

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

Université de Bamako

Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie

Année Universitaire 2010- 2011

N°

Thèse de Pharmacie

Titre

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivis sur 18 mois au laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali).

Présentée et soutenue publiquement le 14/02/2011; devant la faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Par Mme **Dollo Mariam Dolo**

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

JURY

Président :	Pr. Soukalo Dao
Membres :	Pr. Souleymane Diallo Dr. Almoustapha I Maiga
Co-directeur :	Dr. Etienne Algiman
Directeur :	Pr. Flabou Bougoudogo

Hommage aux membres aux du Jury

A notre Maître et président du jury Pr Soukalo DAO

- ❖ Maître de Conférences Agrégé en maladies infectieuses.
- ❖ Co-investigateur du laboratoire de recherche et de formation (SEREFO).

Cher Maître

Nous vous remercions de l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de notre travail. Votre rigueur scientifique et votre amour du travail bien fait font de vous un maître apprécié de tous. Qu'il nous soit permis à l'occasion de ce travail de vous manifester notre infinie gratitude et notre profond respect.

A notre maître et juge Pr Souleymane Diallo

- ❖ Pharmacien Biologiste des Services de santé des Armées.
- ❖ Maître assistant de Bactériologie et de Virologie à la Faculté de médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie.
- ❖ Chef de service du laboratoire d'Analyses de l'Hôpital Gabriel Touré.

Cher Maître,

C'est une fierté pour nous de vous avoir comme membre du jury. La qualité de l'enseignement que vous nous avez prodigué (pendant vos cours en 4^{ème} et 5^{ème} année) avec rigueur et dévouement font de vous un maître apprécié de ses étudiants. Vos connaissances scientifiques ainsi que vos qualités humaines forcent le respect et l'admiration de tous. Recevez cher maître l'expression de notre sincère reconnaissance.

A notre maître et juge Dr Almoustapha Maiga

- ❖ Docteur en pharmacie.
- ❖ Docteur en science virologie de l'école de doctorale Complexité du Vivant (Cdv) de l'Université Pierre et Marie Curie UPMC «Paris 6».
- ❖ Chercheur au laboratoire de virologie à l'hôpital de la Pitié-Salpêtrière à Paris.
- ❖ Responsable de l'unité épidémiologique sur la résistance aux antirétroviraux au SEREFO.

Cher Maître,

Nous sommes plus que réjouie de vous avoir comme membre de notre jury, la spontanéité avec laquelle vous avez accepté d'apporter vos observations à ce travail nous a touchée. Votre recherche du travail bien fait, fait de vous un maître respecté. Recevez cher maître, l'expression de notre profonde reconnaissance et notre estime.

A notre co-directeur et juge

Dr Etienne Algiman

- ❖ Docteur en biologie médicale.
- ❖ Directeur général du laboratoire d'Analyses Biomédicale Privé ALGI.

Cher maître,

Ce travail est le témoignage de la confiance que vous avez placée en nous et qui nous a permis de le réaliser dans les meilleures conditions. Votre simplicité, votre disponibilité nous ont marqué. Nous avons été touchées par vos qualités humaines et votre amour pour le travail bien fait ; nous vous en serons toujours reconnaissantes et nous vous prions par ailleurs cher maître d'accepter nos excuses pour toutes les fois où nous n'avons pas été à la hauteur de ce travail. Soyez assuré de notre profond respect et de notre sincère gratitude.

A notre Directeur et juge Pr Flabou Bougoudogo

- ❖ Professeur en Bactériologie et en Virologie.
- ❖ Responsable des cours de Bactériologie et de virologie à la Faculté de Médecin de Pharmacie et d'Odontostomatologie.
- ❖ Directeur général de l'Institut National de Recherche en santé Publique (INRSP).

Cher Maître

C'est avec spontanéité que vous avez accepté de diriger ce travail. Ceci a d'autant plus forcé l'admiration que nous avons déjà pour vous lorsque nous suivions vos cours en 5ème année pharmacie ; votre abord facile et agréable, votre disponibilité nous ont permis de réaliser ce travail avec un minimum de difficulté. Vous avez fait preuve de compréhension. Nous espérons que ce travail sera à la hauteur des espoirs que vous attendez ; soyez assurer de notre sincère gratitude et de notre profonde reconnaissance.

Dédicaces

A Allah le créateur de l'Univers et à son Prophète Mohamed (PSL)

A mon père Apam Dolo

J'ai appris par toi la Crainte de Dieu le pardon et la générosité. Ces écrits sont insignifiants pour te gratifier toute ma reconnaissance et mon immense fierté de la qualité de l'éducation reçue. Ce travail est le tien, puisse le tout PUISSANT t'accorder longue vie et beaucoup de santé.

A ma maman Ina Dolo

Que de chemin parcouru depuis un certain mois d'Octobre 1991 que tu as pris ton bâton de pèlerin pour l'instruction et la quête de connaissance pour tes enfants en commençant par ma personne. J'ai toujours admiré l'humilité de tes connaissances, ta bonté et ta sagesse. Aujourd'hui une étape se termine mais c'est aussi le début d'une autre et plus que jamais j'ai besoin de toi.

Que Dieu te prête une très longue vie et beaucoup de santé.

A mon oncle Ichaka Dolo

Peu de gens savent que tu n'es pas mon père car tu l'as été quand ce dernier était loin de moi et je t'ai toujours considéré comme tel.

Ce travail est le tien et qu'il te remplisse de fierté. Longue vie à toi par la grâce d'ALLAH

A ma tante Fatoumata Dolo

Plus qu'une tante tu as été une mère mais aussi une amie toujours très attentive à ma personne. Merci pour le passé le présent mais aussi le futur. Longue vie à toi par la grâce d'ALLAH.

A mon Fiancé Moussa Dolo

Merci de ta présence et de ton soutien, que le tout PUISSANT puisse nous unir pour toujours.

A Mes frères : Mamadou, Dounerou, Amènè merci de votre soutien et vos encouragements. Que ce travail vous sert d'exemple et vous incite à mieux faire. Que la fraternité qui nous unie triomphe toujours.

A Mes sœurs : Aissata O, Hawa O, Oumou Toka, Oumou Batoma, Djeneba, Oumou Dilly, Oumou Anna, Sanga Goro, Kadi et Dènè courage et que ce travail vous sert d'exemple.

Mes tantes, tontons, cousins, cousines, nièce, neveux bon courage à vous.

Remerciements

A Mr. Ibrahim Kola Barry

Vous m'avez adopté dès l'instant où vous m'avez vue votre bonté vos encouragements m'ont jamais fait défaut. Que Dieu vous le rende par son paradis.

A Mr Etienne Algiman

Merci d'avoir fait confiance à une parfaite inconnue et de l'avoir encadré ; seul Dieu saura vous récompensez.

Au Pr Yaya Fofana mon jeune âge ne m'a pas permis de bénéficier de vos enseignements à la faculté mais Dieu merci je ne m'en plaindrais jamais car je les aie reçus au laboratoire. Que Dieu vous le rende par son paradis.

A tout le personnel du laboratoire ALGI : Mme Diarra M, Mme Dembélé M, Mr Doumbia T, Mr Konaté S, Mr Yossi A, Mr Coulibaly S, Mr Guindo A, Mr Koné B, Dr Tangara O, Mr Tall T, Dr Téketé A, Dr Diawara A, Mr Koné M, Mr Koné ML, Mr Dakouo E , Mme Dicko H, Mme Sanogo A, Mme Baby A, Dr Touré F, Mme Mariko A, Mme Kanouté F, Mme Berthé D, Mme Cissé D, Dr Tounkara O , Mr Dakouo E, Mr Koné G, Mr Koné F, Mme Karembé W , Pr. Traoré S, Pr. Traoré C B, Malikité, Kassogué S. Merci de votre soutien, compréhension, générosité, et accompagnement.

A Mes amis(e) : Balam, Sylvestre, Julien, Tenousé, Ama, Mapi, Mamy Théra Mariam Sidibé, Mata, Mouna Koné, Kandia, Oumou, Mme Aya, Mama, Mai Dembélé, Baga, Fadimata Wallet Ousmane, Aichatou Chehy merci de votre amitié.

A Toute la promotion Moussa Harama le parcours a été fabuleux.

Aux bleus « Un pour Bâtir, bâtir pour tous »

A La communauté Gabonaise, Mauritanienne, Togolaise, Camerounaise, Nigérienne.

Mes amis du Gabon Romaric, de la Mauritanie Salah, Hamma, M'Bodje, Kasa, Papa, Papis, Madou, Elie cheik, Senna merci de m'avoir considéré comme l'une des vôtres.

A tous les maîtres de l'école fondamentale « A » de Diafarabé,

A tous mes enseignants du second cycle Tahirou Cissé de Tenenkou,

A tous mes enseignants de l'école « B » de Sevaré ,

A tous mes enseignants du Lycée Hamadoun Dicko de Sevaré,

A tous mes professeurs de la Faculté, pour votre contribution à la construction intellectuelle de ma vie que Dieu vous accorde une longue vie.

Mention spéciale à toutes les personnes vivants avec le VIH (PVVIH) au Mali et dans le monde, j'espère de tout cœur que Dieu vous garde en bonne santé si tel n'est pas le cas gardez espoir et nous feront tout pour vous aider.

Liste des Abréviations

ABC : Abacavir

ADN : Acide désoxyribonucléique

APV : Amprénavir

ARC: Aids Related Complex

ARN : Acide Ribonucléique

ARV : Antirétroviral

AZT : Zidovudine

CDC: "Center for Disease Control"

CESAC : Centre d'Ecoute de Soins d'Animation et de Conseil

CRI : Récepteur érythrocytaire

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

DDD : Zalcitabine

DDI : Didanosine

DRV: Darunavir

D4T : Stavudine

EDS: Enquête Démographique et de Santé

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique

EFV: Efavirenz

ENF: Enfuvirtine

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay

GP: Glycoprotéine

HGT : Hôpital Gabriel Touré

HLA: Human Leucocyte Activator

HPG: Hôpital du Point G

HTLV: Human T Cell Leukemia Virus

Idv/r: Indinavir/ritonavir

IND: Indinavir

IgG: Immunoglobuline G

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

IgM: Immunoglobuline M

INNTI : Inhibiteur non-Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

INTI : Inhibiteur Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

IP: Inhibiteur de Protéase

LTR: Long Terminal Repeat

LTR/r: Lopinavir/Ritonavir

M0: Initiation = zéro mois

M6: Six mois

M12: Douze mois

M18: dix-huit mois

NASBA: Amplification à Base de Séquences d'acide nucléique

NFV: Nélfinavir

NK : Naturel killers

NVP: Névirapine

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

PCR : Polymerisation by Chain Reaction

PVVIH: Personne vivant avec le VIH

P18 : Protéine 18

P24 : Protéine 24

RGV: Raltegravir

RT : Reverse Transcriptase

RTV: Ritonavir

SIDA: Syndrome d'Immunodéficience Acquis

SM: Sikoro Mekin

TAR : Traitement Antirétroviral

TFC: Embicitabine

TFD: Ténéfovir

TPV: Tripranavir

TAR: Traitement Antirétroviral

STLV: Simian T cell Leukemia Virus

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine

VIScpz: Virus de l'immunodéficience Simien Chimpanzé

VISsm: Virus de l'immunodéficience Simien Mangabé

VISagn: Virus de l'immunodéficience Simien Singe vert

VISgor : Virus de l'immunodéficience Simien Gorille

3TC: Lamivudine,, WT : ARN du VIH-1 de type sauvage

SOMMAIRE

Pages

I- Introduction.....1

II- Objectifs.....4

1-Objectif général

2-Objectifs spécifiques

III- Généralises.....5

1-Historique

2- Définition

3- Taxonomie

4- Epidémiologie

5- Agent pathogène

6- Evolution de l'infection et Diagnostique

7- Suivi des sujets infectés

8- Traitements

IV- Méthodologie.....	43
1- Type d'étude	
2- Période d'étude	
3- Cadre d'étude	
4- Population d'étude	
5- Echantillonnage	
6- Taille de l'échantillon	
7- Déroulement de l'étude	
8- Collecte des données	
9- Matériels utilisés	
10- Aspect éthique et traitement des données	
V- Résultats.....	60
VI- Commentaires et Discussion.....	81
1- Approches méthodologiques	
2- Limites et les Forces de l'étude	
3- Les techniques de dosage	
4- Caractéristiques Socio-démographiques des patients	
5- Données sérologiques et thérapeutiques des patients à l'inclusion	
6- Données sérologiques et thérapeutiques des patients durant le suivi	
VII- Conclusion et Recommandations.....	89

VIII- Bibliographie.....92

IX- Annexes

I INTRODUCTION

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est une infection persistante qui induit après un nombre variable d'années un déficit profond de l'immunité cellulaire [1]. Cette phase ultime constitue le Syndrome d'Immunodéficience Acquis (SIDA) caractérisé par la survenue des complications infectieuses majeures qui constituent la principale cause de morbi-mortalité liée au VIH/SIDA [2].

L'infection à VIH est une pandémie mondiale et les pays en développement y payent le plus gros tribut. Ainsi s'explique la mobilisation à tous les échelons de la société, l'administration, les politiques et les prestataires de services. Chacun apporte sa pierre pour endiguer les effets dévastateurs de ce fléau. Dans de nombreuses régions du monde en développement, la majorité des personnes récemment infectées sont les adultes et les femmes qui constituent un groupe particulièrement vulnérable.

Le SIDA reste la principale cause de mortalité en Afrique et la 4^e dans le monde. [3]

En 2009, 1,8 millions de personnes sont décédées de maladies liées au virus du SIDA, ce chiffre est inférieur de près d'un cinquième à celui de 2,1 millions de 2004. À la fin 2009, l'ONUSIDA estimait à 33,3 millions le nombre de personnes vivant avec le VIH, chiffre légèrement supérieur à celui des 32,8 millions de 2008. Cela est essentiellement lié au fait que les gens vivent plus longtemps grâce à l'élargissement de l'accès au traitement antirétroviral. [4]

Au Mali comme partout dans le monde l'infection à VIH constitue un problème de santé publique. Avec une prévalence de 1.3% en 2007 selon les résultats de l'enquête démographique et de santé (EDS IV), le Mali pouvait être considéré au premier regard comme un pays à faible prévalence et la tranche de 30 à 34 ans était la plus touchée. [5]

L'introduction d'un traitement ARV implique sa poursuite pour une longue durée. Il convient alors de confronter les avantages et les inconvénients d'une exposition prolongée aux antirétroviraux, essentiellement les effets secondaires à long terme. Selon les recommandations du groupe d'experts de France [6], le début du traitement ARV dépend de la symptomatologie clinique et du nombre de lymphocyte TCD4. Ainsi, chez les patients symptomatiques (infection opportuniste majeure, affections de stade III, symptômes marqués ou récidivants de stade II de la classification CDC 1993), ou ayant moins de 350 lymphocytes TCD4/mm³, il est recommandé de débiter le traitement ARV sans délai. Chez les patients asymptomatiques, le traitement antirétroviral doit commencer dès que le nombre de lymphocyte TCD4 atteint 350/mm³.

Une fois le traitement antirétroviral initié, la prise en charge comporte non seulement l'évaluation de l'efficacité de celui-ci, essentiellement sur des marqueurs biologiques et virologiques, mais également la surveillance clinique des effets indésirables, l'accompagnement de l'observance et son optimisation.

De nombreuses études ont été menées dans les pays développés ainsi que dans certains pays Africains pour évaluer l'efficacité des multi-thérapies antirétrovirales [7], [8].

Le test de la charge virale plasmatique mesure la quantité d'ARN du VIH-1 dans le plasma. Cette mesure est un indicateur essentiel de la réplication du VIH. Le taux de TCD4 qui reflète l'état immunitaire. Ces deux examens permettent d'estimer le risque de progression de la maladie, de l'infection vers le SIDA ou de décès mais aussi l'évaluation de l'efficacité des thérapies anti-rétrovirales [9]. La réalisation de ces examens doit être systématique chez tous les patients VIH+.

En faveur de la gratuité des ARV et du bilan biologique au Mali, le suivi biologique correct des patients permet-il d'évaluer de l'efficacité des traitements antirétroviraux (TAR)?

II- OBJECTIFS

II-1. Objectif général :

Evaluer les réponses immunitaires et virologiques chez les patients sous TAR au laboratoire ALGI.

II-2. Objectifs spécifiques :

- Décrire les profils sociodémographiques des patients.
- Déterminer le profil évolutif du taux de lymphocyte TCD4+ et des valeurs de la charge virale plasmatique durant notre période d'étude.
- Déterminer la corrélation entre évolution des taux de lymphocytes TCD4+ et de la charge virale plasmatique en fonction du traitement.
- Déterminer le schéma thérapeutique de première ligne administré aux patients.

III- GENERALITES :

Le virus du SIDA fait partie de la sous famille des Orthoretrovirinae, genre lentivirus. Il s'agit d'un virus à ARN, contenu dans une capsidie protéique, entourée par une enveloppe.

1. Historique :

1-1. Dans le monde:

L'histoire du SIDA débute en Juin 1981 lorsque le « Centre for Disease Control » (CDC) d'Atlanta est informé de l'utilisation de la pentamidine dans les hôpitaux

de Los Angeles pour traiter cinq jeunes adultes atteints d'une forme particulièrement grave de pneumocystose pulmonaire. La survenue d'autres cas semblables chez des homosexuels et des toxicomanes aboutit à individualiser une nouvelle entité clinique, se manifestant par une altération de l'immunité cellulaire et donc s'appelée syndrome d'Immunodéficience Acquis (SIDA). L'épidémiologie a d'emblée suggéré une transmission par un agent pathogène présent dans le sang et les humeurs. L'hypothèse rétrovirale a très rapidement été avancée d'autant qu'il existait plusieurs modèles animaux de déficits immunitaires impliquant cette famille de virus et que le virus HTLV-I (Human T-cell Leucemia/lymphoma virus) venait d'être isolé chez des malades atteints de leucémies et de lymphomes T humains.

L'agent causal du SIDA est le virus HIV-1 (pour : Virus de l'Immunodéficience Humaine ; auparavant LAV/HTLVII) isolé pour la première fois par F Barré-Sinoussi et coll. à l'institut Pasteur en 1983 et par la suite aux Etats-Unis en 1984. Il est responsable de la pandémie actuelle. Un deuxième virus, appelé VIH-2, a été identifié en 1985 puis en 1986. Ce second virus est présent essentiellement en Afrique de l'Ouest et est également associé au SIDA. [10]

1-2. En Afrique :

Les premiers cas de SIDA ont été signalés en Afrique de l'Est au début des années 1980, dans la région des grands lacs en Ouganda et en Tanzanie. L'épidémie s'est progressivement étendue à l'Ouest et au Sud de l'Afrique. Globalement, si les pays d'Afrique de l'Est restent très touchés, la prévalence du VIH semble s'y stabiliser entre 2 et 7%, elle a même diminuée dans certains pays. Outre l'Ouganda, où la prévalence a diminué pour passer de 13% dans les années 1990 à 4% en fin 2003, elle s'est également infléchie dans les zones urbaines du Kenya et au Zimbabwe [11]. L'Afrique de l'Ouest reste la région la

moins touchée d'Afrique, avec des prévalences stables entre 2 et 5%, à l'exception de la Cote d'Ivoire où la prévalence atteint 10% chez les femmes enceintes. En revanche, l'Afrique Australe connaît des prévalences très élevées, supérieures à 20% dans les 5 pays (Afrique du Sud, Botswana, Lesotho, Namibie et Swaziland). L'évolution a été particulièrement rapide en Afrique du Sud, où la prévalence a augmenté en 10 ans pour passer de 1% dans les années 1990 à 19% en 2005 [11].

1-3 Au Mali

Le premier cas de Sida au Mali a été décrit en 1986 par le Pr. A. Guindo dans le service de gastro-entérologie de l'hôpital Gabriel Touré. [12]

Depuis cette période, les autorités du pays ont mis en place divers mécanismes de lutte contre le VIH et le Sida à travers la création de la cellule sectorielle de lutte contre le Sida et le du Haut Conseil de Lutte Contre le Sida. L'analyse de la situation effectuée dans le cadre de l'élaboration du plan de lutte contre le Sida 2001-2005 a permis d'estimer à au moins 130.000 le nombre de personnes vivant avec le VIH au Mali, selon le même plan de lutte on estime à 33.000 le nombre d'orphelins du Sida.

Enfin au 31 Mars 1999 le Mali a notifié 5.069. [13]

Le Mali s'est engagé résolument dans la lutte contre le VIH/sida à travers divers projets de prise en charge des personnes déclarées séropositives, par l'accès gratuit aux ARV depuis 2004 mais aussi un suivi biologique constant et régulier.

2. Définition : [14]

VIH = virus de l'immunodéficience humaine. Son nom correspond à son effet pathologique.

3. Taxonomie :

Règne : Virus

Groupe :GroupeVI

Famille : Retroviridae

Sous-famille : Orthoretrovirinae

Genre : Lentivirus

Espèce : on distingue deux types

- Le Virus de l'immunodéficience humaine type 1 (VIH-1)

- Le Virus de l'immunodéficience humaine type 2 (VIH-2).

4. Epidémiologie :

Le rapport annuel 2010 de l'ONUSIDA estime à 33,3 millions de personnes vivant avec le VIH actuellement dans le monde. Plus de 30 millions de personnes sont mortes du sida depuis sa découverte.

Une bonne nouvelle cependant le nombre de nouvelles infections annuelles continue à diminuer. Depuis une décennie, on constate en effet un recul de 19% du nombre de nouvelles infections, à 2,6 millions de personnes en 2009. Plusieurs facteurs se combinent pour atteindre ce résultat : meilleure information des populations, en dépit des attaques incessantes de certains groupes, notamment religieux, contre le port du préservatif par exemple ; meilleur accès aux traitements dans les pays les plus touchés, grâce à l'accroissement des dépenses de santé dans ce domaine. Comme toujours l'Afrique reste de loin le continent le plus touché, surtout l'Afrique subsaharienne, avec les deux tiers des personnes vivant avec le VIH, et les trois quarts des décès liés au sida. Le Swaziland reste le pays le plus touché, avec un taux record de 25,9% des adultes vivant avec le VIH.

C'est aussi en Afrique subsaharienne que le taux de prévalence a le plus diminué depuis 10 ans.

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

L'Asie est la deuxième région la plus touchée par l'épidémie, et certains pays sont très en retard et voient leur nombre de personnes infectées augmenter rapidement (Bangladesh), tandis que d'autres arrivent à contenir l'épidémie voire à la faire baisser d'intensité. L'Europe de l'est, notamment la Russie et l'Ukraine, est malheureusement en très forte croissance depuis 10 ans, alors que les mesures prises dans les autres pays du continent contiennent l'épidémie [4].

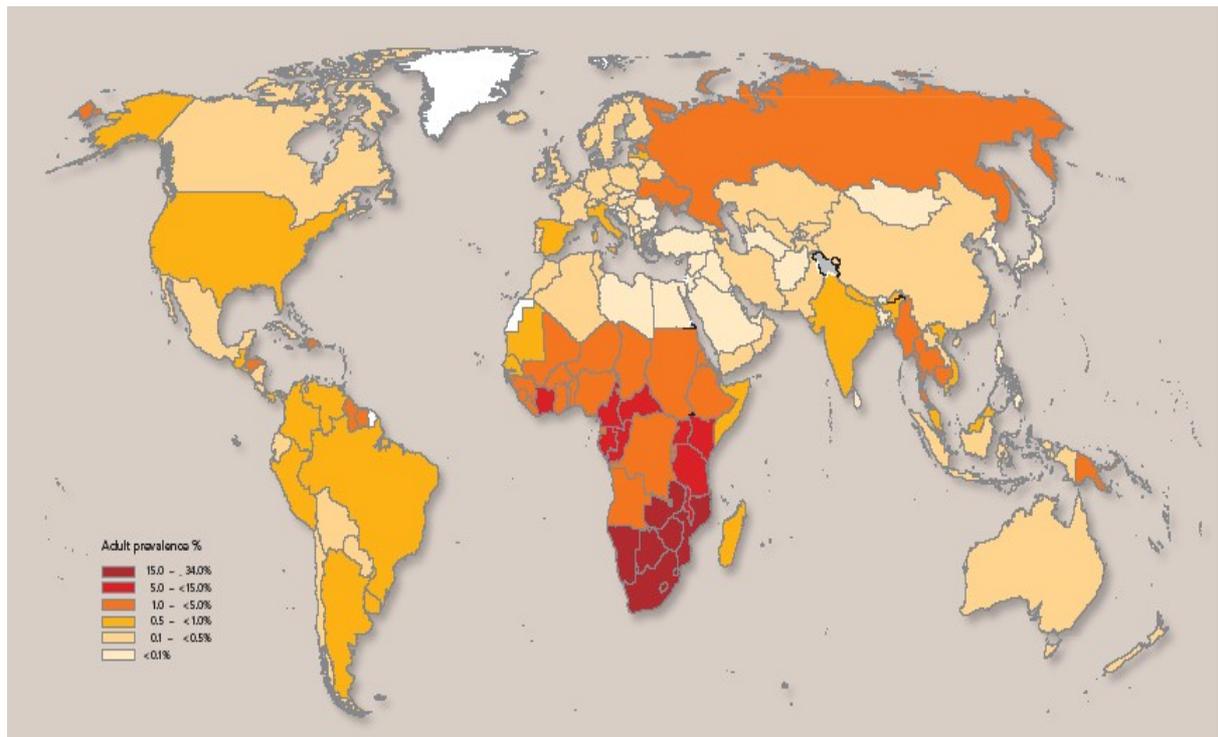


Fig.1 : L'infection à VIH dans le monde [16]

5 .Agent pathogène

5-1. Classification des rétrovirus [15] Les virus de l'immunodéficience humaine appartiennent à la famille des rétroviridae. Ces rétrovirus sont très largement répandus parmi les diverses espèces animales. Ils sont définis par leur mode de répliation. Le génome de ces virus est constitué de deux copies

d'ARN simple brin de polarité positive (environ 10kd) ; il est en effet transcrit en un brin bi-caténaire grâce à une enzyme contenue dans le virion et caractéristique de cette famille : la transcriptase inverse (ou RT du terme anglo-saxon reverse transcriptase). Les rétrovirus se présentent sous forme d'une particule sphérique d'un diamètre de 80 à 100 nm. La famille des rétrovirus [17] couvre toute particule virale possédant une transcriptase inverse. Leur pathogénie permet de distinguer trois sous familles

5-1-1. Les Oncovirus à ARN sont les rétrovirus les plus répandus. Ils sont associés à des tumeurs et à des leucémies. Les HTLV (humane T Cella Leukimia Virus) [18] identifiés à la fin des années 1970 chez des malades atteints de leucémie T ou lymphome cutané (HTLV-1) puis chez un patient présentant une leucémie à tricholeucocytes (HTLV-2) appartiennent à cette sous famille. Un autre virus proche du HTLV-2 a été isolé chez des chimpanzés bonobo et deux nouveaux membres de la famille HTLV dénommés HTLV-3 et HTLV-4 ont été identifiés récemment au Cameroun [19];

5-1-2. Les lentivirus : ce sont des virus qui provoquent des maladies à évolution lente (pneumonie, désordre neurologique) et qui sont cytopathogènes en culture. Les VIH (agents responsables du Sida) font partie de cette sous-famille [20]. Deux types de virus ont été identifiés à ce jour : Le VIH-1 répandu sur l'ensemble des continents et le VIH-2 présent surtout en Afrique de l'ouest. Des virus apparentés appelés le VIS (virus de l'immunodéficience simienne) ont été détectés chez plus de 30 espèces de singes en Afrique [21] [22];

5-1-3. Les Spumavirus : ce sont des virus identifiés chez de nombreux mammifères, mais ils ne sont associés à aucune pathologie connue chez l'homme et chez l'animal [15].

5-2. Types de VIH :

On distingue actuellement deux types de VIH : le VIH-1 et le VIH-2. Ces deux virus sont très proches (42% d'homologie au niveau de leur génome). Le VIH-1 est le plus répandu

5-3. Aspects structuraux :

5-3-1. Structure virale : Le virus se compose de :

- un matériel génétique (ARN) sous forme de deux molécules identiques associées à la transcriptase inverse (reverse transcriptase : RT) ;
- un core cylindrique composé d'une protéine de 24.000 daltons de Poids moléculaire (p24) ;
- une protéine de 18 daltons (p18) la protéine de la matrice, située entre le core et l'enveloppe ;
- l'enveloppe, émanation de la membrane cytoplasmique cellulaire, porte des glycoprotéines virales très importantes : la gp 41 en position transmembranaire et la gp110 ou gp120 à la surface du virus ; cette gp120 permettra la fixation du virus sur son récepteur cellulaire. [23]

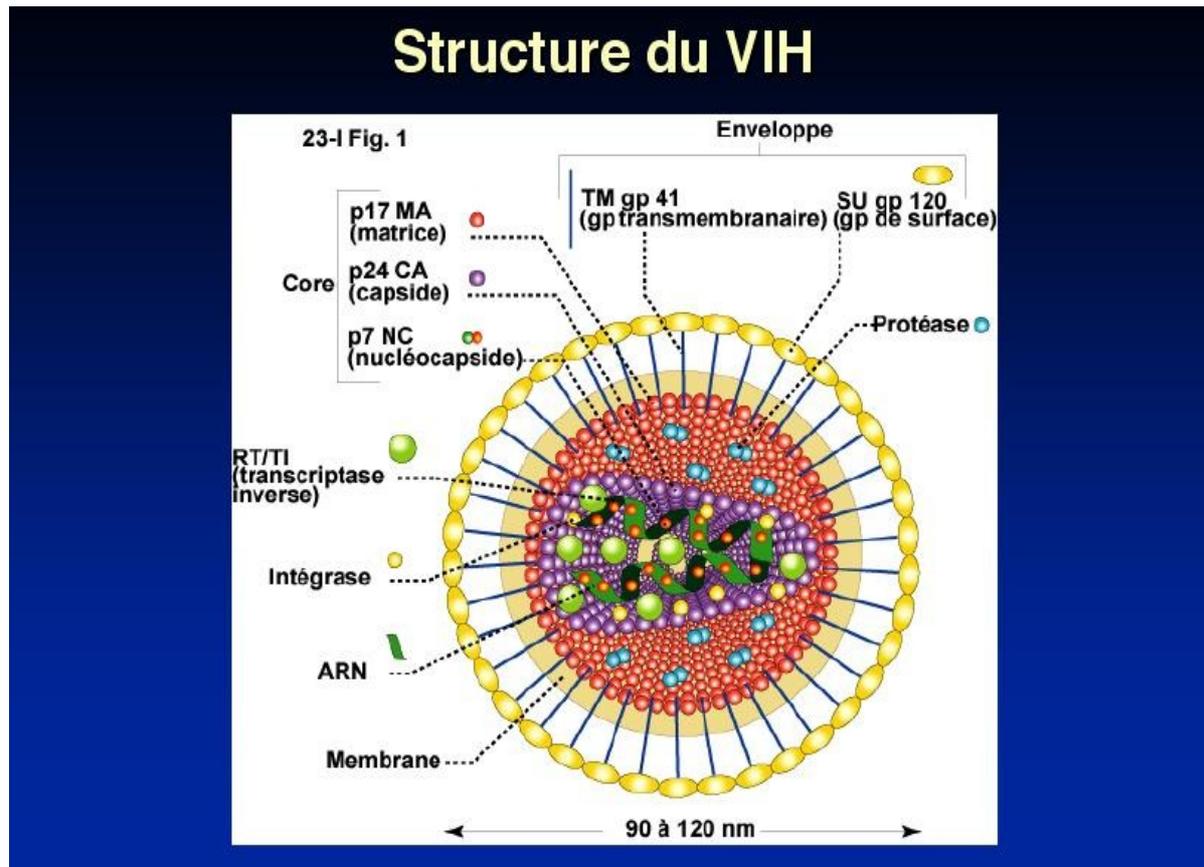


Fig. 2 : Structure du VIH. [24]

5-3-2. Génome viral :

Le génome du VIH se compose d'un ARN simple brin de 9181 nucléotides [24]. Il est constitué d'au moins trois régions, appelées *gag*, *pol* et *env* qui codent respectivement les protéines internes du virion, les enzymes nécessaires à la réplication virale et les protéines de surface de virion [17]. Une séquence de taille variable (Long Terminal Repeat ou LTR) est présente à chaque extrémité de l'ARN viral. Cette séquence permet l'intégration de l'ARN sous forme d'un provirus dans le génome de la cellule hôte et contient les éléments promoteurs nécessaires à l'expression des ces gènes. L'organisation du génome du VIH est très complexe car, outre les trois gènes rétroviraux classiques il existe deux régions particulières, situées entre les gènes *pol* et *env*, lesquelles contiennent au

moins six gènes viraux supplémentaires dénommés *tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpu* ou *vpx* et *nef*. Les protéines codées par ces gènes supplémentaires sont pour la plupart impliquées dans des phénomènes de régulation, d'expression des protéines virales et par là même de la multiplication du virus [22] [25]. Elles sont également capables de modifier l'expression de certains gènes cellulaires et donc de provoquer une altération du fonctionnement des cellules de l'immunité touchées par le virus.

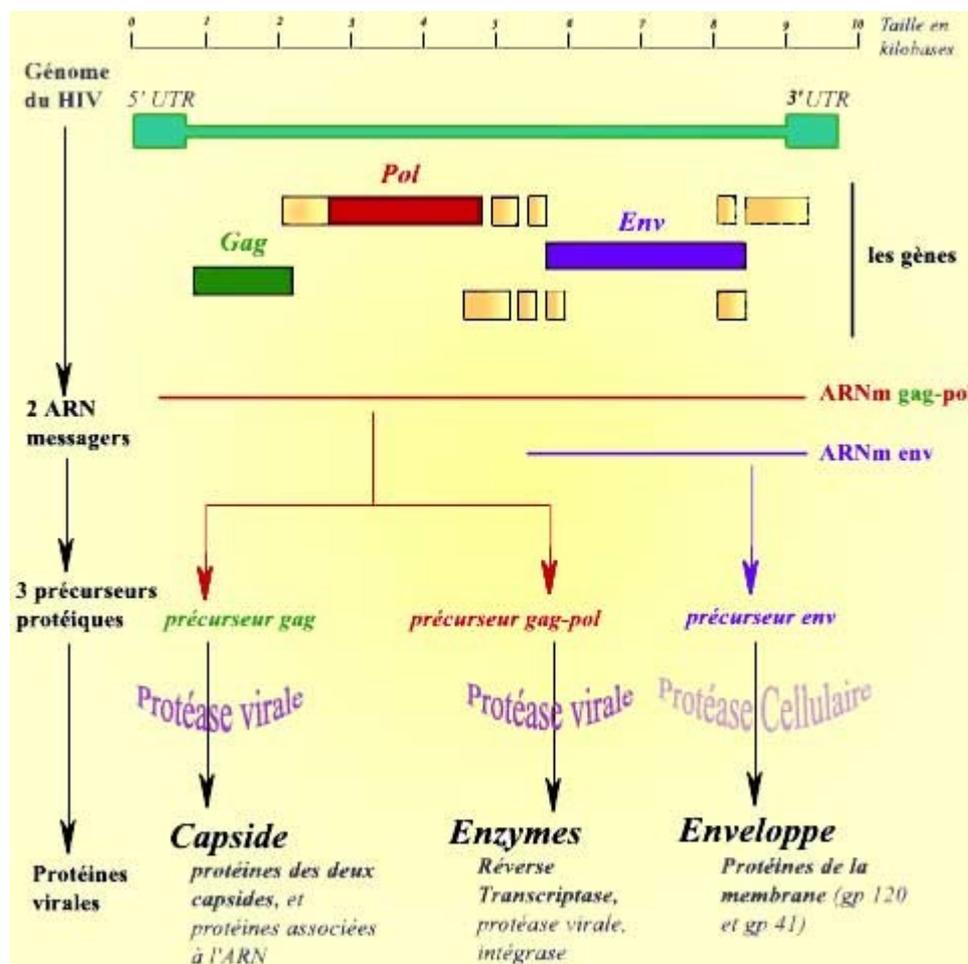


Fig.3 : Structure du génome viral de VIH [26]

5-3-3. Variabilité génétique : L'organisation génétique des VIH-1, VIH-2 et VIS est similaire [17], [27], [28]. Cependant, la présence de deux gènes de régulation (vpu et vpx) est variable au sein du génome des VIH/VIS.

On note trois profils distincts :

- Celui du VIH-1 et de son homologue chimpanzé (VIS cpz) avec vpu sans vpx ;
- Celui du VIH-2 et de son homologue VIS chez les mangabé (VIS sm) avec vpx sans vpu ;
- Autre SIV comme celui du singe vert (VIS agn) sans vpu et sans vpx.

L'analyse comparative précise des VIH/VIS a d'ailleurs révélé la proximité génétique entre le VIH-1, SIVcpz et le SIV du gorille (VIS gor) d'une part et entre le VIH-2 et le SIVsm d'autre part, ce qui consolide l'hypothèse d'une origine Simienne des VIH-1 et VIH-2. [21], [22]

Sur la base des distances génétiques les VIH-1 retrouvés chez les patients, une classification des VIH-1 en trois groupes distincts, appelés M, N, O, a été établie. Le groupe M (majoritaire) regroupe, jusqu'à, présent 9 sous-types (A-D, F-H, J et K). Le groupe O (Outlier), beaucoup plus rare a été identifié au Cameroun et au Gabon. [27]

5-4. Mode de transmission [26]

Le VIH peut être transmis de diverses manières, qui impliquent le contact avec différents liquides biologiques : le sang, les sécrétions génitales, le lait etc.

Transmissions par voie sexuelle: elle représente 70 à 80% des cas d'infection. Le virus est présent dans les sécrétions génitales et peut donc être transmis lors d'un rapport sexuel qu'il soit homosexuel ou hétérosexuel (la majorité des PVVIH en Afrique sont contaminées lors des rapports hétérosexuels). Certaines maladies sexuellement transmissibles et surtout la multiplication des partenaires (sans protection lors des rapports) favorisent cette transmission.

Transmission par le sang: le virus étant présent dans le sang, il peut être transmis lors de tout don non dépisté d'un individu à un autre, lors de pratiques toxicomanes (échange de seringues), lors de blessure avec un matériel infecté. Un dépistage systématique des poches de sang a permis de réduire la transmission par transfusion (risque résiduel estimé à 1/500000).

Transmission materno-fœtale: le virus est capable de traverser la barrière hémato-placentaire et ainsi de contaminer in utero le fœtus. Le cas le plus fréquent semble être toutefois l'accouchement. De plus, le virus se retrouve dans le lait maternel d'où une contamination lors de l'allaitement (cas fréquent surtout en Afrique). Sans le traitement le VIH-1 se transmet dans 15 à 20% des cas de la mère à l'enfant (30% si allaitement). Le VIH-2 ne se transmet lui qu'à 2%. Avec un traitement préventif, le taux de transmission du VIH-1 a baissé d'au moins 8% (en Europe moins de 2%). [15]

5-5. Cycle du VIH [26]

Le VIH est présent dans le sang est capable de se fixer à des cellules particulières du système immunitaire : les lymphocytes CD4. Ces lymphocytes sont ainsi nommés car ils sont porteurs de la protéine transmembraire CD4. La fixation du virus à ces cellules fait intervenir la glycoprotéine gp120 du virus, ainsi que d'autres protéines membranaires (les co-récepteurs). A partir de cette fixation, le matériel génétique du VIH peut pénétrer dans le lymphocyte. Une fois dans le cytoplasme, l'ARN du virus est rétro-transcrit en ADN double brin. Cet ADN pénètre dans le noyau, et s'intègre au génome de la cellule hôte. L'expression des gènes du virus permet alors la fabrication des protéines du virus. Assemblées, elles permettent la formation de nouveaux virions, qui bourgeonnent dans la cellule, en s'entourant au passage d'une membrane (héritée

de la cellule infectée). Ceci permet la libération de nouveaux virus dans le sang de l'organisme infecté.

Il est à noter que l'expression du génome viral se réalise grâce à la machinerie de transcription (puis de traduction) de la cellule infectée.

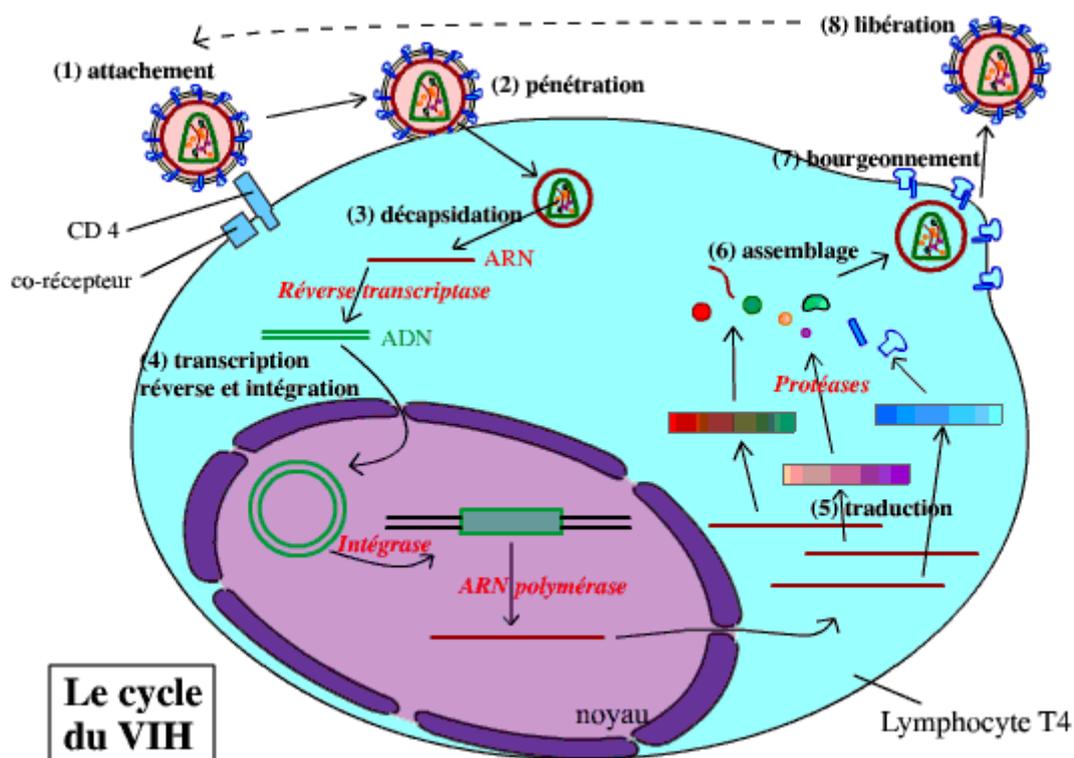


Fig.4: Cycle de réplication du VIH. [26]

Légende

(1) attachement : Le virus se fixe sur le lymphocyte CD4, par reconnaissance entre la protéine virale gp120 et la protéine CD4 du lymphocyte (ainsi qu'un co-récepteur).

(2) pénétration : Les deux membranes (du virus et du lymphocyte) fusionnent, ce qui permet la pénétration de la nucléocapside du virus dans le cytoplasme

(3) décapsidation : Les deux capsides se dissocient, libérant l'ARN viral dans le cytoplasme.

(4) reverse transcription et intégration : Grâce à la reverse transcriptase virale, l'ARN viral est rétro-transcrit en ADN double brin. Cet ADN pénètre dans le noyau, où il s'intègre au génome du lymphocyte. Il est ensuite transcrit en ARN.

(5) traduction : Après avoir été précurseurs transcrits par l'ARN polymérase de la cellule, les ARN messagers viraux sont traduits en trois précurseurs protéiques. Ces précurseurs sont clivés par des protéases, pour donner les différentes protéines du virus.

(6) assemblage : Les protéines virales et l'ARN viral (transcrit par ailleurs) sont associées pour reformer des virus (sans la membrane). Les protéines virales membranaires sont intégrées à la membrane du lymphocyte.

(7) bourgeonnement : Le virus bourgeonne, emportant un fragment de la membrane plasmique du lymphocyte (qui contient uniquement les protéines membranaires virales).

(8) libération : Les nouveaux virus sont libérés. Ils peuvent infecter de nouveaux lymphocytes CD4.

6. Evolution de l'infection et diagnostique

6-1 Evolution de l'infection [26]

On distingue 3 phases lors d'une infection par le VIH :

6-1-1.La primo-infection: juste après la contamination par le VIH, le nombre de virus présent dans le sang (charge virale) augmente fortement, puis diminue rapidement du fait de la réponse du système immunitaire ;

6-1-2.La phase asymptomatique : l'individu atteint ne présente aucun symptôme de la maladie, et le nombre de virus n'augmente que très légèrement ;

mais le nombre de variants augmente fortement. Malgré le contrôle de la maladie par le système immunitaire, les lymphocytes T sont détruits par le virus ;

6-1-3. La phase symptomatique : le système immunitaire est débordé ; le nombre de virus augmente fortement (mais le nombre de variant se limite aux plus efficaces) ; les symptômes apparaissent c'est la phase Sida.

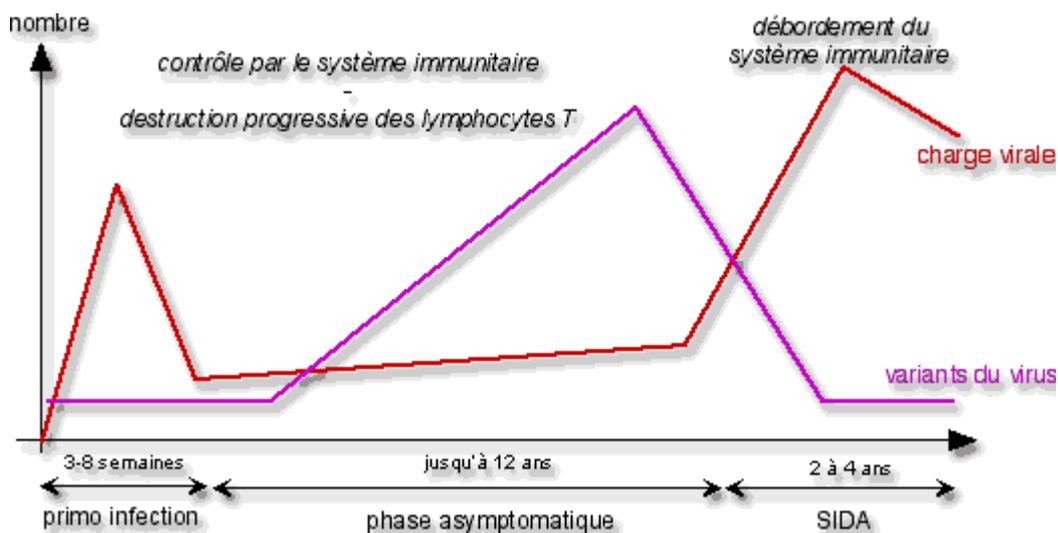


Fig.5 Evolution de l'infection par le VIH. [26]

6-2. Diagnostic.

6 2-1 Diagnostic cliniques :

Les premiers symptômes surviennent le plus souvent 10 à 15 jours après la contamination (extrême : 5-30 jours) [29], [30]. Ils sont peu spécifiques et réalisent un syndrome pseudo grippal. La fièvre est présente dans 90% des cas. Les autres symptômes les plus fréquents sont la dysphasie, les céphalées, les myalgies, l'asthénie et l'amaigrissement [29], [30], [31]. Si de nombreuses manifestations cliniques peuvent accompagner ce syndrome, les signes cliniques relevés le plus fréquemment sont cutaneo-muqueux, ganglions, troubles digestifs et neurologiques.

Classification de l’OMS de l’infection du VIH/sida de l’adulte révisée en 2006 [15].

6-2-1-1.Stade I :

Asymptomatique ; Lymphoadénopathie

6-2-1-2.Stade II :

- Perte de poids $< 10\%$ du poids corporel ;
- Manifestations cutanéomuqueuses mineures (dermatite séborrhée, prurigo, ulcérations buccales récidivantes, perlèche) ;
- Zona au cours des 5 dernières années ;
- Infection des voies respiratoires récidivantes.

6-2-1-3.Stade III

- Perte de poids $> 10\%$ du poids corporel ;
- Diarrhée chronique inexpliquée > 1 mois ;
- Fièvre prolongée inexpliquée > 1 mois ;
- Candidoses buccales persistantes ;
- Leucoplasie chevelue de la langue ;
- Tuberculose pulmonaire au cours de l’année ;
- Infections bactériennes sévères (pneumonie, tuberculose ganglionnaire) anémie inexpliquée (Taux hg $< 8\text{g/dl}$) neutropénie et/ou thrombopénie chronique.

6-2-1-4.Stade VI

- Syndrome cachectique lié au VIH ; Pneumocystose à pneumocystis jirovecii ;
- Toxoplasmose cérébrale ;
- Cryptosporidiose ou isosporidiose avec diarrhée > 1 mois ;

>
-Infection à herpes virus simplexe virus cutanéomuqueuse 1 mois, ou atteinte viscérale ;

- Mycoses disséminées (hisplasnose, coccidioidomycose, etc.) ;
- Septicémie récidivante (incluant les salmonelles non typhiques) ;
- Encéphalopathie VIH ; Sarcome de kaposi ;
- Cardiopathie ou néphropathie associées au VIH symptomatique.

6-2-2. Diagnostic indirect :

6-2-2-1. Tests de dépistages :

La détection des anticorps anti-VIH repose sur la réalisation et la visualisation d'une réaction antigène-anticorps entre les anticorps sériques du sujet infecté et les antigènes viraux produits en laboratoire. La détection des anticorps dans d'autres liquides biologiques tels que les urines ou la salive a été proposée mais l'utilisation du sérum reste la méthode de référence.

Les méthodes de références pour la visualisation de la réaction antigène-anticorps sont actuellement les méthodes immunologiques de types ELISA. La méthode ELISA demande seulement quelques heures, donne des résultats reproductibles et est automatisable. Selon les antigènes utilisés et les particularités techniques de la réaction on distingue des ELISA de première, deuxième, troisième et quatrième génération. Les tests sérologiques de première et deuxième génération ne mettent en évidence que des anticorps de la classe des IgG. Ceux de troisième génération, qui constituent la majorité des tests utilisés actuellement en routine, détectent les IgM et les IgG.

Une nouvelle catégorie de tests dits de quatrième génération apparue en 1997 est largement utilisée. Ces trousse permettent la détection combinée de la protéine p24 du VIH-1 et des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 de type IgM et IgG.

Par ailleurs, des tests dits rapides avec une réponse en quelques minutes sont aussi disponibles et facilement réalisables sans appareillage sophistiqué : les résultats sont obtenus plus rapidement qu'en ELISA classique par lecture classique. Si ces tests sont performants pour dépister les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 au cours de la phase chronique de l'infection, ils n'offrent cependant pas le même niveau de sensibilité que les tests de troisième et quatrième génération au cours de la primo- infection.

6-2-2-2. Tests sérologiques de confirmation :

La technique de référence est le Western-blot, où les protéines virales sont séparées par électrophorèse avant d'être transférées sur une membrane de nitrocellulose [15].

6-2-3. Diagnostic Direct :

Il est caractérisé par :

- La détection de l'antigène p24 : Les antigènes viraux circulants correspondent aux particules et aux protéines virales libres. Les méthodes ELISA commercialisées détectent essentiellement la protéine p24 du VIH-1 ; même si des réactivités croisées avec la protéine p26 du VIH-2 sont parfois observées. La positivité de la réaction doit être confirmée par un test de neutralisation qui inhibe spécifiquement la détection de l'antigène et permet ainsi d'exclure un possible faux positif. La recherche de l'antigène p24 dans le sérum est aujourd'hui pratiquée en cas de suspicion de primo-infection. Elle est associée à celle des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 dans les tests de dépistage de quatrième génération. Cette méthode est de moins en moins utilisée. [15]

- L'isolement du VIH en culture de cellules ;

- Les détections des acides nucléiques viraux ;

- La quantification virale et

- La caractérisation phénotypique et génotypique des isolats viraux.

6-2-4. Diagnostic de l'infection VIH

6-2-4-1. Cas général de l'adulte

Depuis avril 2003, la procédure du diagnostic sérologique à pratiquer en première intention a été modifiée [32]. Sur le sérum du sujet suspect d'infection sont pratiqués deux tests de dépistage de type ELISA (ou un test ELISA et un test rapide) détectant les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2.

Si le résultat est doublement négatif, on peut affirmer l'absence de séroconversion vis-à-vis du VIH, et donc sauf dans le cas d'une forte suspicion de primo-infection très ressentie, l'absence d'infection par le virus ;

Si le résultat est dissocié ou doublement positif, on a recourt au western-blot ou à un immun-blot comme test de confirmation sur le même prélèvement.

La présence sur le western-blot de bandes correspondant aux protéines du VIH-1 et remplissant les critères de positivité ne permet pas de poser le diagnostic d'infection VIH qu'après avoir vérifié la positivité des tests de dépistage sur un nouveau prélèvement. La présence sur le Western-blot de bandes ne remplissant pas les critères de positivité définit un Western-blot indéterminé. Celui-ci peut traduire une séroconversion VIH-1 en cours, une infection à VIH-2 avec des anticorps donnant des réactions croisées ou une réactivité non spécifique vis-à-vis de certaines protéines virales. Il est alors important de faire un western-blot VIH-2 et de refaire un Western-blot VIH-1 ou VIH-2 après quelques semaines ; si le Western-blot reste indéterminé ou se négative, le diagnostic d'infection est exclu.

Dans les pays en développement, les contraintes économiques et techniques imposent de diminuer au maximum ces tests de confirmations. On a proposé dans ce cas des stratégies alternatives associant la pratique séquentielle de deux ou trois tests ELISA de spécificités distinctes.

6-2-4-2. Cas d'un enfant néé de mère séropositive

Les anticorps maternels transmis persistent pendant une grande partie de la première année de vie, rendant donc le diagnostic sérologique d'une éventuelle infection chez l'enfant très difficile pendant cette période. La diminution globale chez les enfants non infectés, ou au contraire, la réapparition de certains anticorps chez les enfants infectés ne peut être affirmée de façon nette qu'après 18 mois de surveillance.

Le diagnostic direct de détection du virus est dans ce cas l'approche la plus pertinente.

L'isolement et l'amplification génique offrent des performances comparables et complémentaires, permettant de déceler dans la majorité des cas l'infection dans le premier trimestre de la vie et souvent dès la naissance. En pratique, la recherche du virus par les techniques moléculaires est la technique la plus couramment utilisée (PCR ADN à partir de cellules sanguine ou PCR ARN plasmatique). Elle est effectuée à la naissance puis 1, 3 et 6 mois d'âge de l'enfant. Pour confirmer qu'un enfant n'est pas infecté, il faut deux prélèvements négatifs après l'âge d'un mois en absence d'un traitement antirétroviral, ou hors période de traitement s'il y a eu traitement préventif de la transmission virale. Pour confirmer qu'un enfant est infecté, il faudrait deux prélèvements positifs.

Un résultat positif à la naissance est en faveur d'une infection in utéro ;

Un résultat plus tardivement positif est en faveur d'une infection acquise au moment de l'accouchement. En cas d'allaitement maternel, il est nécessaire de faire la détection du virus dans les trois mois qui suivent l'arrêt définitif de l'allaitement.

En ce qui concerne le VIH-2, seules les techniques de PCR-ADN peuvent être utilisées pour le diagnostic de l'infection chez l'enfant, car la PCR ARN-VIH2 n'a pas été validée dans ce contexte.

Au delà de 18 mois, les techniques sérologiques peuvent être utilisées selon le même algorithme que celui utilisé pour le diagnostic de l'infection chez l'adulte.

[15]

6-2-5 AUTRES MARQUEURS BIOLOGIQUES DE L'INFECTION A VIH

[33]

- Le dosage pondéral des immunoglobulines : Il existe un risque évolutif si IgG >17g/l, et surtout si IgA > 4g/l.
- Le dosage du taux sérique d'interféron alpha acide labile : ce taux varie dans le sens d'une augmentation au cours de l'infection à VIH.
- Le calcul de l'affinité des récepteurs érythrocytaires à la fraction C3b du complément : on observe une diminution des récepteurs au cours de l'ARC, et surtout au cours du SIDA.
- Diminution des lymphocytes « Natural Killers » (NK).
- Apparition d'auto anticorps.
- Présence de certains types d'HLA.

7. Suivi des sujets infectés

7-1. Valeur pronostique de la quantification virale :

En parallèle avec la numération des lymphocytes CD4 circulants, de nombreux marqueurs virologiques ont été proposés pour prédire l'évolution de l'infection à

VIH, parmi lesquels la disparition des anticorps anti- p24, l'apparition d'une antigénémie p24, la positivité de la virémie plasmatique, une charge virale élevée et l'apparition d'isolats de type SI. Les données des études de cohortes ont montrées que la quantification de l'ARN plasmatique viral (charge virale) était le marqueur le plus pertinent [34], [35]. Sa valeur est étroitement corrélée à la dégradation ultérieure du système immunitaire. Plus la charge est élevée, plus rapide est la baisse des lymphocytes CD4. Un groupe de sujets ayant une charge virale basse, a ainsi un risque moins élevé d'évoluer rapidement vers le sida qu'un groupe ayant une charge virale élevée. Ces résultats ont conduit à proposer le suivi régulier de la charge virale chez des patients non traités à raison de deux mesures par an [36]. Cependant, le pronostic de la charge virale plasmatique à l'instauration du traitement tend à s'effacer devant celle des lymphocytes CD4 lorsqu'elle est inférieure à 100.000 copies/ml [37]. Actuellement en France, la mise sous traitement antirétroviral est recommandée lorsque les patients sont asymptomatiques ou ont un taux de CD4 inférieur à 200/mm³ quelle que soit la charge virale [36]. Lorsque le nombre de lymphocytes est compris entre 200 et 350mm³, la mise sous traitement est à discuter, notamment si la charge virale est élevée supérieure à 100.000 copies/ml. Lorsque le nombre de TCD4+ est supérieur à 350/mm³ le traitement n'est pas recommandé sauf cas particulier. D'autres approches à visées, pronostiques concernent la détection et la quantification du virus dans certains compartiments de l'organisme, tels que le système nerveux central, afin de mieux prévoir la survenue d'atteintes organiques dans ce compartiment. Comme pour l'étude du tissu lymphoïde, les procédures sont actuellement moins bien standardisées que la mesure de la charge virale plasmatique et la pertinence de cette approche n'ont pas été clairement démontrées. En particulier, les résultats

concernant la relation entre la quantité de virus dans le liquide céphalorachidien et la survenue d'une encéphalopathie à VIH sont très discutés. [15]

7-2. Evolution du déficit en lymphocyte TCD4 :

La lymphopénie TCD4 apparaît très schématiquement en quatre phases [38], [39].

- La première phase suivant la primo-infection est caractérisée par une chute rapide, transitoire et relative des lymphocytes TCD4 circulants, habituellement à la limite supérieure de la normale. Néanmoins, une lymphopénie absolue entre 500 et 200 lymphocytes TCD4/mm³ peut, dans 2% des cas, persister et aboutir au développement rapide d'un SIDA, définissant le cadre des patients progressseurs vers le sida à court terme. Cette évolution d'un seul tenant vers le SIDA pourrait être liée à la sévérité de la primo-infection où à un dysfonctionnement préalable.
- La deuxième phase d'une durée variable (de quelques mois à plus de 10 ans), se caractérise par une lente diminution du taux de TCD4 en dessous des limites supérieures à la normale, entre 500 et 350/mm³. L'absence de déplétion TCD4 et de progression clinique à long terme (>8mois) définit le statut d'asymptomatique ou de non-progressseur à long terme, rare observé dans 5% des infections à VIH. Cette « non-progression à long terme » semble refléter les capacités de résistance de l'hôte à l'infection : résistance peut-être d'origine génétique puisque plusieurs mutations hétérozygotes des gènes chémorécepteurs sont observés chez ces sujets, mais aussi résistance immune puisque l'on peut détecter, chez ces sujets, des taux importants de CTL et lymphocytes Th1 anti-VIH. [40], [41], [42]
- La troisième phase est caractérisée par un brusque infléchissement de la pente de déplétion des cellules TCD4: 50% des sujets avec un taux de

cellules compris entre 200 et 350/mm³ atteignent un taux de 200 TCD4/mm³ en 24 à 30 mois, taux précédant de 6 à 18 mois la survenue du SIDA.

- La quatrième phase est marquée par la poursuite du déclin rapide des lymphocytes TCD4 circulants, jusqu'à la disparition complète des lymphocytes TCD4.

7-3. Les sous-populations lymphocytaires :

Normalement, il y a 1500 à 4000 lymphocytes ; dont 70% sont des lymphocytes T. Parmi ces derniers, on compte environ 60% de lymphocyte TCD4, et 40% de lymphocyte TCD8. Ainsi, le taux de lymphocyte TCD4 normal se situe entre 600 et 1 200/mm³ [43].

Quelques jours ou quelques semaines après la contamination par le VIH, on peut observer une augmentation du nombre absolu des lymphocytes TCD8 (suppresseurs ou cytotoxiques), comme pour toute autre affection virale.

Au cours de l'infection à VIH, la diminution des lymphocytes TCD4, soit sous la forme du rapport TCD4/TCD8, soit en valeur absolue, et surtout en valeur relative (pourcentage), est un risque d'évolutivité en dessous de 200/mm³ ou 15% ; ils existent néanmoins quelques exceptions bien que rares.

La valeur prédictive de ce marqueur pourrait être différente, selon les stades et les groupes à risque. Ainsi, le taux de répllication virale est bien corrélé aux TCD4 lors des stades précoces ; cette corrélation est moins bonne lorsque TCD4 < 100/mm³.

Egalement, l'écart entre le prélèvement et le dosage entre en jeu, car effectué à distance, il donne des taux de TCD4 minorés. On peut également noter dans les formes avancées une baisse des lymphocytes totaux et des lymphocytes TCD8 [44].

8. Traitements :

Les antirétroviraux constituent l'arsenal thérapeutique contre le VIH, qui s'étoffe progressivement. Une vingtaine de médicaments antirétroviraux étaient disponibles en 2006 et avaient pour but d'interférer dans différents mécanismes d'une part, les enzymes du VIH nécessaires à sa réplication et d'autre part, ses mécanismes d'entrée dans la cellule.

Grâce à la [trithérapie](#) utilisée depuis 1996, la [mortalité](#) due au Sida a chuté de façon significative, partout où ces nouveaux traitements étaient disponibles [45], [46], [47]. C'est ainsi qu'aux États-Unis, l'utilisation à grande échelle de la trithérapie a fait passer le nombre de décès chaque année de 49 000 en 1995 à environ 9 000 en 2001. [47]

Ces médicaments peuvent avoir des effets secondaires passagers ou permanents, qui peuvent conduire à l'arrêt ou surtout la modification du traitement, sachant que correctement suivis ils ont une efficacité relativement importante.

8-1. Classification des antirétroviraux suivant leur domaine d'action :_

8-1-1. Inhibiteurs de la transcriptase inverse :

Les inhibiteurs de la transcriptase inverse empêchent la synthèse d'ADN pro viral (c'est-à-dire qui va permettre la duplication du virus) à partir de l'ARN viral. On trouve dans cette classe :

8-1-1-1 .Les Inhibiteurs nucléosidiques (INTI)

Les [INTI](#) ont constitués la première classe d'antirétroviraux mise sur le marché en 1985. Ils comprennent la [Zidovudine](#) (AZT), la [Didanosine](#) (DDI), la [Zalcitabine](#) (DDC), la [Stavudine](#) (D4T), la [Lamivudine](#) (3TC) 1989 et utilisée à partir de 1995, l'[Abacavir](#) (ABC), et [Emtricitabine](#) (TFC). Le [Racivir](#),

l'Amdoxovir, l'Apriciabine et l'Elvucitabine sont des molécules en cours d'essais cliniques. [48]

Les mutations du génome à cause de la transcriptase inverse confèrent au VIH une résistance aux INTI, qui peut être croisée entre plusieurs INTI. Ces composés sont tous neutres ou réducteurs, à l'exception de l'AZT qui est un oxydant.

8-1-1-2. Les Analogues nucléotidiques

Les **analogues nucléotidiques** comme le **Ténofovir** (TFD) ont été mis sur le marché en 2002, ce sont des composés organophosphorés.

8-1-1-3. Les Inhibiteurs non nucléosidiques (INNTI)

Les INNTI sont des inhibiteurs puissants et très sélectifs de la transcriptase inverse du VIH. On trouve dans cette classe la Nevirapine (NVP), l'Efavirenz (EFV), Etravirine et Rilpivirine sont en cours d'essai clinique. Les INNTI ne sont actifs que sur les VIH-1 et inactifs sur le VIH-2 ; ils sont métabolisés en phénols par oxydation.

8-1-2. Les Inhibiteurs de la protéase

La classe des inhibiteurs des protéases (IP) est une classe d'antirétroviraux mise sur le marché en 1996. Elle a constitué un tournant majeur dans les stratégies thérapeutiques contre le virus de l'immunodéficience humaine. Ils agissent en inhibant l'action de la protéase virale, qui permet le découpage et l'assemblage des protéines virales, processus indispensable à l'obtention de virus infectieux. On obtient alors des **virions** incapables d'infecter de nouvelles cellules. Les IP sont actifs sur le VIH-1 et le VIH-2, et ne créent pas de résistance croisée avec les INTI ou les INNTI. On a l'Amprénavir (APV), la Tipranavir (TPV),

Indinavir (IND), Ritonavir (RTV), Darunavir (DRV), Nelfinavir (NFV) et Lopinavir. [48]

8-1-3. Inhibiteurs d'intégrase

Ces inhibiteurs bloquent l'action de l'intégrase et empêchent ainsi le génome viral de se lier à celui de la cellule cible.

Il en existe deux : le [Raltégravir](#) (RGV) et l'[Elvitegravir](#) (EVG). [48]

8-1-4. Inhibiteurs de fusion

Les inhibiteurs de fusion-lyse interviennent au début du cycle de réplication du VIH, en bloquant les protéines de surface du VIH ou en perturbant les co-récepteurs des cellules ciblées par le VIH.

Plusieurs produits étaient à l'étude et en 2009, seuls l'[Enfuvirtide](#) (ENF) et le [Maraviroc](#) ont reçu une [autorisation de mise sur le marché](#).

8-2. Choix thérapeutique

Depuis le début des années 1990 différentes trithérapies ont vu le jour, pouvant être prescrites en fonction du stade clinique, du taux de lymphocyte et de la charge virale. Ce traitement antirétroviral comprend actuellement trois médicaments, en général deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, associés à un inhibiteur des lymphocytes TCD4 et de la protéase ou à un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse, ou parfois à un troisième inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse (trithérapies). Un inhibiteur de fusion y est éventuellement associé.

Il n'y a pas de critère précis pour tous les patients fixant le début d'un traitement antirétroviral : cette décision doit être adaptée à chaque patient. Il existe tout de même quelques critères basés sur le nombre de lymphocyte TCD4. Ainsi lorsqu'un séropositif a un taux de lymphocyte TCD4 supérieur à $350/\text{mm}^3$, il n'est pas nécessaire de commencer un traitement. Mais sous la barre des

200/mm³, il est impératif de commencer un traitement. Le nombre de lymphocyte TCD4 par rapport au nombre total de lymphocyte est également un critère. Ainsi lorsque les lymphocytes TCD4 représentent moins de 15 % de tous les lymphocytes, un risque d'infection par des maladies opportunistes apparaît [49].

Lors d'un premier traitement, la quasi-totalité des patients voient leur charge virale plasmatique rendue indétectable dans les six premiers mois. Ce premier traitement doit être le plus simple et le mieux toléré possible. C'est la non-observance du traitement qui est la principale cause de l'échec thérapeutique [50].

Bien que les traitements antirétroviraux soient très efficaces lorsqu'ils sont bien suivis, le VIH est toujours présent dans l'organisme. Seule sa multiplication est ralentie et bien qu'indétectable dans le sang, ce dernier ainsi que le sperme restent contagieux. [51]

8-3. Traitement antirétroviral selon le protocole de prise en charge National du Mali [52]

L'objectif du traitement ARV est de rendre la charge virale indétectable et au mieux restaurer l'immunité, permettant d'augmenter la durée et la qualité de vie des patients.

C'est un traitement à vie, qui nécessite une excellente observance de la part des patients et un suivi régulier de la part du personnel soignant. Le traitement ARV est une trithérapie associant généralement deux INTI à un INNTI ou à un IP. Les combinaisons thérapeutiques fixes doivent être privilégiées pour favoriser l'observance et diminuer le coût de la prise en charge pour les pays en développement. Les molécules utilisées doivent figurer sur la liste des

médicaments essentiels du Mali et seront nécessairement pré-qualifiées par l'OMS et une qualification nationale.

8-3-1. Schéma thérapeutique : [53]

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

8-3-2. Schéma de première ligne pour le VIH 1 :

Il associe un INTI et un INNTI.

Les régimes préférentiels de première intention sont les suivants :

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

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

Tenefovir (TFD) + Emtricitabine (FTC) + Efavirenz (EFV)

Les régimes alternatifs suivants sont possibles :

Stavudine (D4T) + Lamivudine (3TC) + Nevirapine (NVP),

Stavudine (D4T) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV),

Tenefovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Nevirapine (NVP),

Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV),

Tenefovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV).

Ils seront utilisés en cas de contre indication ou de toxicité a une ou plusieurs molécules du schéma préférentiel de première ligne. La molécule incriminée sera ainsi remplacée selon différentes modalités en tenant compte de la sévérité des effets secondaires.

8-3-2-1. Cas des patients ayant déjà reçu un traitement antirétroviral :

Certains patients qui ont reçu un traitement ARV dans le passé mais l'ont interrompu pourraient se représenter dans les structures de santé. Une prise en charge effective leur sera assurée afin de leur proposer le meilleur traitement. S'il n'y a pas de suspicion de résistance aux ARV, le traitement initialement reçu pourra être reconduit. S'il y a suspicion de résistance, il faut la considérer comme un échec thérapeutique et proposer un schéma de deuxième ligne.

8-3-2-2. Prise en charge des patients infectés par le VIH2 ou co-infection VIH-1/VIH-2 (ou patients infectés par le VIH 1 du sous groupe O) :

Le choix thérapeutique doit exclure les INNTI qui ne sont efficaces que sur le VIH-1 excepté en plus du groupe O. On utilisera les schémas thérapeutiques associant des INTI à un IP ou 3 INNTI.

Le traitement de première ligne préférentiel est le suivant :

Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Lopinavir/Ritonavir (LTR/r)

Les schémas thérapeutiques alternatifs en cas de toxicité, d'intolérance ou d'interaction médicamenteuse sont les suivants :

Zidovudine (AZT)+Lamivudine (3TC)+ Indinavir/Ritonavir (IDV/r) ;

Stavudine (D4T)+Lamivudine (3TC)+ Lopinavir/Ritonavir (IDV/r) ; Abacavir (ABC) +Lamivudine (3TC) + Lopinavir/Ritonavir (IDV/r) ;

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

8-4. Toxicité : Tableaux I : Toxicité des antirétroviraux de première ligne et substitutions recommandées par l'OMS

ARV de 1 ^{ère} ligne	Toxicité la plus fréquente	Substitutions
ABC	Réaction d'hypersensibilité	AZT ou TDF ou D4T
AZT	Anémie sévère ou neutropénie < 500/mm ³	TDF ou D4T ou ABC
	Intolérance gastro-intestinale sévère	D4T ou ABC

	Acidose lactique	TDF ou ABC
D4T	Acidose lactique	TDF ou ABC
	Néphropathie périphérique	
	Pancréatite	TDF ou D4T ou ABC
	Lipoatrophie/syndrome métabolique	TDF ou ABC
TDF	Toxicité rénale	AZT ou TDF ou ABC
EFV	Toxicité du SNC persistante sévère	NVP ou ABC
	Téatogénicité (femme du premier trimestre ou en âge de procréer sans contraception adéquate)	NVP ou ABC
NVP	Hépatite	EFV ou ABC
	Réaction d'hypersensibilité	
	Rash sévère ou mettant la vie en danger (syndrome de Stevens-Johnson et Lyell)	TDF ou ABC

La Névirapine doit être administrée à demi dose. (200mg/jour) pendant les 14 premiers jours de traitement puis à pleine 200mg *2/jour) par la suite. En cas d'arrêt de la Névirapine pour une durée excédant 7 jours, sa réintroduction doit toujours se faire à dose progressive.

Si un traitement contenant un INNTI (longue demi-vie) doit être arrêté les deux INTI doivent être poursuivis pendant 15 jours.

Eviter l'utilisation de la Stavudine (D4T) en première intention. Substituer la D4T 400mg par la D4T 300mg.

Il faut proscrire les associations suivantes

La D4T et la ZVD à cause de leur effet antagoniste ;

La D4T et la DDI en raison de leur toxicité neurologique et pancréatique ;
TDF + 3TC + Abacavir ; TDF + 3TC + DDI ; TDF + DDI + INNTI en raison de la fréquence élevée des échecs virologiques précoces et de la toxicité pancréatique.

En cas de toxicité hépatique ou dermatologique imputable à la Névirapine, cette molécule doit être remplacée par l'Efavirenz.

En cas de neuropathie imputable à la Stavudine, cette molécule est remplacée par la Zidovudine.

En cas de troubles neuropsychiatriques graves (hallucination et psychose) imputables à l'Efavirenz cette molécule doit être remplacée par la Névirapine.

En cas d'anémie imputable à la zidovudine, cette molécule sera remplacée par la Stavudine.

En cas d'anémie et neuropathie associées, utiliser un schéma à base de l'Abacavir et Tenofovir ou Lamivudine et Abacavir.

Ne pas utiliser le Tenofovir en cas d'insuffisance rénale.

Eviter l'association ABC + DDI en raison des risques d'accident cardiovasculaire.

8-5. Traitement de deuxième ligne :

Il est indiqué chez un patient en échec thérapeutique prouvé.

En cas d'échec pour cause d'inobservance, il faudra reprendre l'éducation thérapeutique du patient et renforcer l'observance avant d'envisager toute nouvelle ligne thérapeutique.

8-6. Essais thérapeutique : La mise à disposition de la quantification de la charge virale à partir de 1996, a considérablement amélioré la prise en charge thérapeutique des patients à l'évaluation des molécules dans les essais cliniques.

L'ARN plasmatique est significativement diminué dans les premières semaines ou mois de traitement et cette diminution est associée à un bénéfice clinique (réduction de la morbidité et de la mortalité) à moyen terme, comme l'ont attesté plusieurs études de cohorte.

En 2006, l'objectif d'un premier traitement était d'obtenir une charge virale indétectable (inférieure à 50 copies/ml) à 6 mois. Les recommandations actuelles font état d'une surveillance de la charge virale trois à quatre fois par an [36]. A l'opposé, l'absence de réponse virologique ou la ré-ascension de la charge après une diminution initiale sont des critères d'échec qui nécessitent l'évaluation de l'adhésion au traitement, la recherche de souches résistantes aux antirétroviraux administrés et, si nécessaire, la modification de ce traitement. Le choix du traitement relais nécessite alors une concertation multidisciplinaire associant clinicien, virologiste et si possible le pharmacologue.

Un aspect émergent du suivi virologique sous traitement est l'évaluation du réservoir viral persistant malgré une chimiothérapie efficace sur la charge virale [54]. La définition des cellules réservoirs varie en effet selon les auteurs et les principes d'une infection latente, établie très précocement et indépendante de l'infection active ne sont pas formellement démontrés. Même avec les traitements les plus efficaces le virus continue à se répliquer dans le tissu lymphoïde et on ne peut exclure que cette multiplication résiduelle soit à l'origine de l'infection de *novo* de cellules considérées comme des réservoirs pour certains auteurs. Les données sur la ré-ascension des charges virales plasmatiques et cellulaires à l'arrêt d'un traitement efficace vont dans ce sens. [55]

IV. Méthodologie

1. Type d'étude :

Nous avons effectué une étude de cohorte prospective sur un nombre fixe de patients pendant une période donnée et comparé sur une même base des données.

2. Période d'étude :

Notre étude s'est déroulée dans le laboratoire d'analyse biomédicale ALGI de juillet 2008 à décembre 2009.

3. Population d'étude :

La population d'étude était constituée de patients séropositifs au VIH-1 admis pour suivi biologique.

4. Cadre d'étude :

Le laboratoire d'analyse biomédicale ALGI a servi de cadre pour le déroulement de notre étude.

4-1. Le laboratoire d'analyse biomédicale ALGI

Situé au quartier Quinzambougou dans la rue TITI NIARE, porte N°1427. Il fut d'abord appelé ALDI qui était l'association entre une clinique et un laboratoire. C'est en 2003 que le laboratoire est devenu indépendant et a

commencé à multiplier les différentes sections en son sein. Le laboratoire ALGI a à sa disposition un personnel qualifié composé de :

- quatre professeurs agrégés comme consultants
- un médecin biologiste,
- cinq pharmaciens,
- cinq biologistes
- sept techniciens supérieurs de labo,
- trois infirmiers,
- trois secrétaires,
- cinq manœuvres, et
- un informaticien

Ce personnel a à sa disposition un équipement à la pointe de la technologie, dans un souci de satisfaction des patients.

4-2. Les sections :

Des sections de bactériologie, biochimie, immunologie, hématologie, sérologie, parasitologie, biologie moléculaire, d'anatomopathologie, et de cryogénique. Chacune de ces sections est dotée d'appareils permettant de rehausser la qualité de son service, à savoir :

Diana5, le **Xénia** et le **Coalab** pour les examens hématologiques ; le **Lysa XS**, le **Lysa300** et le **Lysa3D** pour la biochimie ; le **Mini vidas**, le **PC vidas**, l'**Axym**, l'**Architecte**, le **FasCount**, **Evolis Twin plus** pour l'immunologie ; le **Viteck2** pour la bactériologie ; le **m2000rt**, **m24sp**, le **NucliSENS EasyQ** pour la biologie moléculaire.

5. Echantillonnage.

L'échantillon est constitué de tout patient séropositif au VIH suivi au laboratoire ALGI

5-1 Critères d'inclusion :

Tout patient VIH positif admis pour suivi biologique ;

Tout patient VIH positif ayant moins de deux mois de TAR.

Tout patient VIH positif avec une fiche dument signée par un des médecins prescripteurs et provenant d'une des structures agréées.

5-2 Critères de non-inclusion :

Tout patient VIH positif admis à ALGI pour d'autres analyses autres que le cadre du VIH.

Tout patient VIH positif ayant plus de deux mois de TAR.

Tout patient VIH positif perdu au cours du suivi biologique.

Tout patient VIH positif dont la fiche de notification n'est pas conforme.

6. Taille de l'échantillon :

Elle est obtenue de manière exhaustive vue différentes circonstances, nous avons pu suivre au total 930 patients de M0 à M18.

7. Déroulement de l'étude :

L'objectif de tout traitement antirétroviral est de rendre la charge virale indétectable dans le sang des patients. Sur le plan technique un rôle essentiel est dévolu au laboratoire. En effet, qu'ils s'agissent du dépistage de l'infection à l'initiation du traitement antirétroviral et à sa surveillance le laboratoire est un élément incontournable dans le suivi biologique des patients sous ARV. Nous avons jugé nécessaire d'évaluer l'efficacité du traitement en suivant un certain nombre de patient qui sont réguliers dans le traitement de M0 à M18. A la lumière de cela une fiche individuelle de collecte a été établie.

Les objectifs de l'étude ont été présentés à tout le personnel qui intervient dans la prise en charge de ces patients dans le laboratoire pour leur collaboration et aussi pour nous faciliter le travail. Une étudiante a été formée pour assurer ce

travail qui consistait de vérifier le passage de chaque patient soit personnellement ou soit à travers les échantillons envoyés par les structures de prescription (CESAC, HPG, HGT, SM).

8. Collecte des données :

8-1 Source des données :

Une fiche d'enquête individuelle est élaborée pour chaque patient lors de son arrivé au laboratoire ou de l'échantillon envoyé. Le même questionnaire est utilisé à chaque passage du patient

8-2 Technique de collecte :

Pour les informations relatives à l'âge, le sexe, la durée de traitement, et les examens demandés on se referait sur les fiches de notifications correctement remplies par les médecins prescripteurs.

En ce qui concerne les analyses sanguines, les informations étaient relatives au dosage du taux de lymphocytes CD4 et la mesure de la charge virale plasmatique.

8-3 Préparation de l'échantillon :

Les prélèvements du sang sont effectués sur tube EDTA. Le sang total est utilisé pour le comptage des lymphocytes TCD4 et après centrifugation à 3500 g pendant 5 minutes le plasma est récupéré dans des tubes sans anticoagulant pour la détermination de la charge virale plasmatique.

Conservation du plasma:

- Entre 2 – 3°C pendant 24 heures,
- a -20°C pendant 30 jours et -70°C pendant plusieurs mois.

Les échantillons de plasma peuvent être congelés et décongelés trois fois sans perte importante d'ARN du VIH-1.

9. Techniques

9-1. La charge virale

Le développement des méthodes de mesure de la charge virale dans les années 1996 a été crucial dans le suivi de PVVIH.

Les techniques utilisées aujourd'hui ont le même principe que celles développées il y'a 20 ans. Cependant il y a eu plusieurs modifications. Celles disponibles doivent alors être examinées au cas par cas en fonction de la circulation des sous types viraux et de leurs variabilités génétiques dans chaque pays considéré. Il y a plusieurs tests de mesure de la charge virale en ce moment, chacun utilise une technique différente pour mesurer le nombre de particules de VIH dans le sang. L'objectif de toutes ces techniques qui est de déterminer si la charge virale est élevée, moyenne ou basse est la même. [56]

Cependant chacune de ces techniques a une limite sous la quelle elle ne peut pas détecter de façon fiable l'ARN plasmatique. Pour la plupart des techniques, cette limite est désormais de 50 ; 40 voire même 20 copies/ml.

Tout prélèvement de sang ayant une charge virale inférieure à ce seuil est dit avoir une charge virale indétectable. Ceci ne veut pas dire qu'il n'y a pas de copies de VIH dans ce prélèvement mais seulement que le nombre de copies présentes est entre 0 et 49 ; 0 et 39 ou 0 et 19.

Au cours de notre étude nous avons utilisé deux techniques :

- Une première dite technique Mériex qui utilise l'appareil Nuclisens EasyQ dont le principe est basé sur l'amplification à base de séquences d'acide nucléique ;

- Et une deuxième dite technique Abbott qui utilise le M2000rt dont le principe est basé sur la PCR (polymérisation by Chain Reaction) en temps réel.

La simplicité de ces méthodes aussi bien que la grande disponibilité des réactifs et l'automatisation sont des raisons qui font que ces méthodes restent largement

utilisées au niveau des laboratoires. D'autres techniques peuvent être utilisées pour quantifier la charge virale telle que celle du laboratoire roche qui contrairement à celles que nous avons utilisées a comme limite de détection 400 copies/ml.

Les éléments d'appréciation pour le choix d'un système de charge virale sont entre autres Performances virologiques des tests ; Capacités à détecter la majorité des sous types circulants dans une région donnée ; bonne sensibilité ; spécificité et la reproductibilité. [57]

Tableau principale N°II : Techniques de mesure de la charge virale [57].

TROUSSE Laboratoire	NucliSENS EasyQ HIV.1 (utilise dans notre étude) BIO MERIEUX	Ampli cor Cobas HIV.1 ROCHE	Versant kPCR Molecular système SIEMENS	Abbott Real Time HIV-1 (utilise dans notre étude) ABOOTT
Principe	Real-time NASBA	RT-PCR Cobas Amplicor	KPCR PCR en temps réel	RT- PCR en temps réel
Détection	Fluorescence	Colorimétrie	PCR en temps réel	PCR en temps réel (multiplexage) avec le m2000rt

9-2. La mesure du taux de lymphocytes TCD4+ [57]

Plusieurs techniques sont disponibles pour le comptage des lymphocytes TCD4, chacune d'elle ayant leurs lots d'avantages mais aussi d'inconvénients. Les techniques manuelles utilisant le microscope, comme Dynabeads et Cytosphères, ne paraissent plus d'actualités. La technique Dynabeads est jusqu'à présent la plus utilisée, en particulier dans les pays à faible prévalence de cas

d'infection à VIH. Ces techniques n'offrent que 6 à 12 comptages de lymphocytes TCD4 par jour, aussi ne permettent pas le passage à l'échelle de la prise en charge d'un grand nombre de malades.

Les techniques alternatives comme Le minicytomètre « Cyflow Counter » du laboratoire (Partec) la version 2008 est équipée de 2 détecteurs fluorescents, permettant de mesurer les lymphocytes TCD4 en valeur absolue (Partec CD4 Easy Count) ou en valeur absolue et en % (Partec % CD4 Easy Count) ;

le cytomètre « Easy CD4 » (Guava) permet le comptage des lymphocytes TCD4 en valeur absolue et/ou en pourcentage selon les réactifs utilisés.

L'automate PointCare « Now » (depuis juillet 2007) très prometteur, mais n'a pas encore été évalué sur le terrain, fermé complètement automatisé, n'exige pas de formation spéciale, fournit le comptage des lymphocytes T CD4 en % et en valeur absolue, le taux d'hémoglobine et la numération-formule sanguine, le coût pourrait constituer un obstacle important.

La technique utilisée pour notre étude est celle utilisant la cytométrie de flux (Le FASCount de la société Becton Dickinson). Les cytomètres de flux pour la mesure des lymphocytes TCD4 sont les plus utilisés dans les pays développés (comme par ex le FASCalibur de Becton Dickinson, ou encore son équivalent de Beckman Coulter).

Le FASCount de la société Becton Dickinson est un appareil robuste qui a fait ses preuves, mais il est de conception ancienne datant de 1992. Cependant, depuis 2008, l'utilisation d'un nouveau logiciel permet à l'instrument de rendre le comptage des lymphocytes TCD4 en % et en valeur absolue (CD4/ul). La formation du personnel est relativement simple. Les intérêts du FASCount résident dans la politique de maintenance sur site mise en place récemment par Becton Dickinson au moins dans les pays d'Afrique sub-saharienne ; La

difficulté d'utilisation chez le petit enfant de moins de 2 ans (uniquement dans les anciennes versions dont l'intervalle de mesure allait de 1 à 2000/mm³) cela a été corrigé dans la version actuelle dans laquelle l'intervalle de mesure va de 1 à 5000/mm³. Les inconvénients du FASCount sont entre autres son utilisation fermée (limité au comptage des lymphocytes TCD4 et TCD8), la difficulté de stockage des résultats parce qu'il n'existe pas d'informatique dédié (le FASCount ne peut pas être relié a un ordinateur. Les résultats imprimés sur du papier thermique les uns à la suite des autres doivent être recopiés dans le fichier patient. Une disquette de stockage d'une centaine de dossiers est désormais proposée sur la version récente.

Tableau N°III: principales techniques de mesure des lymphocytes TCD4 [57].

	FASCount (Becton Dickinson) Notre technique	EasyQ CD4 (Guava)	Cyflow Counter (Partec)	PointCare Now (pointcare)	Apogee A40 (Apogee)
Principe	simple plateforme comptage absolu en pourcentage.	Système fermé simple plateforme	Système ouvert simple plateforme	Système ouvert simple plateforme	simple plateforme comptage absolu en

	Système fermé	comptage absolu en pourcentage.	comptage absolu en pourcentage.	comptage absolu en pourcentage.	% Système fermé
--	---------------	---------------------------------	---------------------------------	---------------------------------	-----------------

9-3. Le NucliSENS EasyQ HIV-1 V2.0 du Laboratoire Mérieux : charge virale.

9-3-1. Principe : Le test réalisé par NucliSENS EasyQ HIV-1 v2.0 consiste en une amplification d'acide nucléique combinée à une étape de détection simultanée. Cette opération utilise des acides nucléiques extraits comme matériel de départ.

9.3.2 Extraction d'acide nucléique

Le NucliSENS Lysis Buffer neutralise les ADNases et les ARNase présentes dans le plasma. Une concentration déterminée de Calibrateur synthétique est ajoutée à cette étape. Il servira d'étalon interne pour l'extraction, l'amplification et la détection.

9-3-3. Amplification et détection de l'acide nucléique :

NucliSENS EasyQ HIV-1 v2.0 utilise un processus combiné d'amplification d'acide nucléique et de détection simultanée avec des balises moléculaires.

a-Amplification.

Principe: L'amplification d'acide nucléique de NucliSENS EasyQHIV-1 v2.0 utilise des amorces qui sont spécifiques pour les séquences trouvées dans l'ARN du VIH-1 de type sauvage (WT) et l'ARN Calibrateur synthétique de NucliSENS EasyQ HIV-1 v1.2. Cet ARN Calibrateur diffère de l'ARN VIH-1 WT que par une petite séquence nucléotidique qui permet les mêmes cinétiques d'amplification. L'amplification NASBA est basée sur un processus répété d'anneau d'amorce, une formation d'ADN à deux brins contenant un promoteur T7 et une transcription facilitée de polymérase d'ARN T7.

Elle entraîne d'abord une augmentation exponentielle du nombre d'amplicons car des copies d'ARN produites de chaque séquence cible d'ARN pénètre dans le processus d'amplification. Avec la progression de la réaction, le pool d'amorces s'appauvrit. Après l'appauvrissement des amorces, l'accumulation de transcrits d'ARN continue uniquement grâce à la transcription d'ADN à deux brins, ce qui provoque une croissance linéaire des amplicons. Cette étape de la réaction est utilisée pour déterminer les produits de la transcription.

b-Détection :

Principe: L'opération de détection du NucliSENS EasyQ HIV-1 v2.0 utilise des balises moléculaires spécifiques à la cible. Une balise moléculaire est un oligonucléotide d'ADN qui comprend une séquence nucléotidique spécifique, qui reconnaît une séquence cible d'ARN particulière jointe à un fluorophore et à un fragment modérateur. En l'absence d'ARN complémentaire, la balise moléculaire formera une structure interne en épingle à cheveux ; l'extincteur sera alors entraîné à proximité du fluorophore. La conséquence sera l'extinction de la fluorescence de la balise moléculaire.

En présence d'une séquence « cible complémentaire », la balise s'ouvre et émet une fluorescence, ce qui indique la présence de la séquence cible.

Deux balises moléculaires différentes sont utilisées dans NucliSENS EasyQ HIV-1 v 2.0, l'une spécifique pour l'amplicons du VIH-1 WT et l'autre pour l'amplicons du Calibrateur. L'utilisation de deux encres fluorescentes (6-FAM pour le WT, et 6-ROX pour le Calibrateur) permet de suivre simultanément la synthèse de la cible WT et de l'ARN du Calibrateur. L'analyse cinétique des signaux fluorescents indique les vitesses de transcriptions de la cible WT et de l'ARN du Calibrateur. Cette analyse est utilisée pour déduire la quantité d'ARN de VIH-1 dans l'échantillon de départ. La charge virale peut alors être quantifiée

à l'aide d'un algorithme de réduction des données dans le logiciel de dosage NucliSENS EasyQ VIH-1v2.0.

9-4. M2000rt HIV-1 du laboratoire Abbott : Pour la charge virale

9-4-1. Description: il s'agit d'un thermocycleur muni d'un bloc à effet Peltier de 96 puits, équipé d'une source tungstène-halogène et d'une camera CCD susceptible de suivre la fluorescence pour 7 fluophores différents.

9-4-2. Principe : Le dosage Abbott Real Time HIV-1 utilise la technique de la PCR (Polymérase Chain Réaction) avec une détection homogène de la fluorescence en temps réel. La conception de sondes fluorescentes partiellement à double brin permet la détection de différents sous-types du groupe M et isolats du groupe O. Le dosage est standardisé par rapport à un standard viral du laboratoire de virologie d'assurance qualité (VQA) du groupe d'essai clinique sur le SIDA, et par rapport au premier standard international relatif à l'ARN VIH-1 de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS).

9-4-3. Extraction d'acide nucléique.

9-4-3-1. Principe : Le système de préparation des échantillons Abbott mSample préparation System utilise la technologie des particules magnétiques afin de capter les acides nucléiques et lave les particules afin d'éliminer tout composant non lié à l'échantillon.

9-4-4. Amplification.

9-4-4-1. Principe : lors de la réaction d'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, 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, l'ARN d'une deuxième amorce s'hybride avec le brin de cAND 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.

9-4-5. Détection :

Principe : Pendant les cycles de lecture de l'amplification 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 de 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'. Un oligonucléotide court (Quencher) est complémentaire de l'extrémité 5' de la sonde VIH-1 et possède une molécule de désactivation à son extrémité 3'. En l'absence de cible VIH-1, la sonde de VIH-1 fluorescente est désactivée par son hybridation au « quencher ». En présence d'une séquence cible du VIH-1 la sonde du VIH-1 s'hybride de préférence avec la séquence cible, la dissociation du « quencher » et permettant ainsi la détection de la fluorescence.

9-4-6. Résultats

Calcul : la concentration en ARN viral VIH-1 d'un échantillon ou d'un contrôle est calculée à partir de la courbe de calibration enregistrée. L'appareil m200rt rapporte automatiquement les résultats sur la station travail Abbott m200rt. Les résultats du dosage peuvent être rendus en copies/ml, en copies [log/ml], en unités internationales (UI)/ml ; 1UI= 0,58copies, 1copie= 1,74UI.

9-5 .Le FasCount : Pour la mesure du taux de lymphocytes TCD4+.

Principe : la cytométrie de flux est une technique de quantification de cellules en suspension et défilant dans un flux liquidien à grande vitesse (généralement plusieurs centaines de cellules/secondes) devant une source d'excitation lumineuse.

La précision de la cellule nécessite qu'une cellule défile à la fois devant la source lumineuse et que celle-ci soit la plus cohérente possible : c'est pour cette raison que les sources d'excitation lumineuses sont des sources lasers.

La lumière de réfraction est recueillie par des photomultiplicateurs dans deux directions.

- à 180° dans la direction perpendiculaire au rayon incident en fonction de la taille ;

- à 90° dans la direction perpendiculaire au rayon incident en fonction du rapport nucléo-cytoplasmique et de l'indice de granulosité de la cellule. Si la cellule a été « marquée » par des anticorps monoclonaux spécifiques de molécules membranaires et conjuguées des fluorochromes qui réémettent une lumière en fonction de leur spectre d'émission : ces lumières d'émission de fluorescences doivent avoir des spectres différents pour que chacune puisse être distinguée des autres et caractérisée des anticorps anti CD3, CD4 et CD8.

L'ensemble des signaux arrivants à ces points photomultiplicateurs est recueilli dans un système informatique et permet de compter le nombre de cellule ayant fixé simultanément les anticorps anti- CD3 et CD4 : taux de lymphocyte TCD4+ et le nombre de cellule ayant fixé simultanément les anticorps anti- CD3 CD8 donne le taux de lymphocyte TCD8 cytotoxiques

10. Aspect éthique et traitement des données :

Le présent travail entre dans le cadre de la recherche scientifique. A ce titre les résultats seront disponibles pour tous les intervenants de la prise en charge des

malades et ceci pour l'amélioration de la qualité des services. L'enquête a garanti la confidentialité des données et aucun nom de malade n'apparaîtra dans la thèse ou les documents publiés après. Tout malade inclus dans l'échantillon ne l'a été qu'après un consentement libre et éclairé. Les prélèvements et les analyses étaient faits gratuitement.

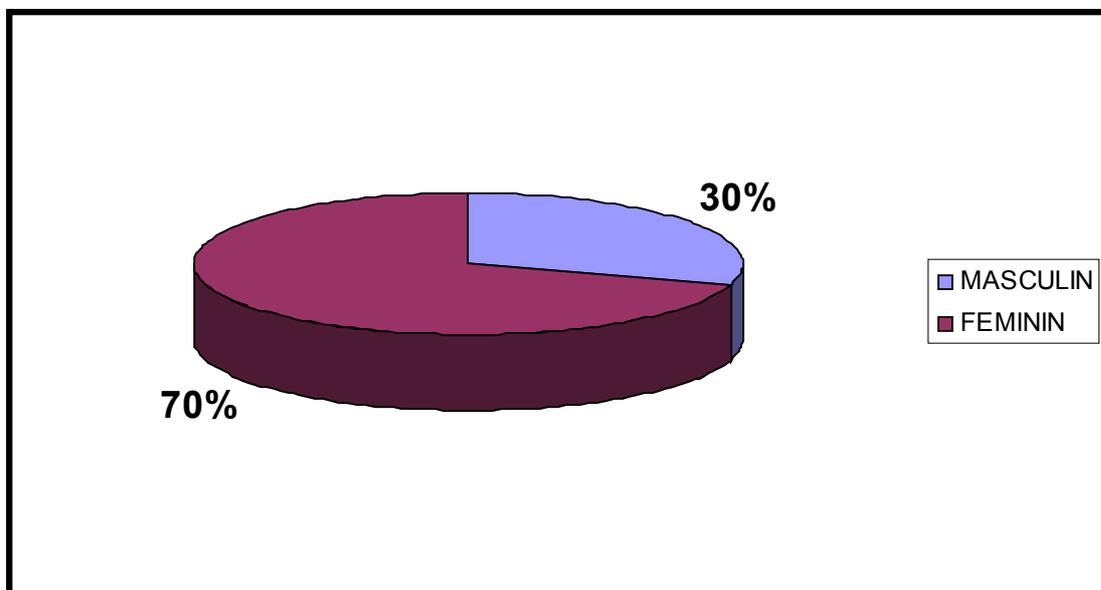
Les données ont été traitées et analysées sur le logiciel Epi info Version 06-04FR de l'OMS et du CDC d'Atlanta. Le tableur Excel a permis de faire les graphiques. Le test Ki-carré était la méthode statistique utilisée pour comparer les moyennes des variables. Lorsque l'intervalle Le test est significatif lorsque le p-value est inférieur à 0,05.

V- Résultats

1. Aspects démographiques

Les 930 patients ont bénéficié d'un suivi biologique (un contrôle du taux de CD4 et une mesure de la charge virale plasmatique chaque six mois) constant et régulier. L'âge moyen de nos patients était de 31,5 ans avec un minimum de 1an et un maximum de 70 ans.

Graphique N°I Répartition des patients selon le sexe.



On a observé une prédominance féminine dans la population d'étude avec un sexe ratio = 0,42.

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

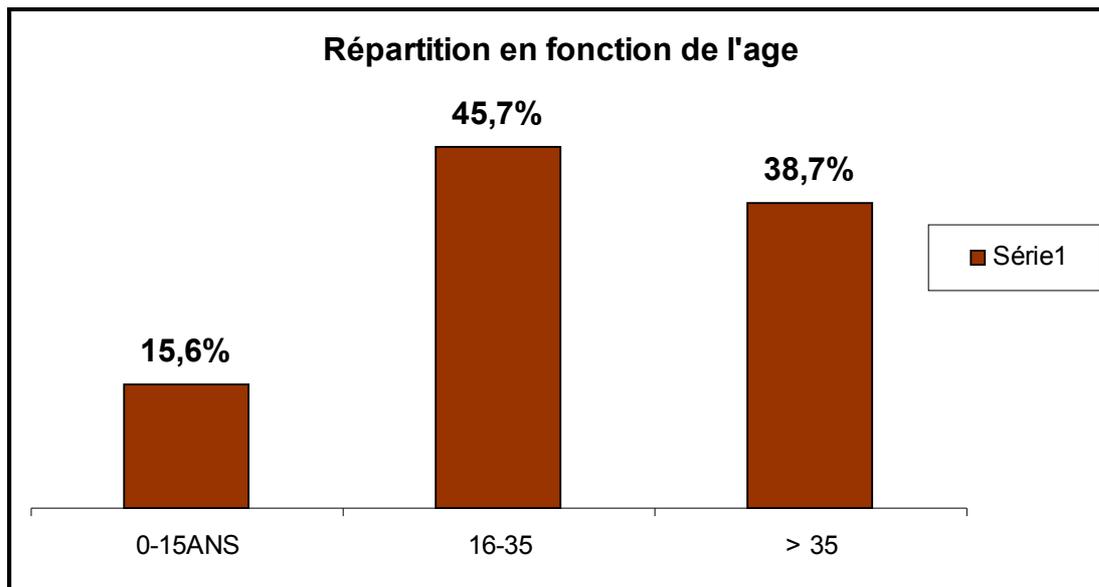
Tableau N°IV : Répartition des patients en fonction des structures de provenances.

STRUCTURES	FREQUENCE (N)	POURCENTAGE (%)
HPG	133	14,2
HGT	354	38,1
CESAC	432	46,5
SM	11	1,2
TOTAL	930	100

Sur l'ensemble des structures le CESAC nous a fourni le plus de patients avec un effectif de 432 patients soit 46,5%.

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

Graphique N°II : Répartition des patients selon la tranche d'âge.



La tranche d'âge 16-35 ans regroupait la majeure partie des patients soit 45,7%.

Tableau N°V : Répartition des patients selon le nombre de lymphocyte TCD4 à l'inclusion

CD4 (CELL/ML)	FREQUENCE	POURCENTAGE
0- 200	406	43,6
201-350	286	30,8
>350	238	25,6

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

TOTAL	930	100
-------	-----	-----

Le nombre de lymphocyte TCD4 était inférieur à 200/mm³ chez 43,6% des patients.

Tableau N°VI : Répartition des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 à six mois de traitement

CD4 (CELL/ML)	FREQUENCE (N)	POURCENTAGE (%)
0- 200	224	24,1
201-350	320	34,4
>350	386	41,5
TOTAL	930	100

A six mois de traitement 41,5% de nos patients avaient un taux de lymphocyte TCD4>350/mm³ soit un effectif de 386 patients.

Tableau N°VII : Répartition des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 à douze mois de traitement.

CD4 (CELL/ML)	FREQUENCE (N)	POURCENTAGE (%)
0- 200	140	15,1
201-350	243	26,1
>350	547	58,8
TOTAL	930	100

A douze mois de traitement 58,8% des patients avaient un taux de lymphocyte TCD4 supérieur à 350/mm³.

Tableau N°VIII : Répartition des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 après 18 mois de traitement.

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

CD4 (CELL/ML)	FREQUENCE (N)	POURCENTAGE (%)
0- 200	96	10,3
201-350	196	21,1
> 350	638	68,6
TOTAL	930	100

Après dix-huit mois de traitement 68,6% des patients avaient un taux de lymphocyte TCD4 supérieur à 350/mm³ soit un effectif de 638 patients.

Tableau N°IX : Répartition des patients en fonction de la charge virale à l'inclusion.

CHARGE VIRALE	FREQUENCE	POURCENTAGE
----------------------	------------------	--------------------

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

<i>(COPIE/ML)</i>	(N)	(%)
<40	0	0
40-10000	7	0,7
10001-100000	78	8,4
>100000	845	90,9
TOTAL	930	100

A l'inclusion 845 patients soit **90,9%** avaient une mesure de charge virale supérieure à 100.000copies/ml.

Tableau N°X : Répartition des patients en fonction de la charge virale à six mois de traitement

<i>CHARGE VIRALE</i>	<i>FREQUENCE</i>	<i>POURCENTAGE</i>
<i>(COPIE/ML)</i>	<i>(N)</i>	<i>(%)</i>

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

<40	281	30,2
40-10000	356	38,3
10001-100000	168	18,1
>100000	125	13,4
TOTAL	930	100

A six mois de traitement 30,2% des patients avaient une mesure de charge virale indétectable.

Tableau N°XI : Répartition des patients en fonction de la charge virale après douze mois de traitement.

CHARGE VIRALE (COPIE/ML)	FREQUENCE (N)	POURCENTAGE (%)
<40	622	66,9
40-10000	208	22,4
10001-100000	58	6,2
>100000	42	4,5
TOTAL	930	100

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

A douze mois de traitement 66,9% des patients avaient une charge virale indétectable.

Tableau N°XII : Répartition des patients en fonction de la charge virale après 18 mois de traitement.

CHARGE VIRALE (copie/ml)	FREQUENCE N	POURCENTAGE %
<40	744	80,0
40-10000	107	11,5
10001-100000	44	4,7
>100000	35	3,8
TOTAL	930	100

Après dix-huit mois de traitement antirétroviral 80% de nos patients avaient une charge virale indétectable soit un effectif de 744 patients

Tableau N°XIII : répartition de la charge virale des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 chez les patients à l'inclusion

CV	<40	40-10000	10001-100000	>100000	TOTAL
CD4					
0- 200	0 0,0%	1 0,1%	30 3,2%	375 40,4%	406 43,7
201-350	0 0,0%	1 0,1	26 2,8%	259 27,8%	286 30,7%
>350	0 0,0%	5 0,5%	22 2,4%	211 22,7%	238 25,6%

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

TOTAL	0	7	78	845	930
	0,0%	0,7	8,4%	90,9 %	100%

A l'initiation au traitement antirétroviral quel que soit le taux de CD4 aucun de nos patients n'avait une charge virale indétectable. Cette différence était statistiquement significative avec $p < 0,026$.

Tableau N°XIV : Répartition de la charge virale des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 chez les patients à M6.

CV	<40	40-10000	10001-100000	>100000	TOTAL
CD4					
0- 200	29 3,1%	75 8,1%	52 5,6%	68 7,3%	224 24,1%
201-350	108 11,6%	134 14,4%	50 5,4%	28 3,0%	320 34,4%
>350	144 15,5%	147 15,8%	66 7,1%	29 3,1%	386 41,5%
TOTAL	281 30,2%	356 38,3%	168 18,1%	125 13,4%	930 100,0%

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

A six mois de traitement 144 soit 15,5% avaient une charge indétectable avec un taux de lymphocyte TCD4 supérieur à 350 mm³, cette différence était très hautement significative avec $p < 0.0001$.

Tableau N°XV : répartition de la charge virale des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 chez les patients à M12.

CV	<40	40-10000	10001-100000	>100000	TOTAL
CD4					
0- 200	48 5,2%	54 5,8%	19 2,0%	19 2,0%	140 15,1%
201-350	172 18,5%	47 5,1%	14 1,5%	10 1,1%	243 26,1%
>350	402 43,2%	107 11,5%	25 2,7%	13 1,4%	547 58,8%
TOTAL	622 66,9%	208 22,4%	58 6,2%	42 4,5%	930 100,0%

A douze mois de traitement 43,2% des patients avaient une charge virale indétectable avec un taux de lymphocytes TCD4+ supérieur à 350 mm³ avec une valeur de $p < 0,0001$.

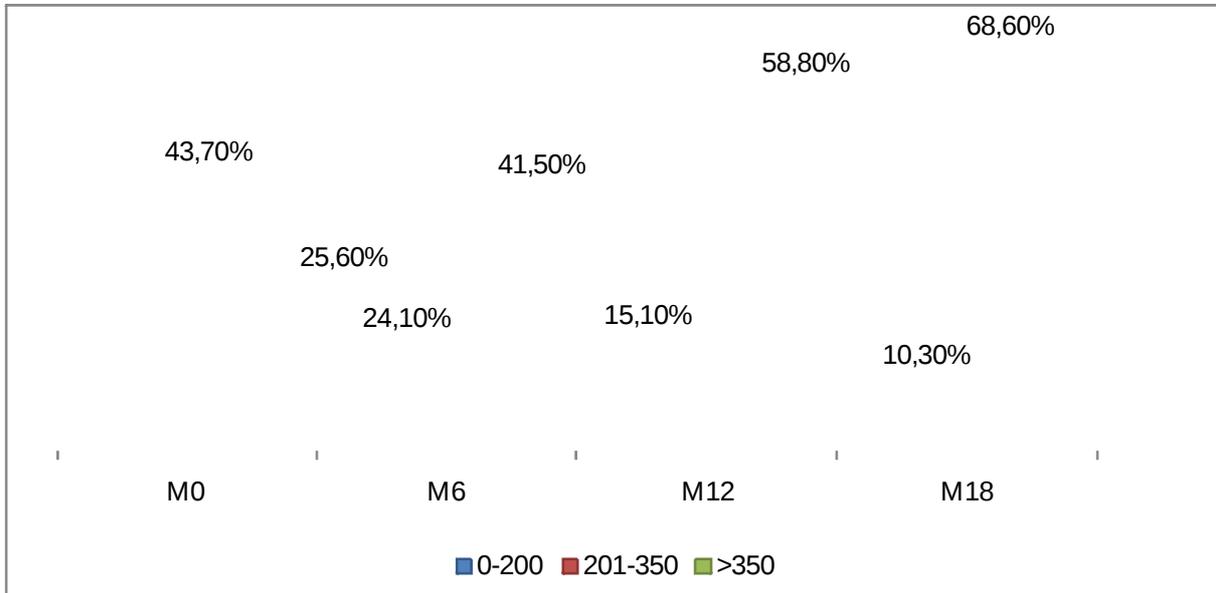
Tableau N°XVI : répartition de la charge virale des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 chez les patients à M18

CV	<40	40-10000	1000-100000	>100000	TOTAL
CD4					
0- 200	44 4,7%	20 2,2%	16 1,7%	16 1,7%	96 10,3%
201-350	148 15,9%	29 3,1%	9 1,0%	10 1,1%	196 21,1%
>350	552 59,4%	58 6,2%	19 2,0%	9 1,0%	638 68,6%
TOTAL	744 80,0%	107 11,7%	44 4,7%	35 3,8%	930 100,0%

Après dix-huit mois de traitement seulement 1,7% des patients avaient une charge virale supérieure à 100000 copies/ml avec un taux de CD4 compris entre [0-200] mm³ avec p<0,0001.

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

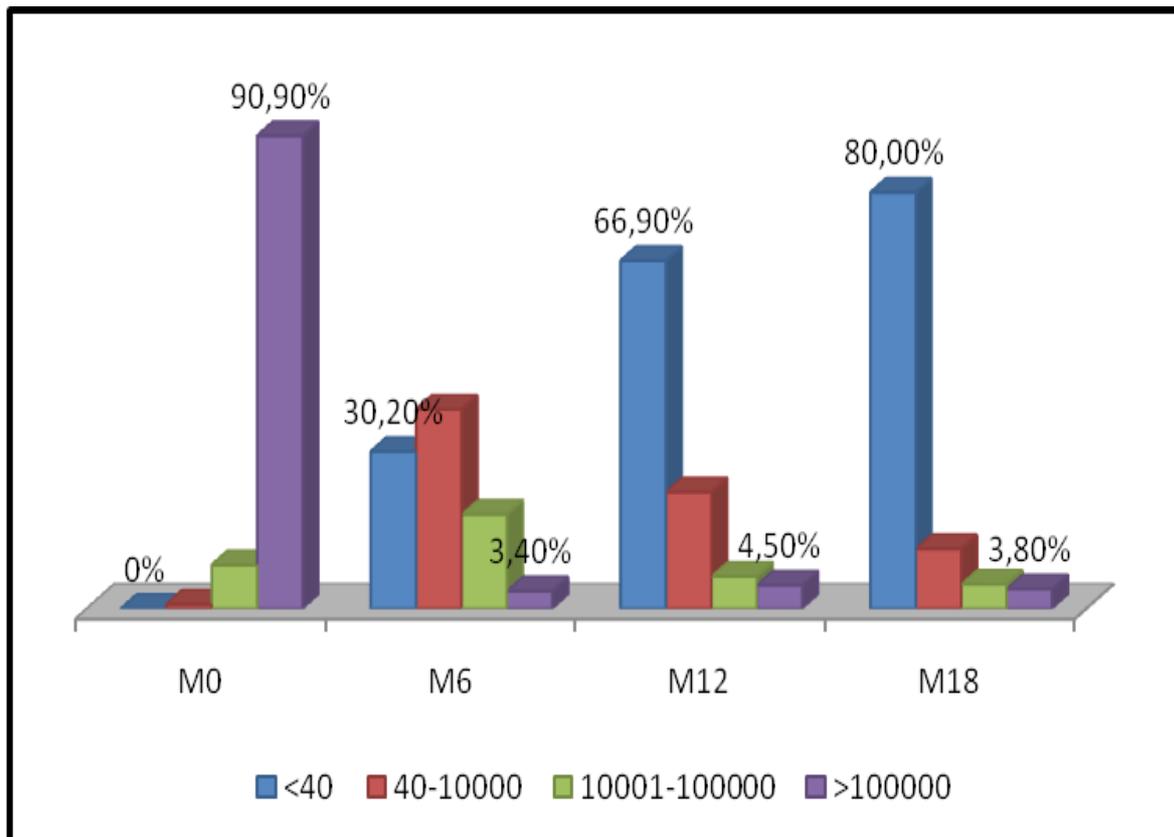
Graphique III : Répartition des taux de lymphocytes TCD4+ chez les patients de l'inclusion à 18 mois de traitement.



De l'inclusion jusqu'à dix-huit mois de traitement nous avons constaté une augmentation progressive des valeurs de lymphocyte TCD4>350/mm³ de 25,6% à M0 à 68,6% à M18 avec $p < 0,0001$.

Graphique N° IV Répartition de la charge virale chez les patients de l'inclusion à 18 mois de traitement.

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)



De l'inclusion jusqu'à dix-huit mois de traitement nous avons constaté une augmentation progressive des valeurs de charge virale indétectables de 0,0% à M0 à 90,9% à M18 ($p < 0,0001$).

Tableau N°XVII : répartition de l'âge des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 à l'inclusion

	CD4 0-200	201-350	>350	TOTAL
AGE				
0-15	15	22	108	145

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

	1,6%	2,4%	11,6%	15,6%
16-35	210	138	77	425
	22,6%	14,8%	8,3%	45,7%
>35	181	126	53	360
	19,5%	13,5%	5,7%	38,7%
TOTAL	406	286	238	930
	43,7%	30,7%	25,6%	100,0%

A l'inclusion plus de la moitié des enfants avaient un taux de lymphocytes TCD4+ supérieur à 350/mm³ ; inversement plus de la moitié des patients de plus de 35 ans avaient un taux de lymphocytes TCD4+ compris entre [0-200] /mm³ avec (p< 0,0001).

Tableau N°XVIII : répartition de l'âge des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 à M6

CD4	0-200	201-350	>350	TOTAL
AGE				
0-15	6	14	125	145
	0,6%	1,5%	13,4%	15,6%
16-35	117	157	151	425
	12,6%	16,9%	16,2%	45,7%
>35	101	149	110	360
	10,9%	16,0%	11,8%	38,7%
TOTAL	224	320	386	930
	24,1%	34,4%	41,5%	100,0%

A six mois de traitement 13,4% de la tranche [0-15] ans avaient un taux de lymphocyte TCD4 supérieur à 350/mm³ et 10,9% des patients >35 ans avait un taux de lymphocyte TCD4 compris entre 0- 200/mm³ avec (p< 0,0001).

Tableau N°XIV : répartition de l'âge des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 à M12.

CD4	0-200	201-350	>350	TOTAL
AGE (ANS)				
0-15	6 0,6%	5 0,5%	134 14,4%	145 15,6%
16-35	72 7,7%	123 13,2%	230 24,7%	425 45,7%
>35	62 6,7%	115 12,4%	183 19,7%	360 38,7%
TOTAL	140 15,5%	243 26,1%	547 58,8%	930 100,0%

A douze mois 24,7% des patients âgés de 16-35 ans avaient un taux de lymphocyte TCD4 > 350/mm³ et 19,7% des patients âgés de plus de 35 ans avait un taux de lymphocyte TCD4 >350/mm³ avec (p< 0,0001).

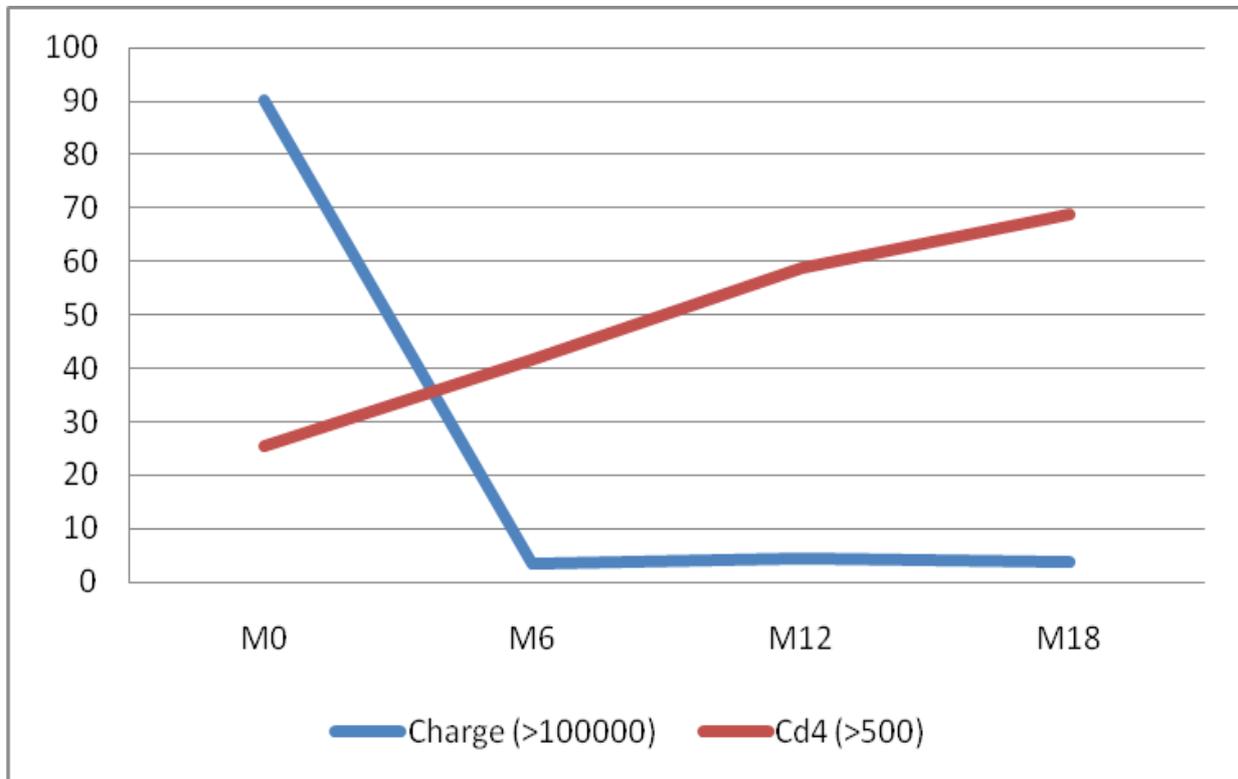
Tableau N°XX : répartition de l'âge des patients en fonction du taux de lymphocyte TCD4 à M18

CD4	0-200	201-350	>350	TOTAL
AGE (ANS)				
0-15	4 0,4%	8 0,9%	133 14,1%	145 15,6%
16-35	49 5,3%	99 10,6%	277 29,8%	425 45,7%
>35	43 4,6%	89 9,6%	228 24,5%	360 38,7%
TOTAL	96 101%	196 21,1%	638 68,6%	930 100,0%

Après dix-huit mois de TAR seulement 24,5% des patients âgés de plus de 35 ans avaient un taux de lymphocyte TCD4>350/mm³ avec (p<0,0001).

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

Graphique N°V : Evolution des valeurs de lymphocyte TCD4 > 350/mm³ et des valeurs de la charge >100.000copies/ml de M0 à M18.



On constate une évolution inversement proportionnelle des valeurs de lymphocyte TCD4 et de la charge virale de M0 à M18.

Tableau N°XXI : Répartition des patients en fonction des combinaisons thérapeutiques ARV à l'inclusion

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

TRAITEMENT	FREQUENCE (N)	POURCENTAGE (%)
TRIOMUNE	449	48,3
DUOVIR-N	161	17,3
ATRIPLA	86	9,2
COMBIVIR + EFV ou STOCRIM	49	5,3
COMBIVIR + KALETRA OU ALUVIA	15	1,6
COMBIVIR + NVP	10	1,1
LAMI_S + EFV	59	6,3
LAMI_S + NVP	3	0,3
LAMI_S + KALETRA	26	2,9
DUOVIR + EFV	12	1,3
DUOVIR + NVP	1	0,1
DUOIVR + KALETRA	2	0,2
ABC + DDI + KALETRA	28	3,0
AUTRES	29	3,1
Total	930	100,0

Près de la moitié de nos patients étaient sous Triomune alors que l'association Duovir NVP n'a constitué que 0.1% (schéma de première ligne).

Tableau N°XXII : Répartition des patients en fonction des protocoles thérapeutiques ARV par structure de provenance

STRUCTURE	CESAC	HGT	HPG	SM	Total
TRAITEMENT					
TRIOMUNE	240	147	57	5	449
DUOVIR-N	72	56	30	3	161

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

ATRIPLA	32	34	20	0	86
COMBIVIR + EFV	20	21	7	1	49
COMBIVIR + KALETRA OU ALUVIA	9	6	0	0	15
COMBIVIR + EFV	8	1	1	0	10
LAMI_S + EFV	37	14	7	1	59
LAMI_S + NVP	0	3	0	0	3
LAMI_S+KALETRA	13	12	0	1	26
DUOVIR+EFV	0	3	9	0	12
DUOVIR+NVP	0	1	0	0	1
DUOIVR+KALETRA	0	1	1	0	2
ABC+DDI+KALETRA	0	28	0	0	28
AUTRES	1	27	1	0	29
Total	432	354	133	11	930

La Triomune était la molécule la plus utilisée dans chaque structure

VI- Commentaires et discussions

1. Approches méthodologiques :

Nous avons effectué une étude de cohorte prospective. Une telle étude permet de suivre un nombre fixe de patients pendant un temps donné. Elle avait comme objectif général d'évaluer les réponses immunitaires et virologiques chez les patients sous ARV. Etendue sur une période de 18 mois (juillet 2008 à décembre 2009), cette étude nous a permis d'évaluer l'efficacité du traitement antirétroviral sur le plan biologique chez ces patients suivis dans le laboratoire biomédical ALGI. Au cours de notre étude, nous avons inclus 1050 patients pour bilan d'inclusion ou sous ARV depuis moins de deux mois ; et après six

mois seul 930 patients étaient réguliers, et ont bénéficié d'un suivi biologique régulier.

Après une période de suivi de 18 mois, l'âge moyen de nos patients était de 31,5 ans ; avec une prédominance féminine de 70%.

2. Limites et forces de l'étude

2-1. Limite: Notre étude a concernée seulement la ville de Bamako. Elle est loin d'être exhaustive pour l'ensemble des structures publiques ou associatives de prise en charge médicale des PVVIH du Mali. De part son caractère multicentrique, notre étude a eu des difficultés comme: la non complétude des informations, la durée du traitement, le schéma thérapeutique l'âge des patients dans les fiches d'enquêtes ou même inexistence des données de certains patients.

2-2. Force : Notre étude a cherché à déterminer l'importance de la charge virale et du dosage des TCD4 dans le traitement ARV chez les PVVIH. Elle nous a permis d'apprécier l'efficacité de ces traitements chez les PVVIH. Avec la gratuité des traitements ARV et le suivi biologique (le dosage du nombre de lymphocytes TCD4 et de charge virale) chez ces patients, des études ultérieures seront intéressantes pour un nombre élevé de patients.

3. Caractéristiques socio-démographiques des patients à l'inclusion :

Répartition des patients selon l'âge et le sexe :

Dans notre étude 45,7% de nos patients avaient un âge compris entre 16 et 35 ans. La moyenne de leurs âges était de 31,5 ans. D'autres études en Afrique subsaharienne ont rapportés des âges moyens variant entre 30 et 40.2 ans [7], [58], [59], [60], [61]. Ces résultats montrent que l'infection à VIH touche de façon prédominante la population jeune sexuellement active. Par ailleurs 15,6% de nos patients avaient un âge compris entre 0 et 15 ans. Dans cette tranche d'âge l'infection à VIH serait principalement liée à la transmission mère-enfant.

Nous avons noté une prédominance féminine de 70% de la population d'étude. La vulnérabilité du sexe féminin peut s'expliquer par l'anatomie de l'appareil génital féminin, faible pouvoir économique des femmes, la sexualité précoce, la fréquence élevée des IST susceptibles de favoriser la transmission du SIDA. Boukari OBT [60] au Togo, Dokekias et al. [7] au Congo avec, Danel et al. [58] en Côte d'Ivoire et Doucouré au Sénégal [62] avaient noté également une prédominance féminine. Par contre d'autres études avaient noté une prédominance masculine voire une parité entre les deux sexes. Kietiburanakul S et al [63] avec 51% d'homme, Kunar PN et al [64] et Manosuthi et al [65] ont eu autant de femmes que d'hommes.

4. Données sérologiques et thérapeutiques des patients à l'inclusion :

4-1. Nombre de lymphocyte TCD4 :

Le dosage régulier du taux de CD4 chez les patients VIH positifs sous thérapie reste un facteur important et déterminant dans l'évolution de la maladie. Pour les patients ayant un nombre de lymphocyte CD4 inférieur à 350, le temps moyen pour que le taux de TCD4 passe de 350 à 200/mm³ est de 3 à 5 ans. C'est pendant cette période que peuvent s'installer un certain nombre de symptômes de stade II. Le fait de commencer le traitement à ce stade a pour but de les éviter. La discussion reste malgré tout ouverte, car on sait que l'exposition à long terme aux antirétroviraux a des conséquences toxiques, si bien que certains plaident pour débiter à 250/mm³ TCD4. [57]

Dans notre étude le taux de TCD4 était entre 0-200/mm³ chez 43,7% des patients et situé entre 201 et 350 TCD4/mm³ chez 30,8% des patients au début du TAR. Ceci s'explique par l'admission très tardive des patients en consultation. En effet selon les recommandations du groupe des experts de France, le TAR devrait être entamé dès que le nombre de lymphocyte TCD4

atteint 350/mm³ chez les patients asymptomatiques. Dans notre étude le nombre moyen de TCD4 à l'inclusion était de 276/mm³ comparable à celui de Carmody et al [66] (276/mm³) au Brésil, et (255/mm³) de la série de Danel et al [58] en Côte d'Ivoire. Dokékias et al [7] au Congo, Sozio et al [67] en Italie, Saka et al [61] au Togo qui avaient noté respectivement des taux moyens de lymphocytes CD4 à l'inclusion de (133/mm³) ; (139/mm³) et (143/mm³), ces valeurs étaient légèrement inférieures aux nôtres. Getahun et al [68] avaient trouvé un taux moyen de lymphocytes TCD4 plus bas (13/mm³). Ces différences sont dues sûrement à la taille des différents échantillons.

4-2. La charge virale plasmatique

Chez le malade traité par les antirétroviraux, la charge virale constitue un marqueur essentiel du suivi de l'efficacité du traitement, l'idéal est de réaliser au moins deux déterminations annuelles et au minimum une détermination annuelle est indispensable. Elle permet l'évaluation virologique de l'efficacité et indirectement de l'observance après l'initiation d'un traitement ARV chez le patient naïf ; le suivi de l'efficacité du traitement chez les malades recevant une seconde ligne thérapeutique. Un traitement antirétroviral de première ligne correctement pris permet de contrôler la réplication du VIH, ce qui permet d'obtenir une charge virale plasmatique indétectable en moins de 6 mois. Un premier contrôle à 6 mois est donc recommandé. En cas de détectabilité de la charge virale, il s'agit le plus souvent d'une mauvaise observance, ce qui doit être suspectée et recherchée systématiquement. Il faut alors un appui renforcé à l'observance et refaire un contrôle de la charge virale au mieux 3 mois après. Chez des malades en première ligne de traitement antirétrovirale, l'échec thérapeutique, en particulier s'il est suspecté sur des critères cliniques et/ou

immunologique, peut être confirmé ou infirmé par la mesure de la charge virale. [57]

A l'instauration du traitement 90,9% des patients avaient une virémie supérieure à 100.000 copies/ml avec une moyenne de 656.101 copie/ml ; un minimum de 93 et un maximum de 11,3 millions copie/ml. Ces résultats sont superposables à ceux de Doucouré au Sénégal [62] avec une moyenne 521.942 copies/ml, de Dokekia [7] 214.000 copies/ml, 237.515 copies/ml chez Carmody et al [66] au Brésil et 95.740 copie/ml chez Laurent. C et col. [69]

Une virémie supérieure à 100000 copies/ml indique un patient à un stade très avancé de la maladie, dans chacune de ces séries une proportion importante des patients dépasse les 100.000 copies/ml. Cela est surtout dû à la prise en charge très tardive de la maladie dans les pays en développement.

5-3. Les protocoles thérapeutiques :

La Triomune était la combinaison la plus utilisée chez 48.3% des patients suivi du Duovir-N 17.3% et Viraday 9.3%. Nos résultats confirment que la Triomune est le protocole ARV de première ligne le plus utilisé dans les pays en développement. La combinaison fixe générique constituée de Stavudine (30 mg ou 40 mg), Lamivudine (150 mg) et Névirapine (200 mg). Triomune® est très utilisée à cause de son faible coût et de son efficacité démontrée par des études réalisées dans d'autres pays [1], [59]. Dans la série de Dokekias et al [7], la combinaison AZT ou D4T associée à 3TC et NVP était prescrite chez 59% des patients ; 33,2% des patients dans la série de Ferradini .L et al [70] étaient sous AZT+ 3TC + NVP. Le VIH-1 étant le seul type dans notre étude les traitements de secondes lignes sont généralement liés à des échecs thérapeutiques mais aussi à cause des effets secondaires.

5. Données sérologiques et thérapeutiques des patients durant le suivi

5-1. Taux de lymphocyte TCD4

Nous avons noté un gain en nombre moyen de lymphocyte TCD4 durant toute la période de suivi. Nos résultats suggèrent que les TAR entraînent une restitution immunitaire. Le taux de lymphocyte TCD4 était significativement plus élevé qu'a l'inclusion dès le sixième mois de traitement ($p < 0,0001$) et a augmenté ensuite régulièrement. A M6 41,5% des patients avaient un taux de TCD4 supérieur à $350/\text{mm}^3$; à M12 58,8% > $350/\text{mm}^3$ et à M18 68,6% avaient un taux de TCD4 supérieur à $350/\text{mm}^3$. Nos patients ont eu un gain moyen de lymphocyte TCD4 à M12 supérieur à ceux de SAKA et col [61] au Togo. Cela est sans nul doute dû à la prise en charge rapide des patients par la gratuite des ARV et du bilan biologique au Mali depuis 2004. A 18 mois Dokekias et al [7] avaient un taux moyen largement supérieur au nôtre.

Tableau XXIII. Répartition des gains moyens par série

SERIES	6 mois	12 mois	18 mois	24 mois
Notre étude (N=930)	111/ mm^3	234/ mm^3	250/ mm^3	ND
SAKA et col [61] (N= 1620)	117/ mm^3	150/ mm^3	ND	265/ mm^3
Dokekias et al [7] (N= 157)	121/ mm^3	182/ mm^3	353/ mm^3	ND
Danel et al [61] (N= 740)	156/ mm^3	ND	ND	ND
Ferrer et al [71] (N= 54)	137/ mm^3	123/ mm^3	ND	154/ mm^3

Ferradini et al [70] (N= 416)	182/mm ³	223/mm ³	ND	263/mm ³
------------------------------------------------	---------------------	---------------------	----	---------------------

ND= non défini

5-2. La charge virale plasmatique Après six mois de traitement 30,6% des patients inclus avait une charge virale plasmatique inférieure à 40 copies/ml. Cette proportion a augmenté durant toute la durée de l'étude. Au cours du suivi, la charge virale plasmatique était très significativement plus faible qu'à l'inclusion ($p < 0,0001$). Dès le 6ème mois de traitement, la réduction moyenne était de l'ordre de 597.715 copies/ml. A M12, 66,9% de nos patients avait une charge indétectable comparable aux 70% dans la série Dokekias et al [7]. Les résultats virologiques étaient comparables à ceux des pays occidentaux [72], [73].

5.3 Corrélation entre la baisse de la charge virale plasmatique et l'augmentation de TCD4 : Une bonne corrélation linéaire a été trouvée entre les valeurs, de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 $p < 0,0001$. Cette réduction massive de la charge virale reflète la dégradation rapide et l'élimination des virions du plasma et la production des lymphocytes TCD4.

VII – Conclusion et Recommandation

1- Conclusion : La prise en charge biologique des PVVIH a connu des progrès considérables au Mali avec la vulgarisation de la gratuité des antirétroviraux et du suivi biologique. Notre étude a cherché à évaluer les réponses immunitaires et virologiques dans cette chaîne de prise en charge. Nous avons inclus 930 patients ayant accédé au TAR depuis une période de deux mois au plus et ayant bénéficié d'un suivi biologique de 18 mois. Le nombre moyen de lymphocyte TCD4 était de $276/\text{mm}^3$ avec un minimum $1 \text{ cell}/\text{mm}^3$ et un maximum de $1696/\text{mm}^3$; la charge virale moyenne était de $656.101 \text{ copie}/\text{ml}$; avec un minimum de 93 et un maximum de 11,3 millions copie/ml au début du TAR. Les principales combinaisons thérapeutiques antirétrovirales initiales étaient la Triomune (48,3%), Duovir-N (17,7%) et Atripla (9,2%). Le taux d'observance durant la période de suivi était satisfaisant et il était mesuré sur la base des informations rapportées par les patients aux médecins. La réponse immunologique était caractérisée par un gain moyen de lymphocytes TCD4 de l'ordre de $250/\text{mm}^3$ après 18 de TAR. La réponse virologique était associée à une baisse moyenne de la charge virale de l'ordre de $656.100 \text{ copie}/\text{ml}$ après 18 mois de TAR. Le traitement antirétroviral bien conduit est faisable et aussi efficace dans le contexte Africain que dans les pays du Nord, malgré un stade clinique avancé à l'initiation du traitement chez des patients infectés du VIH-1. Mais le suivi biologique reste indispensable pour mener à bien le traitement et atténuer les effets secondaires.

2- RECOMMANDATIONS

A l'endroit des autorités

- Lutter pour la pérennisation de la gratuité du bilan biologique des PVVIH dans toutes les structures publiques privées et associatives.
- Recommander la réalisation régulière du bilan biologique (au moins 2 dosage du nombre de lymphocytes TCD4 et la charge virale).
- Consolider la PTME
- Vulgariser le dosage de la charge virale plasmatique et du dosage des lymphocytes TCD4.

A l'endroit du personnel soignant

- Débuter le traitement antirétroviral dès que le taux de TCD4 atteint $350/ mm^3$.
- Respecter la régularité du suivi biologique (au moins deux dosage du nombre de lymphocytes TCD4 et la charge virale plasmatique par an).
- Mentionner toutes les données cliniques et biologiques dans les carnets des PVVIH.

A l'endroit des patients

- Bien observer le traitement ARV.
- Faire un bilan biologique de contrôle tous les six mois (dosage du nombre de lymphocytes TCD4 et la mesure de la charge virale plasmatique).

References Bibliographiques

- 1- Quinn TC. HIV epidemiology and the effects of antiviral therapy on long term consequences. AIDS 2008; 22: 7-12.
- 2- World health organization (WHO). Global report 2006. Progress on global access to HIV antiretroviral therapy. WHO/UNAIDS 2006.
- 3- Médecine tropicale: le sida tropical (infection par le VIH/sida et tropique). Actualité 2008 www.medecine-tropicale.mht Consulté le 12-08-2010.
- 4- www.google.fr Centre d'Actualité de l'ONU, statistique ONUSIDA 2009-2010. Consulté le 12-08-2010.
- 5- www.google.fr Résultats de la prise en charge de l'infection à VIH au Mali Dr Alou SYLLA Coordinateur CSLS/MS 2009- 2010.

6- Recommandations du groupe des experts de France. Rapport 2008 sur la prise en charge médicales des personnes infectées par le VIH. Médecine-Sciences Flammarion, Paris.

7- Dokekias AE, Galiba FO, Bokilo AD, Ntsimba P, Ntsou MB, Malanda F, et al. Evaluation of antiretroviral therapy in HIV-infected adults in the department of Hematology, University Hospital of Brazzaville, Congo. Bull Soc Pathol Exot 2008; 101: 109-12.

8- Kiertiburanakul S, Khongnorasat S, Rattanasiri S, Sungkanuparph S. Efficacy of a generic fixed-dose combination of Stavudine, Lamivudine and Nevirapine (GPO-VIR) in Thai HIV infected patients. J Med Assoc Thai 2007; 90: 237-43.

9- www.google.fr info-medicament VIH in. Guide d'utilisation du test de la charge virale chez les adultes infectés par le virus d'immunodéficience humaine. Numéro 13 Avril 1998

10- F Barin Retroviridae : les virus de l'immunodéficience humaine (VIH) In A Mammette Virologie Médicale collection AZAY. Presse Universitaire de Lyon ISBN : 2-7297-0663-1. Chapitre 46 pages 569.

11- ONUSIDA, Rapport sur l'épidémie mondiale de sida en 2006. Édition spéciale 10eme Anniversaire de l'onusida.

12- Pichard E, Guindo A, Grossetete G, Fofana Y, Maiga I, Koumare B et coll. Infection par le VIH au Mali: Médecine tropicale Octobre. Décembre 1998; volume 48, pages 345-349.

13- Initiative Malienne d'accès aux ARV, EDSM-IV plan d'action atelier Bamako 2001-2006.

14- Razina Ali Ada Issa : Utilisation de la PCR en temps réel chez les nourrissons pour la diagnostique précoce de la transmission verticale du VIH. Thèse de pharmacie, BKO 2008- p- N°36.

15- Pierre Marie G, Christine K, Gilles P. In VIH édition 2007 ISBN : 978-2-7040-1231-2. DOIN EDITEURS.

16- www.google.fr Source : ONU/SIDA 2005. Consulté le 12-08-2010.

17- Coffin M. retrovirus: The Viruses and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM. Ed Fields Virology. Third. Philadelphia: Lippincott-Raven Publishers; 1996: 1767-1830.

18- Gallo RC. History of discoveries of the first human retroviruses: HTLV1 HTLV-2. Onchogene 2005; 24: 5926-30.

19- Mathieu R, Gessain A. new human retroviruses: HTLV-3 and HTLV-4. Med Trop 2005; 65: 525-8.

20- Barre-Sinoussi F. The early years of HIV research: integrating clinical and basic research. Nat Med 2003; 9: 844-6.

21- Courgnaud V, Muller-Trutwin M, Sonigo P. Evolution and virulence of primate lentiviruses. Med Sci (Paris) 2004; 20: 448-52.

22- Gordon S, Pandrea I, Dunham R et al. The call of the wild: What can be learned from studies of SIV infection of natural host? In: leitner T, Foley B,

Hahn B et al. HIV Sequence compendium 2005. Los Alamos: Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, NM. LAUR 06-0680: 2-29.

23- Fleury H.J.A. virologie humaine. Masson Bonn 1993 pages 173.

24- GYLLE Y, in : [www.google.fr / rubrique / santé/SIDA](http://www.google.fr/rubrique/sant%C3%A9/SIDA) (Décembre 2007). Consulté le 12-08-2010.

25- Seelamgari A, Maddukuri A, Berro R et al. Role of viral regulatory and accessory proteins in HIV-1 replication. *Front Biosci* 2004; 9:2388-413.

26- Gilles F et Benjamin. P. Le virus du SIDA sur [Www. snv. Jussieu.fr /vie/index/htlm](http://Www.snv.Jussieu.fr/vie/index/htlm). Consulté le 12-08-2010.

27- McCutcham FE. Global epidemiology of HIV. *J Med Virol* 2006; 78 suppl 1: S7-S12.

28- GOFF SP. Genetic control of retrovirus susceptibility in mammalian cells. *Annu Rev Genet* 2004, 38: 61-85.

29- Schacker T, Collier QC, hughes J et al. Clinical and epidemiologic features of primary HIV infection. *Ann Intern Med* 1996; 125:257.

30- Vanhems P, Allard R, Cooper DA et al. Acute human immunodeficiency virus type 1 disease as a mononucleosis-like illness – is the diagnosis too restrictive? *Clin Infect Dis* 1997; 24:965-70.

- 31- Kinloch-de-loes S, de Saussure P, Saurat JH et al.** Syptomatic primary infection due to human Immunodeficiency virus type 1: review of cases Clin infect Dis 1993; 17:59-65.
- 32- Arrêtés du 28 avril 2003** fixant les conditions particulières d'évaluation et d'utilisation des réactifs de dépistage et de confirmation de anti-corps anti-VIH 1 et 2 et des anti-corps anti- HTLV-1 et II. Parution au JO du 13 mai 2003, page 8211.
- 33- Noumsi Tchuenta Ghislain :** Les paramètres de l'hémostase chez les personnes vivant avec le VIH au Mali. Thèse Médecine, Bko 2002, P N°126
- 34- Mellors J W Rinaldo CRJ, Gupta P et al.** Prognosis in HIV-1 infection prediction by the, quantity of Virus in plasma. Science 1996, 272: 1167-70.
- 35- O'Brien WA. Hartigaan PM, Martin D et al.** Changes in plasma HIV-1 RNA and CD4+ lymphocyte counts and the (Espace_réservé1) risk of progression to AIDS. N Engl JMed 1996; 334:426-31
- 36- Yeni P (coord).** Prise en charge medicale des personnes infectees par le VIH. Recommandation du groupe d, experts. Paris : Flammarion Medecine-Sciences 2006 (consultable sur [http:// www. Sante. Gouv.fr](http://www.Sante.Gouv.fr)).
- 37- Yeni PG, Hammer SM, Carpenter CCJ et al.** Antiviral treatment for adult HIV infection in 2002. Updeted recommendations of the international AIDS Society-USA Panel. JAMA 2002; 288:222-35.
- 38- Fauci AS.** Multifactorial of humane virus immunodificiency virus disease: multiplication for therapy. Science 1993; 262:104.

39- Janossy G, Autran B, Miedema F. Immunodeficiency in HIV infection and AIDS. Bale: Karger; 1991.

40- Levy JA. Infection by human immunodeficiency virus CD4 is not enough. N Engl J Med 1996; 14:1528-30.

41- Rosenberg ES, Billingsley JM, Caliendo AM et al. vigorous HIV specific CD4+ T cell reponse associated with control of viremia. Science 1997; 278: 1447-50.

42- Martinez V, Costagliola D, Bonduelle O et al. combinaison of HIV-1-specific CD4 Th1 cell reponses and IgG2 antibodies is the best predictor for persistence of long-term non progression. J Infect Dis 2005; 191:2053-63.

43- GUINDO O., Infections à VIH et à VHB chez les donneurs de sang. Thèse Pharm, Bamako 2003, N°26

44- www.positives.fr: Les marqueurs biologiques de l'infection à HIV. Consulté le 05/11/2010

45- Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. [HIV Outpatient Study Investigators](#). [Archive], N Engl J Med. 1998 Mar 26; 338(13):853-60. et **(fr)** Baisse de la morbidité et de la mortalité chez les patients à un stade avancé de l'infection VIH [archive], transcriptases, n°65 - mai 98.

46- Séropositivité, HAART et mortalité [archive], transcriptases, n°119 - décembre/janvier 2005 sur [www. Piste.fr/ transcriptases/119_427 htm](http://www.Piste.fr/transcriptases/119_427.htm). Consulté le 12-08-2010.

47- Raven, Jonhson, Losos, Singer. *Biologie*, chapitre 26.3, page 538.

48- www.wikipedia.org/wiki/Anti%C3%A9troviral. Consulté le 12-06-2010.

49- Jean-François Delfraissy et autres, « Prise en charge thérapeutique des personnes infectées par le VIH - Rapport 2004 Sous la direction du Professeur Jean-François Delfraissy [archive] », 2004, Éditions Flammarion, p. 43. Consulté le 3 décembre 2007.

50- Jean-François Delfraissy et autres, « Prise en charge thérapeutique des personnes infectées par le VIH - Rapport 2004 Sous la direction du Professeur Jean-François Delfraissy [archive] », 2004, Éditions Flammarion, p. 48-49. Consulté le 3 décembre 2007 (consulté le 1^{er} juin 2010)

51- Gérard Ammerich, « Sida et trithérapie [archive] », 2004, *SantéGuérir. fr*
Consulté le 3 décembre 2007

52- Ministère de la santé du Mali. Politique et protocole de prise en charge antirétroviral du VIH et du Sida. Bamako : janvier 2006 ; page 63.
Www.sante.gov.ml Consulté le 05/11/2010

53- plan stratégique national de lutte contre le VIH/sida au Mali, 2001-2005.
Www.sante.gov.ml. Consulté le 05/11/2010

54- Chun TW, Fauci AS. Latent reservoirs of HIV: obstacles to the eradication of virus. Proc Natl Acad Sci USA 1999; 96: 10958-61.

55- CHUN TW, Dave RT Jr, Engel D et al. Re-emergency of HIV after stopping therapy. Nature 1999; 401:874-5.

56- Tall Tidiani: Contribution d'un laboratoire privé ALGi au Suivi biologique des patients VIH positifs au Mali : Cas de la charge virale. Mémoire de DEA 2010.

57- Mesure du taux de lymphocytes T CD4, mesure de la charge virale, diagnostic précoce chez l'enfant né de mère infectée

Groupe de Travail BIOLOGIE - GIP ESTHER EDITION 2008

58- Danel C, Moh R, Azian A, Abo Y, Chenal H, Guehi C, et al. Tolerance and acceptability of an Efavirenz-based regimen in 740 adults (predominantly women) in west Africa. J Acquir Immune Defic Syndr 2006; 42: 29-35.

59-. Mouhari-Touré A, Saka B, Kombaté K, Tchangai-Walla K, Pitché P. Tolérance clinique de la combinaison fixe générique Stavudine /lamivudine /Névirapine (Triomune*). Etude de 297 cas au Togo. Bull Soc Pathol Exot 2008 ; 101 :404-6.

60- Boukari OBT. Profil des infections opportunistes en milieu hospitalier à Lomé. Thèse Méd. Université de Lomé 2010. Numéro2.

61- SAKA Bayaki, LANDOH D. Evaluation des traitements ARV: étude de cohorte rétrospective des patients sous traitement antirétroviral au Togo, 2001 – Janvier 2009

62- Docteur El hadji DOUCOURE. EVALUATION CLINIQUE ET BIOLOGIQUE DES PVVIH DANS LE DISTRICT SANITAIRE DE RICHARD-TOLL DE 2004 à 2007 sur google.fr Consulté le 05/11/2010

63 Kiertiburanakul S, Khongnorasat S, Rattanasiri S, Sungkanuparph S. Efficacy of a generic fixed-dose combination of stavudine, lamivudine and nevirapine (GPO-VIR) in Thai HIVinfected patients. J Med Assoc Thai 2007; 90: 237-43.

64 Kumar PN, Rodriguez-French, Thompson MA, Tashima KT, Averitt D, Wannamaker PG, et al. A prospective, 96-week study of the impact of Trizivir, Combivir/nelfinavir, and lamivudine/stavudine/nelfinavir on lipids, metabolic parameters and efficacy in antiretroviral-naive patients: effect of sex and ethnicity. HIV Med 2006; 7: 85-98.

65- Manosuthi W, Kiertiburanakul S, Chovavanich A, Sungkanuparph S. Plasma nevirapine levels and 24-week efficacy of a fixed-dose combination of stavudine, lamivudine and nevirapine (GPO-VIR) among Thai HIV-infected patients. J Med Assoc Thai 2007; 90: 244-50.

66- Carmody ER, Diaz T, Starling P, Dos Santos AP, Sacks HS. An evaluation of antiretroviral HIV/AIDS treatment in a Rio de Janeiro public clinic. Trop Med Int Health 2003; 8: 378-85.

67 Sozio F, Polilli E, D Annunzio M, Falconi L, Di Masi F, Tontodonati M, et al. Efficacy and safety of a salvage regimen based on tipranavir, enfuvirtide and three nucleoside analogues in HIV1 infected patients with clinical progression: 96-week evaluation. *Infez Med* 2009; 17: 228-35.

68- Getahun A, Tansuphasawadikul S, Desakorn V, Dhivat J, Pitisuttihum P. Efficacy and safety of generic fixed-dose combination of stavudine, lamivudine and nevirapine (GPO-vir) in advanced HIV infection. *J Med Assoc Thai* 2006; 89: 1472-8.

69 LAURENT .C, NGOM GUEYE. N.F, DIAKHATÉ. N , GUEYE M.P, DIOUF.M et col. Efficacité et tolérance du traitement antirétroviral dans le contexte de l'Initiative sénégalaise d'accès aux antirétroviraux

70- Ferradini L, Laureillard D, Prak N, Ngeth C, Ferandez M, Pinoges L, et al. Positive outcomes of HAART at 24 months in HIV-infected patients in Cambodia. *AIDSS* 2007; 21: 2293-301.

71- Ferrer E, Gatell JM, Sanchez P, Domingo P, Puig T, Niubo J, et al.

Zidovudine/lamivudine/Abacavir plus Tenofovir in HIV-infected naive patients: a 96-week prospective one-arm pilot study. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2008; 24:931-4.

72- Carr A, Chuah J, Hudson J, French M, Hoy J, Law M, et al. A randomised, open-label comparison of three highly active antiretroviral therapy regimens including two nucleoside analogues and indinavir for previously untreated HIV-1 infection: the Ozoomboj study. *AIOS* 2000; 14 (9): 1171-80.

73- Eron Jr. JJ, Murphy RL, Peterson D, Pottage J, Parenti DM, Jemsek J, et al. A comparison of Stavudine, didanosine and Indinavir with zidovudine, Lamivudine and Indinavir for the initial treatment of HIV-1 infected individuals: selection of thymidine analog regimen therapy (START II). *AIDS* 2000; 14 (11): 1601-10.

Fiche signalétique

Nom : **DOLO**

Prénom **MARIAM**

Titre :

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

Evolution de la charge plasmatique et du taux de lymphocyte CD4 chez une cohorte de 930 patients sous traitement ARV au laboratoire privé ALGI de Juillet 2008 à 2009.

Année Universitaire : 2010-2011.

Ville de soutenance : Bamako

Pays : Mali

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

Secteur d'intérêt : Virologie Microbiologie

Mots clés : charge virale du VIH, taux de lymphocyte TCD4 .

Contact : 0022373267405

Email : riama_do@yahoo.fr

Résumé :

La gratuité des ARV et du suivi biologique décrétée depuis 2004 au Mali a contribué à l'accélération de la couverture thérapeutique et des examens biologiques. Le but de notre étude était d'évaluer l'importance de la charge virale plasmatique et le taux de lymphocyte TCD4 chez les PVVIH durant notre période d'étude. Notre étude nous a permis d'inclure 930 patients de PVVIH

ayant accédé au TAR depuis une période de deux mois au plus et ayant bénéficié d'un suivi biologique régulier. L'âge moyen de nos patients était de 31,5 ans. La couche la plus touchée était celle des femmes avec 70% des patients. Au début du TAR, le taux moyen de lymphocyte TCD4 était de $276/mm^3$ et la charge virale moyenne était de 656.101copies/ml. Les principales combinaisons thérapeutiques antirétrovirales initiales étaient la Triomune (48.7%), Duovir/N (17.7%) et Atripla (9.2%). Le taux d'observance durant la période d'étude a été satisfait selon les sources médicales. Les réponses immunologiques et virologiques étaient caractérisées par un gain moyen de lymphocyte TCD4 de l'ordre de $250/mm^3$ et une diminution moyenne de la charge virale plasmatique de l'ordre de 656.100copies/ml après dix huit mois de traitement ARV. Notre étude conforte la place du suivi de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 durant le TAR dans l'amélioration de la qualité de vie des personnes vivant avec le VIH/SIDA.

Abstract:

Free ARVs and biological monitoring enacted since 2004 in Mali has contributed to accelerating the therapeutic and biological tests coverage. The aim of our study was to assess the importance of plasmatic viral load and the rate of CD4 lymphocyte in PLHIV during our study's period. Our study enabled us to include 930 PLHIV patients who have gotten access to Anti-Retroviral Treatment (ART) for a period of two months at the most and who have received regular biological monitoring. The average age of our patients was 31.5 years.

The most affected group was that of women with 70% of the patients. At the beginning of ART, the average rate of CD4 lymphocytes was 276/mm³ and the average viral load was 656,101copies/ml. The main initial antiretroviral therapy combinations were Triomune (48.7%), Duovir / N (17.7%) and Atripla (9.2%). The compliance rate during the study period was satisfied according to medical sources. Immunological and virological responses were characterized by an average gain of CD4 lymphocytes of 250/mm³ and an average decrease in the viral load of 656,100 copies ml after eighteen months of ARV treatment. Our study reinforces the role of plasmatic viral load monitoring and of the rate of CD4 lymphocyte during ART in improving the quality of life of people living with HIV/AIDS.

Annexes

Fiche d'enquête N°.....

I IDENTIFICATION DU PATIENT

1- Numéro d'identification du patient:.....

2- Numéro d'enregistrement du labo à M0.....

Numéro d'enregistrement du labo à M6.....

Numéro d'enregistrement du labo à M12.....

3- Structure :

1= CESAC 2=HGT 3=HPG 4=CHME 5=MS

4-Age:.....

5-Sexe:

1 = femme 2 = homme

III **DONNEES BIOLOGIQUES**

Détermination de la charge virale

M0.....

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

M6.....

M12.....

IV Combinaison thérapeutique :

Matériels utilisés : pour la charge virale

Le NucliSENS EasyQ HIV-1 V1.2 du Laboratoire Mériex

- **Réactifs utilisés** :

Tableau 1 : lysis Buffer Température ambiante : +15 à +30°C Au frigo : +2 à +8°C

Contenu	Composant	Description
48×2ml	Lys	Tampon de lyse Contient du thiocynate de guanidine

Tableau 2 : NucliSENS Magnetic Extraction Reagents entre 2 et 8°C

Contenu	Composant	Description
6×0,6ml	SIL	Silice : particules de silice paramagnétique ; code de couleur : blanc
6×9ml	Wash buf1	Tampon de lavage1 : contenant de du thiocyanate de guanidine Code de couleur : transparent
6×11ml	Wash buf2	Tampon de lavage2 : contenant tampon organique et solution biocide Code de couleur rouge

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

12×6ml	Wash buf3	Tampon de lavage3 contenant tampon organique Code couleur : jaune
12×1ml	EluBuf	Tampon d'élution Contenant tampon inorganique code couleur jaune

Tableau 3 : NucliSENS EasyQ HIV-1 v 2.0 ou 1.2 entre 2 et 8°C

Contenu	Composant	Description
1	CD-ROM	Instruction d'utilisation de NucliSENS EasyQ v 1.2 ou 2.0
6×6mg 60×6mg	CAL H	Calibrateur : Sphère lyophilisée contenant de l'ARN Calibrateur synthétique.
6×15ml 60×1,5ml	CALdil H	Diluant du Calibrateur : eau exempte de ARNase/DNase et du Proclin ; couleur du bouchon jaune
6×1,5ml 60×1,5ml	ENZ II	Enzyme : Sphère lyophilisée contenant l'AMV-RT, la ARNase H, l'ARN polymeraseT7, le XCFF et l'albumine sérique bovine (BSA) couleur

bouchon rouge		
6×0,5ml	ENZdil H	Diluant d'enzyme : Eau exempte de
10×0,5ml		ARNase/DNase γ -irradié ; couleur bouchon rouge
6×15ml	PRM H	Amorce : sphère lyophilisée contenant des amorce
10×90ml		et des balises moléculaire synthétique, des nucléotides, du dithiothréitol et du MgCl ₂ ; couleur du bouchon bleu
6×1,2ml	PRMdil H	Diluant d'amorce : TRIS/HCl, 30% DMSO.
10×1,2ml		Sorbitol couleur du bouchon bleu

Extraction d'acide nucléique :

Mode Opérateur :

Lyse :

- 1- Centrifuger le tube de Tampon de Lyse 10 secondes à 1500 g
- 2- Ouvrir le tube de Tampon de Lyse et ajouter 1 ml d'échantillon
- 3- Fermer tube de Tampon de Lyse, vortexer
- 4- Incuber 10 minutes à température ambiante

Fixation :

- 1- Centrifuger le tube de Tampon de Lyse 10 secondes à 1500 g

- 2- Ouvrir le tube de Tampon de Lyse et ajouter 100 µl du mélange (550µl du Contrôle interne + 550 µl de Silice)
- 3- Fermer tube de Tampon de Lyse, vortexer
- 4- Incuber 10 minutes a temperature ambiante

Lavage :

- 1- Centrifuger le tube de Tampon de Lyse 2 minutes à 1500 g
- 2- Ouvrir le tube de Tampon de Lyse et retirer le surnageant
- 3- Ajouter 400 µl de Tampon de Lavage 1 (transparent O) et transférer dans un micro tube 1,5 ml
- 4- Laver 30 secondes STEP 1 sur NucliSENS mini MAG (rampe magnétique levée)
- 5- Eliminer tout le liquide (rampe magnétique levée)
- 6- Rampe magnétique baissée, ajouter 400 µl de Tampon de Lavage 1 (transparent O). Répéter 4 et 5
- 7- Rampe magnétique baissée, ajouter 500 µl de Tampon de Lavage 2 (rouge). Répéter 4 et 5
- 8- Répéter 7
- 9- Rampe magnétique baissée, ajouter 500 µl de Tampon de Lavage 3 (bleu).

10- Laver 15 secondes STEP 1 sur NucliSENS mini MAG (rampe magnétique levée)

11- Eliminer tout le liquide

12- Elution:

1- Ajouter 25 µl de Tampon d'élution (jaune)

2- Incuber 5 minutes à 60°C dans le thermo shaker (vitesse 1400 rpm)

3- Placer les tubes sur le portoir magnétique.

4- Ouvrir les tubes et transférer l'élua dans un micro tube propre et étiqueté

Amplification et détection de l'acide nucléique :

*** Mode Opérateur**

Enzymes : Ajouter 45 µl de Diluant Enzyme à l'enzyme lyophilisée Attendre 15 minutes puis homogénéiser avec de petites pichenettes; si plusieurs barrettes sont réalisées, pooler les sphères avant reconstitution

Amorce : Ajouter 180µl de Diluant Primer aux amorces lyophilisées. Vortexer immédiatement pour obtenir une solution limpide ne pas centrifuger si plusieurs barrettes sont réalisées, pooler les sphères avant reconstitution

Éluats : Ajouter 15 µl d'éluat dans chaque cupule ;

- Ajouter 20 µl du mix d'amorces au fond de chaque tube ;

- Utiliser un embout propre pour chaque cupule.

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

Placer les barrettes dans l'incubateur EasyQ avec le portoir et démarrer le programme 1.

Distribuer 5 μ l de solution enzymatique dans les bouchons des barrettes ;

Lorsque l'incubateur sonne, placer les bouchons sur les barrettes et sceller par le scelleur.

Identifier les barrettes

Centrifuger les barrettes 2 secondes

Mixer les barrettes sur toutes leurs longueurs avec des pichenettes

Centrifuger les barrettes 2 secondes

Transférer les barrettes dans l'analyseur et démarrer le run.

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

NUCLISENS EASYQ



M2000rt HIV-1 du laboratoire Abbott

Pour la mesure de la charge virale plasmatique charge virale.

- **Réactifs utilisés** : Abbott système de préparation des échantillons

Contenu	Composant	Description
4×MD130A	Lys	Tampon de lyse Contient 100mmol/l de solution TRIS contenant du thiocyanate de guanidine

Abbott systeme d'extraction des échantillons

Contenu	Composant	Description
4×MD134A	microparticules	1,5% de microparticules dans 50% de MD130A
4×MD131A	Wash 1	Tampon de lavage 1 : 50mmol/l de solution d'acétate contenant du thiocyanate guanidinium et du détergent

4×MD132A	Wash 2	Tampon de lavage2 : eau sans nucléase
4×MD133A	EluBuf	Tampon d'élution : /l de solution phosphate avec un conservateur

Abbott_système d'amplification des échantillons des échantillons

Contenu	Composant	Description
4×1.2ml	IC	Control interne : 0,01% d'ARN encapsulé non infectieux comprenant des séquence de control interne dans le plasma humain
1×0,141ml	ENZ	Enzyme: enzyme rTth polymerase thermostable dans une solution de tampon.
1×1,10ml	ORG	Réactif d'oligonucléotide : 4 amorces, 2 sondes, 1oligonucléotide désactivateur.
1×0.40ml	REA	Réactif d'activation : 30mM de solution de chlorure de manganèse.

- **Extraction d'acide nucléique :**

***Mode opératoire:**

❖ **La solution de Lyse :**

- 1 – Mettre 100µl de micro particule dans un tube de 1.5ml.
- 2 – Ajouter 2.4ml de tampon de lyse contenant du contrôle interne.
- 3 – Mettre 600µl d'échantillon dans chaque tube de 1.5ml.
- 4- Placer les tubes dans un incubateur à 50°C et attendre 20min.
- 5-Retirer les tubes du bain chauffant et les placer sur le portoir magnétique pendant 2min et retirer le surnageant de chaque tube.

❖ **Le Lavage :**

- 6- Ajouter 700µl du tampon de lavage 1 et remettre le micro particules en suspension par aspiration.
- 7- Retirer avec soin le tampon de lavage 1 de chaque tube sur portoir magnétique, répéter la même opération 2 fois.
- 8- Ajouter 700µl de tampon de lavage 2 et remettre les micros particules en suspension par aspiration.
- 9- Retirer avec soin le tampon de lavage 2 de chaque tube. Répéter la même opération 2 fois.

❖ **L'Elution**

- 10- Ajouter 25µl de tampon d'élution et remettre les micros particules en suspension par aspiration

11- Placer les tubes dans un incubateur à 75°C pendant 20min.

12- Ajouter 63µl de tampon de lavage 2 et remettre les particules en suspension par aspiration.

13- Retirer l'élua et transférer dans le tube de 1.5ml.

- **Amplification.**

*** Mode Opérateur**

1- Ajouter 271µl du réactif 1 dans le flacon du réactif 3 et 949µl du réactif 2 dans le flacon du réactif 3, transférer le tout dans un autre tube vortexer pour homogénéiser.

2- Préparer la plaque à 96 puits.

3- Distribuer 50µl du Master Mix dans chaque puits.

4- Ajouter 50µl d'éluat pour chaque échantillon.

5- Vérifier le niveau de remplissage.

6- Utiliser un couvercle adhésif optique Abbott m2000rt et fixer à l'aide d'un applicateur.

7- Centrifuger la plaque à 96 puits.

8- Placer la plaque dans l'analyseur.

Interprétation des résultats

Volume d'échantillon	Résultat	Interprétation
0,1ml	Not Detected	Cible non détectée
	<1,60copies [log/ml] ^a	Détectée
	1,60 à 7copies [log/ml]	
	>7copies [log/ml]	>ULQ d (LSQ)
0,6ml	Not Detected	Cible non détectée
	<1,60copies [log/ml] ^a	Détectée
	1,60 à 7copies [log/ml]	
	>7copies [log/ml]	>ULQ d (LSQ)
0,5ml	Not Detected	Cible non détectée
	<1,60copies [log/ml] ^b	Détectée
	1,60 à 7copies [log/ml]	
	>7copies [log/ml]	>ULQ d (LSQ)

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

0,2ml	Not Detected	Cible non détectée
	<1,60copies [log/ml] c	Détectée
	1,60 à 7copies [log/ml]	>ULQ d (LSQ)
	>7copies [log/ml]	

^a = 40 copies/ml

^b = 75copies/ml ^c = 150copies/ml

^d = ULQ= LSQ

(limite supérieur de quantification).

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

m2000rt



Le FasCount : Pour la mesure du taux de lymphocytes TCD4+.

- **Réactifs utilisés :**

- facsc Baeds (contrôles) conservés entre 2 et 8 °C
- facsc Flow (lecture) conservé à température ambiante
- facsc Clean pour le lavage
- facsc Rinse pour le rinçage
- facsc distillée pour maintenir l'aiguille en bon état
- facsc Réagent boîte de réactif contenant 50 paires de réactifs avec billes et anticorps monoclonaux conjugués CD4/CD8 dans une solution de tampon ; à conserver entre 2 et 8°C

Comptage des taux de CD4 :

***Préparation et analyse des échantillons :**

- Préparation des échantillons :

Utiliser la pipette électronique FasCount pour pipeter le sang, les billes de contrôle et la solution de fixation.

Inscrire le numéro d'identification du patient sur l'étiquette de la paire de réactifs.

Passer la paire de tubes au vortex, en position renversée, pendant 5 secondes.

Passer la paire de tubes au vortex, en position droite, pendant 5 secondes.

Ouvrir les tubes à l'aide de la station de perçage.

Mélanger le tube de sang total du patient en le renversant 5 fois.

Ajouter par pipetage 50µl de sang total du patient dans chaque tube.

Reboucher les 2 tubes et passer les au vortex, en position droite, pendant 5 secondes.

Laisser incuber de 60-120 mn à température ambiante et à l'obscurité dans la solution de travail.

Déboucher les tubes et ajouter par pipetage 50µl de solution de fixation dans chaque tube.

Reboucher les tubes et passer les au vortex, en position, pendant 5 secondes.

Analyser l'échantillon avec le système FasCount dans les 24h suivant sa préparation.

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

FASCOUNT



Serment de Galien

« Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples : D'honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement ;

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

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

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

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque. »

Evolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocyte TCD4 chez une cohorte de 930 patients sous ARV suivi sur 18 mois au Laboratoire Privé ALGI à Bamako (Mali)

Je le jure.