]**. Dans leur étude, à 6 mois du traitement le niveau de bonne observance était 52,4% chez les patients ayant un taux de CD4 supérieur à 500. **Bagayoko D [58]** au Mali avait rapporté un taux de bonne observance de plus de 88 % à 12 mois du traitement chez les patients ayant un taux de lymphocyte T CD4 supérieur à 350. **Kouéta F et al [59]** au Burkina Faso avait rapporté également un niveau de bonne observance de 86,9 % chez les patients en succès immunologique après plus de 24 mois de traitement ARV. Les résultats de ses différents auteurs viennent conforter notre résultat.

Le schéma thérapeutique en fonction de l'observance.

La plupart de nos patients observant étaient sur le schéma AZT/3TC/NVP (81,7%). Ce résultat est différent de celui obtenu par **Touré. M** au Mali **[55]** chez qui, le schéma d4T/3TC/NVP était plus impliqué dans les cas de bonne observance (77,8%). Cette différence pourrait être dû essentiellement au retrait de la stavudine du fait de sa neurotoxicité bien documentée. La forme galénique du Duovir-N (AZT/3TC/NVP) est aussi un avantage pour cette association. La plupart de nos patients étant dans la tranche d'âge 11-15 ans avait presque tous 25kg. Ils prenaient donc la dose adulte des différentes molécules prescrites c'est-à-dire pour Duovir-N 2 comprimés par jour et pour Duovir-LPV/r 6 comprimés par jour. Le Duovir-N s'est avéré être la meilleure alternative au triomune.

L'observance en fonction de la charge virale.

Chez le patient traité par les ARV la charge virale constitue un marqueur essentiel du suivi de l'efficacité du traitement. La charge virale permet l'évaluation virologique de l'efficacité et indirectement de l'observance après l'initiation d'un traitement ARV. En cas de détectabilité de la charge virale, il s'agit le plus souvent d'une mauvaise observance, ce qui peut être suspectée et recherchée systématiquement. Il faut alors renforcer l'observance et refaire un contrôle de la charge virale au mieux trois mois après. Chez des malades en première ligne du traitement ARV, l'échec thérapeutique, en particulier s'il est suspecté sur des critères clinique et/ou immunologique, peut être confirmé ou infirmé par la mesure de la charge virale [60]. Notre étude a montré que l'indétectabilité de la charge virale était liée significativement à des niveaux d'observance supérieurs à 90%. Ce niveau d'observance est comparable à celui d'**El-khatib et al** en Afrique du sud [61]. Selon eux, 80% de niveau d'observance était suffisant pour maintenir une charge virale indétectable à court terme. **Bagayoko D** [58] avait trouvé que l'indétectabilité de la charge virale était liée à un niveau de bonne observance de 88,12 %. **Vanthournout B et al** [62] avait également montré dans leur étude que l'observance au traitement ARV était significativement liée à l'indétectabilité de la charge virale (83,5% avec $p=0,01$). D'une manière générale, ces études ont donné des résultats similaires. Ses différents auteurs sont unanimes sur le fait que l'observance est un facteur déterminant pour avoir une charge virale indétectable.

7. CONCLUSION

Les données décrites pour l'ensemble des enfants traités sont encourageantes. La grande majorité des patients traités parvient à obtenir une diminution considérable de la charge virale, et ce quelle que soit le schéma thérapeutique. Il semble primordial de pouvoir préserver le plus longtemps possible l'efficacité du traitement de première ligne, sachant que le panel thérapeutique est restreint en situation de ressources limitées, et que les enfants malades, amenés à grandir, seront exposés plus longtemps aux molécules antirétrovirales que les adultes infectés.

Au Mali, l'échec virologique est défini comme étant l'impossibilité de réduire la charge virale à un niveau indétectable après six mois de traitement bien conduit. Il est caractérisé par une charge virale plasmatique supérieure ou égale à 1000 copies/ml après renforcement de l'observance [46]. Nos résultats montrent que le nombre d'enfant ayant une charge virale supérieur à 1000 copies/ml à M6, M12 et M24 étaient respectivement de 34,42%, 32,29% et 44,27%.

8. RECOMMANDATION

Pour améliorer le suivi des enfants vivants avec le VIH, nous formulons les recommandations suivantes :

- **AUX AUTORITES POLITIQUE ET SANITAIRE :**
 - Renforcer la PTME ;
 - Encourager le dépistage volontaire des jeunes filles en âge de procréer ;
 - La formation continue de tout le personnel impliqué dans la prise en charge des personnes vivantes avec le VIH ;
 - Rendre la charge virale accessible à plus de patients.

- **A LA DIRECTION DU CHU-GABRIEL TOURE :**
 - Renforcer le laboratoire d'analyse biomédicale et assurer la maintenance des appareils intervenant dans le suivi des personnes vivants avec le VIH ;
 - Approvisionner correctement le laboratoire en réactifs et consommables.

- **AUX PERSONNELS SOIGNANTS :**
 - Assurer un suivi régulier des enfants en vue d'améliorer l'observance au traitement
 - Respecter les recommandations de la politique national de prise en charge des patients infectés par le VIH

- **AUX PATIENTS (enfants et parents) :**
 - Mieux respecter leur rendez-vous ;
 - Respecter les recommandations du personnel soignant
 - Mieux adhérer au traitement

9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Barre F, Chermann C, Rey F, Nugeyere M** and al. Isolation of a T Lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). Science 1983;220(4599):868-71.
2. **Barin F; Denis F ; Baillou A** and al. **Essex MA STLL VIII related human retrovirus,HTLV-IV:** analysis of cross reactivity with the human immunodéfiency virus.J.virol.Methods; du HCNLS-MALI 20111987,17:55-61
3. **Girard M, Katlama C, Pialoux G.** VIH édition 2001. Doin;Paris 542 pages
4. **Rapport 2012 ONUSIDA**
5. **Rapport National HCNLS 2012**
6. **Yeni P.** Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Recommandation du groupe d'experts. Rapport 2010, Flammarion : Chapitre 2, 33
7. **Collège des universitaires de Maladies Infectieuses et tropicales.** Infection à VIH et SIDA. In :E.PILLY 2008. Paris : Vivactis Plus,2008.P.468-487
8. **Visier L.** Quelques aspects d'histoire sociale du Sida. In :Médecine,Maladie, Société. Les maladies infectieuses. Montpellier : Sauramps médical,2005.p87-105
9. **Sonigo P.** Un deuxième témoin : Le virus du Sida. In: Virus Dr Kyll ou Mr Hyde ? Paris: Play typus Press, 2003.p.94-117.
10. **Mirko D. Gren K.** Histoire du Sida. Deuxième édition. Paris :Payot,1990.418p.
11. **Institut Pasteur.** La recherche sur le VIH/Sida à l'institut Pasteur. Paris : Institut pasteur. Disponible sur : <http://www.pasteur.fr/actu/press/com/dossier/Sida/découverte.htm>

- 12. Agut H, Barin F, Barre F and al.** Les virus de l'immunodéficience humaine. In : Les virus transmissibles par le sang. Montrouge : John Libbey Eurotext, 1996.p.105-148.
- 13. Katlama C, Ghosn J.** VIH et Sida. Prise en charge et suivi du patient. Paris : Masson, 2004.178p
- 14. Katlama C, Ghosn J.** VIH et Sida. Prise en charge et suivi du patient. Deuxième édition. Issy-Les Moulineaux : Masson, 2008-193p.
- 15. Derache A.** Etude des bases moléculaires de la résistance du VIH-1 de sous-type non-B aux ARV. Thèse Doctorat (PHD) virologie. *Université Pierre et Marie Curie Paris 6* 2009.
- 16. Barre F.** Virologie fondamentale de l'infection à VIH. VIH 2011. Edition 2011, *Doin*, Paris 2011; p3-9.
- 17. Arhel N, Souquere S, Munier S, Souque P and al.** HIV-1 DNA Flap formation promotes uncoating of the pre-integration of at the nuclear pore. *Embo J* 2007; 26(12): 3025-37.
- 18. Burkurinskaya A.** HIV-1 assembly and maturation.
Arch virol 2004; 149: 1067-1082
- 19. Levy J.** Acute HIV infection and cells susceptible to HIV. In: Levy JA, ed. HIV and the pathogenesis of AIDS.2nd ed. Washington DC: *ASM Press*, 1998, 75-96.
- 20. Barin F :** Département de Microbiologie et Moléculaire ,Hôpital Bretonneau, 37044 Tours, cedex. Livre de Virologie, collection azay, p559
- 21. Plantier J, Leaz M, Dickerson J and al** A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med* 2009; 15:871-872.
- 22. Bocket L, Cheret A, Deuffic and al.** Impact of human immunodeficiency virus type 1 subtype on first-line antiretroviral therapy effectiveness. *Antivir Ther* 2005;**10**:247-254.

23. Brenner B, Routy J, Petrella M and al. Persistence and fitness of multidrug-resistant human immunodeficiency virus type 1 acquired in primary infection. *J Virol* 2002;**76**:1753-1761.

24. HIV-1 circulating Recombinat from (CRFs).

<http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs.html>
[consulté le 20/12/12 à 20H](#)

25. Belec L. (sous la direction de). Transmission sexuelle de l'infection par le VIH. Paris: John Libbey Eurotext, 2007, 654 p.

26. Ghosn J, Katlama C. Principes et gestion des traitements antiretroviraux. In: Katlama C, Ghosn J. VIH et Sida : Prise en charge et suivi du patient. 2e ed. Paris: Masson, 2008, 74-93.

27. Boily M, Baggaley R, Wang L and al. Heterosexual risk of HIV-1 infection per sexual act: systematic review and meta-analysis of observational studies. *Lancet Infect Dis*, Fevrier 2009,9 (2) : 29-118.

28. Vittinghoff E, Douglas J, Judson F and al. Per-contact risk of human immunodeficiency virus transmission between male sexual partners. *Am J Epidemiol.*, 1 Aout 1999, 150 (3): 11-306

29. Calvez V, Gautheret A, Marcelin A. Virologie medicale et infection VIH.

30. Résumé des Principales caractéristiques et Recommandations de L'OMS. Juin 2013.www.who.int/hiv

31. Yeni P. Prise en charge medicale des personnes infectées par le VIH. Paris; 2010 p. 32–60.

32. Françoise V, Charlotte C. Résistance aux antirétroviraux. In: Doin, editor. VIH. 2011th ed. Paris; 2011. p. 461–80

- 33. Picard V, Angelini E and al.** Comparaison of genotypic and phenotypic resistance patterns of human immunodeficiency virus type-1 isolates from patients treated with stavudine and didanosine or zidovudine and lamivudine. *J Infect Dis.* 2001;184:781–4.
- 34. Calvez V, Costagliola D and al.** Impact of stavudine phenotype and thymidine analogues mutations on viral response to stavudine plus lamivudine in ALTIS 2 ANRS trial. *Antivir Ther.* 2002; 7: 211–8.
- 35. Gotte M, Arion D, Parniak M and al.** The M184V mutations in the RT of HIV-1 impairs rescues of chain terminated DNA synthesis. *J virol.* 2002; 47: 3579–85.
- 36. Tambuyer L, Vingerhoets J, Azijn H and al.** Characterization of genotypic and phenotypic changes in HIV-1 infected patients with virological failure on an etravirine -containing regimen in the DUET-1 and DUET-2 clinical studies. *AIDS Res Hum Retrovir.* 2010; 26: 1197–205
- 37. Azijn H, Terry I, Vingerhoets J and al.** TMC 278, a next- generation of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), active against wild-type and NNRTI-resistance HIV-1. *Antimicrob Agents chemother.* 2010;54:718–27
- 38. Marcelin A, Flandre P, Descamps D and al.** Factors associated with virological response to etravirine in nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-experienced HIV-1 infected patients. *Antimicrob Agents chemother.* 2010;54 (72-7).
- 39. Von Wyl V, Yerly S and al.** Emergence of HIV-1 drug resistance in previously untreated patients initiating combination antiretroviral treatment: a comparison of different regimen types. *Arch Intern Med.* 2007; 167:1782–90.

40. Sista P, Melby T, Greenberg M and al. Characterization of baseline and treatment emergent resistance to T-20 (enfuvirtide) observed in phase III clinical trials: substitutions in gp 41 amino acids 36-45 and enfuvirtide susceptibility of virus isolates. *Antivir Ther.* 2002; 7: S16.

41. Moore JP KD. A piece of resistance: how HIV-1 escapes small molecule CCR5 inhibitors. *Curr opin HIV AIDS.* 2009;4:118–24.

42. Fransen S, Gupta S and al. Loss of raltegravir susceptibility by human immunodeficiency virus type1 is conferred via multiple nonoverlapping genetic pathways. *J virol.* 2009; 83:11440–6.

43. Shimura K, Kodama E and al. Broad antiretroviral activity and resistance profile of the novel human immunodeficiency virus integrase inhibitor elvitegravir (JTK-303/GS-9137). *J virol.* 2008; 82: 764–74.

44. Gazzola L, Tincati C, Bellistri G and al. The absence of CD4+ T Cell count recovery despite receipt of virologically suppressive highly active antiretroviral therapy: clinical risk, immunological gaps, and therapeutic options. *Clin Infect Dis* 2009; 48(3): 328-37.

45. Hunt P, Martin J, Sinclair E and al. T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2003;187:1534-1543.

46. MS/SG/CSLS. Politique et protocoles de prise en charge antirétrovirale du VIH et du SIDA. *MS/SG/CSLS Mali* Juin 2010,27-39.

47. Podsadecki T, Vrijens B, Tousset E and al. Decreased adherence to antiretroviral therapy observed prior to transient human immunodeficiency virus type 1 viremia. *J Infect Dis* 2007; 196:1773-1778.

48. Grover D, Alle L, Pillay D and al. Predicators of death, and response to therapy in patients with multi(three)-class drug resistance HIV in the UK. *Antivir Ther* 2005;**10** (suppl 1): S7.

49. Congo M, Sangaré L, Idrissa G et al. Comparaison des méthodes d'extraction Abbott et Nuclisens easyMag (Biomérieux) pour la quantification plasmatique du VIH-1. *ICASA, Addis ABABA* 2011, Abstract TUAA0205.

50. Mellors J, Rinaldo C, Gupta P and al. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996; 272: 1167-70.

51. Abbott. Guide abrégé de préparation manuelle des échantillons pour les dosages Abbott RealTime HIV/HCV 2010.

52. Bado G. Implémentation de la PCR en temps réel pour la mesure de la charge virale plasmatique du VIH-1 au laboratoire de biologie moléculaire du CHU Yalgado Ouédraogo(CHUYO) de Ouagadougou, Burkina Faso. *Thèse, Pharmacie, Ouagadougou* 2007, N° 087/2007.

53. Sylla M, Dicko F, Oumar A et al. Évaluation de l'observance du traitement antirétroviral chez les enfants infectés par le VIH à Bamako /*Archive de pédiatrie* (2008) 1356-1357.

54. Kissougle N, Tietche F, Tene G. Evaluation de l'observance du traitement antirétroviral chez les enfants de 0 à 15 ans infectés par le VIH.

Etude menée au Cameroun sur des enfants traités au centre Mère et Enfant de la Fondation Chantal Biya à Yaoundé. *Sidanet* ,2007 4(5):1001

55. Touré. Mahady : Evaluation du niveau de l'observance au traitement ARV chez les enfants de 0 à 15 ans à l'ONG walé de Ségou. Thèse de médecine 2010.

56. David Germanaud, Anne Derache, Mamadou Traore and al.

Level of viral load and antiretroviral resistance after 6 months of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor first-line treatment in HIV-1-infected children in Mali.

J Antimicrob Chemother 2010; 65: 118–124.

57. Samba C, Mabilia B et al. Evaluation de l'observance thérapeutique aux traitements antirétroviraux chez l'enfant à Brazzaville/Archives de pédiatrie 2009.16 :486-488

58. Bagayoko D : Evaluation de l'observance du traitement ARV dans le service de médecine du centre Hospitalier «Mère-enfant» Le Luxembourg. Thèse de médecine soutenu en 2010 Fmpos Mali.

59. Kouéta F, Yé D, Zoungrana A et al. Echecs du traitement ARV de première ligne chez les enfants infectés par le VIH à Ouagadougou.

60. Groupe de travail Biologie-GIPESTER EDITION 2008.Mesure taux de lymphocyte T CD4, mesure de la charge virale, diagnostic précoce chez l'enfant né de mère infectée.

61. Ziad E, Anna M, Ashraf C and al. Adherence and virologic suppression during the first 24 weeks on antiretroviral therapy among women in Johannesburg, South Africa a prospective cohort study.

62. Vanthournout B, Van Der Kelen E, Elate D and al. Clinical evaluation of adherence to antiretroviral therapy in adolescents infected by HIV Infany.

FICHE SIGNALETIQUE

NOM : SANOGO

PRENOM : MOUSSA

Email : m_sanog@yahoo.fr

Tel :0022376393086

TITRE: Echecs virologiques chez les enfants infectés par le VIH-1 et sous traitement ARV au CHU-Gabriel Touré

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2012 – 2013

RESUME :

L'observance du traitement antirétroviral est une condition indispensable à la réussite de la prise en charge du patient vivant avec le VIH. Nous avons mené une étude sur l'échec virologique chez les enfants infectés par le VIH-1 et sous traitement ARV au CHU Gabriel Touré entre juin 2012 et juillet 2013. Nous avons mené une étude transversale qui portait sur 205 enfants. Les données ont été recueillies à partir des dossiers des patients. La tranche d'âge 11-15 ans était la plus représentée (37%), les garçons étaient les plus nombreux (60%). Le schéma thérapeutique AZT/3TC/NVP était le plus prescrit à nos patients (71,7%). La majorité de nos patients étaient observant au traitement ARV (80,49%).

Dans l'ensemble, nos résultats ont montré que l'observance était un facteur déterminant pour obtenir une augmentation significative du taux de lymphocyte T CD4 et une diminution considérable de la charge virale plasmatique.

MOTS Clés : VIH, ARV, échecs virologique, observance, enfant.

Summary

Antiretroviral curing observance is an important condition for success of the patient taking care having Aids. We have made research about virological failure to the children infected by Aids Virus 1 and under ARV treatment in CHU Gabriel Touré between June 2012 and July 2013. we also made research that based on 205 children. the data have been taken from the patients files . the age average from 11 to 15 years old was the most represented (37 %), boys were the most numerous 60% . the therapeutic plan AZT/3TC/NVP was the most order to our patients 71,7%. The majority of our patients were present to the treatment ARV 80,49% . In general , our results have shown that the observance was a determining factor to a significant increasing to the lymphocyte TCD4 rate and a considerable decreasing of the plasmatic virus charge.

KEYWORDS: AIDS, ARV, virological failure, observance, children.

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et de sa dignité humaine.

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

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

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

Je le jure!