MINISTERE DE L'EDUCATION NATIONALE

République du MALI

Un Peuple-Un But-Une Foi

UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO

Faculté de Pharmacie

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

THESE N°____/

HERPES SIMPLEX VIRUS IDENTIFIE DANS LES ULCERATIONS BUCCALES OU GENITALES CHEZ LES PERSONNES VIVANT AVEC LE VIH SUIVIES AU CESAC DE BAMAKO ET DANS LE SERVICE DES MALADIES INFECTIEUSES DU CHU DU POINT G

Présentée et soutenue publiquement le ……/……/2019

Devant la Faculté de Pharmacie par

M. Amadou DIENG

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

JURY

Président : Pr. Sounkalo DAO

Membre : Dr Jean Paul DEMBELE

Membre : Dr Mahamadou SAVADOGO

Co directeur: Dr Ibréhima GUINDO

Directeur : Pr. FLABOU BOUGOUDOGO

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE PHARMACIE

FACULTE DE PHARMACIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

ADMINISTRATION

DOYEN : M. Boubacar TRAORE - Professeur
VICE-DOYEN : M. Ababacar I. MAIGA - Professeur
SECRETAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY Administrateur civil
AGENT COMPTABLE : M. Famalé DIONSAN Inspecteur des finances

PROFESSEURS HONORAIRES

Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologie
Mahamadou	CISSE	Biologie
Daouda	DIALLO	Chimie générale & minérale
Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
Boulkassoum	HAIDARA	Législation
Moussa	HARAMA	Chimie organique (décédé)
Gaoussou	KANOUTE	Chimie Organique
Alou A	KEITA	Galénique
Mamadou	KONE	Physiologie
Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
Brehima	KOUMARE	Bacteriologie/Virologie
Abdourahamane S.	MAIGA	Parasitologie
Elimane	MARIKO	Pharmacologie

DER DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES

1. PROFESSEURS/DIRECTEUR DE RECHERCHE

Mounirou	BABY	Hématologie
Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
Abdoulaye	DABO	Biologie/parasitologie
Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
Alassane	DICKO	Santé Publique
Amagana	DOLO	Parasitologie-Mycologie
Akory AG	IKNANE	Santé publique/Nutrition
Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

Flabou	BOUGOUDOGO	Bactériologie-Virologie
Abdoulaye	DJIMDE	Microbiologie-Immunologie
Aldjouma	GUINDO	Hématologie
Bourèma	KOURIBA	Immunologie **Chef de DER**
Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé environnement

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGE DE RECHERCHE

Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-Virologie
M. Charles	ARAMA	Immunologie
Boubacar Tiétè	BISSAN	Biologie clinique
Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
Antoine	DARA	Biologie Moleculaire
Souleymane	DAMA	Parasitologie-Mycologie

Djénéba Koumba	DABITAO	Biologie moléculaire
Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
Klétigui Casimir	DEMBELE	Biochimie Clinique
Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
Yaya	GOITA	Biochimie clinique
Ibrehima	GUINDO	Bactériologie virologie
Kassoum	KAENTAO	Santé Publique/Bio statistiques
Amadou	KONE	Biologie moléculaire
Birama Apho	LY	Santé publique
Dinkorma	OUOLOGUEM	Biologie Cellulaire
Issaka	SAGARA	Santé Publique/Biostatistiques
Samba Adama	SANGARE	Bactériologie
Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire
M. Mahamadou Soumana	SISSOKO	Santé Publique/Bio statistiques

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
Issa	DIARRA	Immunologie
Mamadou Lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
Fatou	DIAWARA	Epidémiologie
Merepen dit Agnes	GUINDO	Immunologie
Oumar	GUINDO	Epidémiologie
Falaye	KEITA	Santé publique/Santé environnement
N'Deye Lallah Nina	KOITA	Nutrition
Yacouba	MAIGA	Bio statistique
Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
Oumar	SANGHO	Epidémiologie
Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS/ DIRECTEUR DE RECHERCHE

Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
Saibou	MAIGA	Législation
Rokia	SANOGO	Pharmacognosie **Chef de DER**

2. MAITRE DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

Néant	-	-

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Loséni	BENGALY	Pharmacie Hospitalière
Bakary Moussa	CISSE	Galénique
Yaya	COULIBALY	Législation
Issa	COULIBALY	Gestion
Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
Hamma Boubacar	MAIGA	Galénique
Moussa	SANOGO	Gestion
Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
Adama	DENOU	Pharmacognosie
Sekou	DOUMBIA	Pharmacognosie

Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie
Assitan	KALOGA	Législation
Ahmed	MAIGA	Législation
Aichata Ben Adam	MARIKO	Galénique
Aboubacar	SANGHO	Législation
Bourama	TRAORE	Législation
Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER DES SCIENCES DU MEDICAMENT

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

Benoit Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
M. Ababacar I.	MAIGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

M. Sékou	BAH	Pharmacologie **Chef de DER**

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

M. Dominique patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
Tidiane	DIALLO	Toxicologie
Hamadoun Abba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
Blaise	DACKOUO	Chimie Analytique
Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
Madani	MARIKO	Chimie Analytique
Mohamed El Béchir	NACO	Chimie Analytique
Mahamadou	TANDIA	Chimie Analytique
Dougoutigui	TANGARA	Chimie Analytique

DER : SCIENCES FONDEMANTALES

1. PROFESSEURS / DIRECTEUR DE RECHERCHE

MOCTAR	DIALLO	Biologie/ **Chef de DER**
Cheick F	TRAORE	Biologie/ Entomologie
Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFERENCES/ MAITRE DE RECHERCHE

Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

3. MAITRES ASSISTANTS/ CHARGE DE RECHERCHE

Abdoulaye	KANTE	Anatomie
Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANTS/ ATTACHE DE RECHERCHE

Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
Modibo	DIALLO	Génétique
Moussa	KONE	Chimie organique
Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
Babou	BA	Anatomie
Adourahamane	COULIBALY	Anthropologie Médicale
Souleymane	COULIBALY	Psychologie de la Santé
Bouba	DIARRA	Bactériologie
Modibo	DIARRA	Nutrition
Moussa I.	DIARRA	Biophysique
Babacar	DIOP	Chimie
Atimé	DJIMDE	Bromatologie
Yaya	KANE	Galénique
Boubacar	KANTE	Galénique
Aboubakary	MAIGA	Chimie Organique
Massambou	SACKO	SCMP/SIM
Modibo	SANGARE	Anglais
Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-Embryologie
Fatoumata	SOKONA	Hygiène du Milieu
Fana	TANGARA	Maths
Abdel Kader	TRAORE	Pathologies Médicales
Djenebou	TRAORE	Sémiologie/Pathologies Médicales
Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

Bamako, le 09 janvier 2019
P/Le Doyen/PO
Le Secrétaire Principal

Seydou COULIBALY
Administrateur Civil

DEDICACES

Je rends grâce à « ALLAH »
Le TOUT PUISSANT, le CLEMENT, le MISERICORDIEUX.
Au Créateur de toute chose **''ALLAH''** qui nous a donné une longue vie ainsi que la santé et l'opportunité de venir à bout de ce travail.
Et son Prophète Mohamed (Paix et Salut sur Lui)
Je dédie ce travail :
A mon père : Aboubacar SIDIKI DIENG,
Homme aux qualités exceptionnelles. Je te serais éternellement reconnaissant pour la vie et tout ce que tu m'as appris: le courage, l'honneur, la dignité et le travail. Je suis fier d'être ton enfant. Tu m'as éduqué sur les principes et la bonne conscience. Que tous tes vœux soient exhaussés et que Dieu le tout puissant te donne longue vie pour admirer le fruit de ton effort.
A ma mère : Bassira DIALLO
Tu es une mère exceptionnelle pour moi, tu as joué pleinement ton rôle de mère et de bon guide en assumant tes responsabilités de mère de famille. Pour moi, tu resteras un exemple de femmes modèles, car les épreuves de la vie et celle du mariage ne t'ont pas empêché de te battre pour l'éducation et la réussite de tes enfants. Je suis fier d'être ton enfant. Je suis fier d'être le fils d'une femme courageuse, battante et réconciliatrice que tu es et qui n'a jamais lésiné sur les moyens pour inculquer à ses enfants le sens de la fraternité et de la rigueur qui garantit un travail bien fait. Que tous tes vœux soient exhaussés et que Dieu te donne longue vie pour admirer le fruit de votre effort.
A mes frères et sœurs :
Madina, Fatoumata, Aïssata, Oumar et Bassira
L'union, la solidarité et l'amour sont la plus grande richesse de la famille. Vous avez tous été d'un soutien inestimable tout au cours de mes longues années d'études. L'occasion m'est offerte de vous rappeler que les liens de sang sont sacrés. Je vous prie d'accepter ici l'expression de ma sincère reconnaissance. Qu'ALLAH vous bénisse.
A ma femme Dr Ramatou DIAKITE :
Femme aux multiples qualités, tu fais de mon quotidien une succession infinie de bonheur, Qu'Allah bénisse notre couple avec tout le bonheur qui s'y trouve.
A mon ami et frère Feu Simbala WADIOU
Que ton âme repose en paix et qu'ALLAH dans sa miséricorde t'accueille ainsi que tous les musulmans dans son djanatoun Firdaws.

REMERCIEMENTS

A mes oncles, et toutes mes Tantes

Vous n'avez ménagé aucun effort pour voir l'aboutissement du travail de votre neveu, vous avez toujours été à mes côtés. Que Dieu vous récompense pour tout ce que vous avez fait pour moi et renforce nos liens familiaux.

A tous mes cousins, cousines, et neveux

Vous m'avez accompagné tout au long de ce travail. Ces mots sont insuffisants pour vous remercier, vos encouragements, vos conseils n'ont jamais manqué.

A mes amis(e) : Amadou Beydi, Karim, Abdoulaye, Seydou, Adama, Diarradjan, Kouméli, Demba, Amadi, Moussa, Seydou SANOGO et à tout le groupe Wague, etc.…….

Je n'oublierai jamais les moments de souffrances et de joies que nous avons passés ensemble. Je vous remercie pour la collaboration franche. Que notre amitié soit sincère avec un avenir meilleur.

Au personnel du service bactériologie-virologie de l'INRSP

Votre courage, votre dévouement et vos conseils m'ont permis de mener à bien ce travail.

Soyez en remercier.

Au docteur Bassira Diarra

Merci pour vos soutiens et vos considérations

Au docteur Mikaila KABORE

Vous n'avez ménagé aucun effort dans l'élaboration de ce document soyez en remercié

A mes camarades thésards à l'INRSP

Je garderai des bons souvenirs que nous avons eu à partager ensemble.

Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

A tous mes camarades de promotion

Je garderai des bons souvenirs que nous avons eu à partager ensemble.

Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude

Au corps professoral de la FAPH

Pour la qualité de l'enseignement que vous m'avez offert.

A tout le personnel du CESAC

A tout le personnel du Service des Maladies Infectieuses du Point G

A tous ceux qui m'ont souris, encouragé, partagé mes peines… ou qui ont de près ou de loin contribué à la réalisation de ce travail…

HOMMAGE AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY : Pr Sounkalo DAO

- **Professeur titulaire de Maladies Infectieuses et tropicales ;**
- **Ancien Chef de DER en médecine à la FMOS ;**
- **Responsable de l'enseignement des Maladies Infectieuses à la FMOS ;**
- **Investigateur clinique au Centre Universitaire de Recherche clinique UCRC/SEREFO**
- **Président de la Société Malienne des Pathologies Infectieuses et Tropicales (SOMAPIT).**
- **Membre du collège Ouest Africain des Médecins**
- **Membre de la SAPI (société Africaine de pathologies infectieuses)**

Cher maitre

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Vos qualités humaines, vos connaissances scientifiques, intellectuelles font de vous un formateur apprécié de tous. Veuillez accepter cher maître, nos remerciements et trouver ici de toute notre reconnaissance.

A NOTRE MAITRE ET JUGE : Dr Jean Paul DEMBELE

- **Médecin infectiologue**
- **Praticien hospitalier au Centre Hospitalier Universitaire (CHU)**
- **Secrétaire aux relations extérieurs et aux affaires sociales de la Société Malienne de Pathologie Infectieuse et Tropicale (SOMAPIT)**
- **Membre de la société Africaine de Pathologies Infectieuses**

Cher Maître C'est un grand honneur et un réel plaisir de vous avoir parmi nos membres du jury. Votre bonne collaboration avec les étudiants, votre humilité, votre attention ne nous ont pas laissés indifférents et font de vous une référence scientifique. Veuillez agréez cher maitre, l'expression de notre profonde gratitude et soyez assuré de nos sentiments de sincères remerciements.

A NOTRE MAITRE ET JUGE : Dr Mahamadou SAVADOGO

- **Médecin au CESAC**
- **Coordinateur de l'USAC de Koulikoro 2012-2017**

Cher Maître c'est un grand honneur pour nous de vous avoir dans notre jury. Nous avons beaucoup apprécié la simplicité et la sympathie avec lesquelles vous avez accepté de jugé ce travail. Vous nous témoignez ainsi cher maître de votre disponibilité pour la formation de futures générations. Votre rigueur scientifique, votre loyauté, votre attachement au travail bien accomplit, votre humanisme fait de vous un être admiré. Malgré vos occupations vous avez accepté de siéger dans ce jury. Veuillez accepter cher maître l'expression de nos sincères remerciements et notre profonde gratitude.

A NOTRE MAITRE ET CO-DIRECTEUR DE THESE : Dr Ibréhima GUINDO

- **Pharmacien biologiste,**

- **Chef de service du laboratoire de Bactériologie-Virologie à l'INRSP**
- **Maitre-assistant de Bactériologie Virologie à la Faculté de Pharmacie**
- **Point focal de la RAM**

Cher maître, nous vous remercions de la confiance que vous nous avez accordée en nous proposant ce travail. Votre assiduité, votre rigueur, vos qualités humaines irréprochables font de vous un encadreur admiré des étudiants et très sollicité. Recevez par ce travail l'expression de mon admiration et de ma profonde gratitude.

À NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE : Pr Flabou BOUGOUDOGO

- **Pharmacien microbiologiste**
- **Maître de Conférences Agrégé en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Pharmacie**
- **Directeur de l'Institut National de Recherche en Santé publique (2005-2012)**
- **Officier de l'Ordre du Mérite de la Santé**

Cher maitre, Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de diriger ce travail malgré vos multiples occupations. Soyez en remercié .Votre simplicité, votre générosité, votre culture scientifique et votre ouverture envers les étudiants, font de vous un homme remarquable et un professeur exemplaire. Vos sages conseils nous ont été bénéfiques dans l'élaboration de ce travail. Veuillez agréer honorable maitre, l'assurance de notre profonde reconnaissance.

-

Table des matières

I. GENERALITES.....20
I.1 Classification.....20
I.2 Structure des HSV.....21
I.3 Cycle de réplication virale.....23
I.4 R**éservoir et mode de transmission**.....28
I.5 Facteurs de risque (48, 49).....30
I.6 Epidémiologie.....30
I.7 Physiopathologie.....31
I.8 Cycle évolutif de l'infection herpétique.....32
I.8.1 Herpès labial.....32
I.8.2 Herpès génital.....33
I.8.3 Herpes néonatal.....35
I.8.4 Herpes et VIH.....36
I.9 Diagnostic biologiques :.....41
I.9.1 Prélèvement :.....41
I.9.2 Technique de Diagnostics direct :.....43
I.9.3 Technique de diagnostic indirect :.....46
I.10 TRAITEMENT.....48
I.10.1 Les antiviraux.....48
I.10.1.1 Acyclovir.....48
I.10.1.2 Famciclovir et Valaciclovir.....50
I.10.1.3 Penciclovir.....50
I.10.1.4 Cidofovir.....51
I.10.1.5 Vidarabine (adénine-arabinoside).....51
I.10.1.6 Foscarnet.....52
I.10.2 TRAITEMENT DES DIFFERENTES MANIFESTATIONS DE L'HERPES :.....53
I.10.2 Résistance.....59
I.10.3 Prévention.....60
II. METHODOLOGIE.....62
II.1 Méthode.....62
II.1.1 Lieu d'étude.....62
II.1.2 Type et durée de l'étude.....64
II.1.3 Population d'étude :.....64
II.1.4 Taille de l'échantillon.....65

II.1.5 Méthode de prélèvement……65
II.1.6 Transport et conservation des échantillons……65
II.2 MATERIEL……66
II.2.1 Méthode d'enrôlement……66
II.2.4 Analyse et saisie des données……66
II.3 Considérations éthiques……66
III. RESULTATS……66
III.1 Caractéristiques de la population……68
III.3 Caractéristiques biologiques……73
III.4 Facteurs associés aux résultats PCR……74
IV. DISCUSSION……77
IV.1 Difficultés rencontrées……77
IV.2 Caractéristiques de la population……77
IV.3 Caractéristiques biologiques……77
IV.4 facteurs associés au résultat PCR……78
V. CONCLUSION……81
VI. RECOMMANDATIONS……82
VII. REFERENCES……83
VIII. ANNEXE……89

LISTES DE TABLEAUX

Tableau I: Tests de diagnostic direct de l'infection herpétique **(94)**.....46
Tableau II : Traitement des différentes manifestations de l'herpès.....53
Tableau III **:** Traitement de l'herpès génital selon recommandations des CDC 2002.....56
Tableau IV **:** Les situations de la femme enceinte en rapport avec l'infection herpétique (90).....57
Tableau V **:** Répartition selon la profession.....69
Tableau VI : Répartition selon le niveau d'instruction.....69
Tableau VII**:** Répartition selon le motif de consultation.....71
Tableau VIII **:** Répartition selon les résultats de la PCR.....73
Tableau IX **:** Relation entre la localisation d'ulcérations et le type de virus détecté.....74
Tableau X : Relation entre le statut matrimonial et le résultat PCR.....74
Tableau XI**:** Relation entre la tranche d'âge et le résultat de ka PCR.....74
Tableau XII **:** Relation entre la tranche d'âge et les virus détectés.....75
Tableau XIII **:** Relation entre le nombre de partenaire et le résultat PCR.....75
Tableau XIV **:** Relation entre le sexe et le type de virus détecté.....75
Tableau XV : Relation selon le nombre de partenaire et le type de virus détecté 76

LISTES DES FIGURES

Figure 1 : Arbre phylogénétique des Herpesviridae.....21
Figure 2 : Structure du HSV.....23
Figure 3 : cycle de réplication d'un HSV : attachement et décapsidation du virus 25
Figure 4: Schéma du cycle de réplication du VHS dans une cellule hôte**.**.....28
Figure 5: PATHOGENIE DE L'INFECTION à HSV 31
Figure 6 : Lésions herpétiques.....34
Figure 7 : Vulvite caractérisant la primo-infection herpétique.....35
Figure 8: Passage du VIH par la brèche muqueuse.....40
Figure 9 : Interaction des glycoprotéines de la membrane du HSV.....40
Figure 10 : Amplification des lésions herpétiques et des interactions entre le HSV2 et le VIH 41
Figure 11: le milieu sigma-virocult.....43
Figure 12: Détection d'antigènes par méthode ELISA.....44
Figure 13 : Mécanisme d'action de l'acyclovir**.**.....49
Figure 14**:** structures des antiviraux.....53
Figure 15 : Lyght Cycler 480 II.....66
Figure 16 : Diagramme de Flux.....67
Figure 17 **:** Répartition selon la tranche d'âge.....68
Figure 18 **:** Répartition selon le sexe.....68
Figure 19 **:** Répartition selon le statut matrimonial.....69
Figure 20 : Répartition selon le nombre de partenaires dans la vie sexuelle.....69
Figure 21 **:** Répartition selon les patients Sous traitement ARV.....70
Figure 22 **:** Répartition selon les caractéristiques des lésions.....71
Figure 23 **:** Répartition selon la localisation de l'ulcération.....72
Figure 24 **:** Répartition selon le type de virus isolé.....73

LISTE DES ABREVIATIONS

ACV : Acyclovir

ADN: Acide désoxyribonucléique

ADN pol : ADN polymérase

ADV : Adéfovir

ANP : Analogue des nucléosides phosphonates

ARN: Acide ribonucléique

ARNm: ARN messager

ATP: Adénosine 5'-triphosphate

CD4: Cluster of differenciation number 4

CDV : Cidofovir

CMV : Cytomégalovirus

EBV : Virus Epstein-Barr

FCV : Famciclovir

FOS : Foscarnet

gB-gM : Glycoprotéine de l'enveloppe virale B à M

GAU : Glycosylase ADN-Uracil

GCV : Ganciclovir

GNF : Facteur de croissance neuronal (Growth neuronal factor, en anglais)

Hve : Protéine herpétique de l'entrée virale

ICP : Protéine infectieuse cellulaire

Ig : Immunoglobuline

IL : Interleukine

INF : Interféron

LCR : liquide céphalorachidien

MTS : Maladie transmise sexuellement

NHANES : (National health and nutrition examination survey, en anglais)

NK : Cellules tueuses (Natural killer cells, en anglais)

PCV : Penciclovir

PCR : Réaction de polymérisation en chaîne (Polymerase chain reaction, en anglais)

SIDA : Syndrome de l'immunodéficience humaine acquise

TK : Thymidine kinase

TNF : Facteur tumoral nécrosant (Tumoral necrosant factor, en anglais)

U : Séquence unique

UFP : Unités formatrices de plaques

HSV : Virus de l'herpès simplex

VHH : Virus herpétique humain

VHH-6 : Virus herpétique humain type 6

VHH-7 : Virus herpétique humain type 7

VHH-8 : Virus herpétique humain type 8

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VP : Protéine du virion

VVZ : Virus Varicella-Zoster

INTRODUCTION

HSV est un virus à ADN dont on connait deux types, HSV1 et HSV2 (1) .

L'herpès génital est dû aux herpès virus simplex virus de type 2 (HSV2) qui concerne le plus souvent la région génitale mais aussi l'herpès simplex virus de type 1 (HSV1) qui est plus impliqué dans les herpès labiaux mais depuis quelque année on le retrouve dans les ulcérations génitales (**2)**.

Son importance apparaît variable selon les zones géographiques. Dans les pays où la syphilis et le chancre mou sont endémiques, la responsabilité de l'infection à HSV-2 dans les ulcérations génitales a longtemps été considérée comme peu importante, alors que les moyens de diagnostic manquaient **(2)**.

Selon l'OMS les infections herpétiques sont les plus contagieuses lorsqu'il y a des symptômes, mais elles peuvent aussi se transmettre en l'absence de symptômes.

En 2012 on estimait à 417 millions le nombre de personnes vivant avec cette infection dans le monde. Sa prévalence est plus élevée en Afrique (31,5%), puis dans les Amériques (14,4%) et augmentait avec l'âge. Le plus grand nombre de nouvelles infections sont observées chez les adolescents. Le principal risque de l'infection à HSV pendant la grossesse est la transmission mère-enfant redoutable en raison de sa mortalité élevée et des séquelles neuropsychiques graves chez 50% des survivants **(3).**

En effet, elle augmente la morbidité néonatale par majoration du risque de prématurité : 26% au lieu de 7.2 % et d'hypotrophie : 26% au lieu de 10% (**4).**

Au Mali le diagnostic est essentiellement clinique, il n'y a pas assez de données sur l'implication des HSV dans les ulcérations buccales ou génitales. De ce faite les traitements, généralement à base d'acyclovir, sont administrés en références aux seuls signes cliniques alors similaires à d'autres pathologies ulcératives. Peu d'étude ont été réalisées car le diagnostic biologique n'est pas accessible. La sérologie a peu d'intérêt diagnostic car ne pouvant pas mettre en évidence la présence du virus.

Notre étude utilisera la PCR en temps réel pour l'identification. La PCR en plus d'être spécifique et sensible permet aussi de réaliser des études plus fines d'expression génétiques. De plus en plus il y'a des tests destinés pour la détection et la quantification rapide d'agents pathogènes comme les virus dans le cas de notre étude. Ces analyses proposent un système multiplexe qui permet la détection et la quantification simultanées des virus comme HSV1 et HSV-2.

OBJECTIFS

OBJECTIF GENERAL

Déterminer la prévalence de l'herpès simplex virus dans les ulcérations buccales ou génitales chez les pvVIH dans le service des maladies infectieuses et tropicales du Point G et au CESAC de Bamako.

OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Décrire les profils sociodémographiques et épidémiologiques des patients inclus
- Réaliser une identification moléculaire des HSV dans les ulcérations buccales ou génitales

QUESTION DE RECHERCHE

Quelle est la fréquence des ulcérations buccales ou génitales dues au HSV chez les pvVIH ?

HYPOTHESE DE RECHERCHE

La fréquence des ulcérations buccales ou génitales dues au HSV est élevée chez les pvVIH.

I. GENERALITES

I.1 Classification

Les Herpesviridae humains sont regroupés en trois sous-familles et six genres : les Alpha-herpesvirinae (dont l'*Herpès simplex virus* (HSV) de type 1 et 2 ; Varicellovirus (VaricellaZoster, VHZ), les Béta-herpesvirinae et les Gamma-herpesvirinae (**5).**

Leur pouvoir pathogènes est très variable et va de l'infection asymptomatique (HSV-1 chez 80 à 90% des sujets) à des éruptions généralisées (varicelle). Chez les patients immunocompétents, les récurrences, qui surviennent régulièrement, sont le plus souvent asymptomatiques, mais peuvent aussi entrainer des atteintes sérieuses (herpès génital, zona). Un individu peut héberger en moyenne quatre à six Herpesvirus latents. En cas d'immunodépression, qu'elle qu'en soit la cause (congénitale, acquise ou iatrogène), les manifestations cliniques de ce virus peuvent mettre en danger la vie du patient (**5)**.

Les virus herpétiques ont certaines caractéristiques communes tel que : structure, génome, cycle de réplication, mais certaines particularités permettent aussi de les différencier d'où leur classification en 3 sous-familles.

- Alpha-herpesvirinae :

Ils sont caractérisés par la variabilité des cellules qu'ils infectent, un cycle de réplication court, leur rapidité de multiplication en culture cellulaire et leur latence dans les ganglions sensitifs.

Ils comprennent deux genres :

Simplex virus : HSV-1 et HSV-2 responsables de l'herpès cutanéomuqueux Varicellovirus : HHV-3 ou virus varicelle Zona qui induisent la varicelle et ses réactivations

- Béta-herpesvirinae :

Ils sont caractérisés par un nombre restreint des cellules qu'ils infectent, un cycle de réplication plus long et une propagation en culture plus lente. Ils établissent leur latence entre autres dans les glandes sécrétoires, les cellules lymphoréticulaires, rénales et autres tissus.

Ils comprennent les genres : Cytomégalovirus : CMV ou HHV-5 et Roseolovirus : HHV 6-, HHV -6B, HHV-7 responsables de la roséole et de l'exanthème subit chez l'enfant.

- Gamma-herpesvirinae :

Ils infectent surtout les lymphocytes et restent latents dans les tissus

Lymphoïdes.

- Ils comprennent les genres : Lymphocriptovirus : EBV ou HHV-4 responsable de la mononucléose infectieuse et Rhadinovirus : HHV-8 impliqué dans le sarcome de Kaposi observé chez les personnes infectées de VIH **(2, 6, 7).**

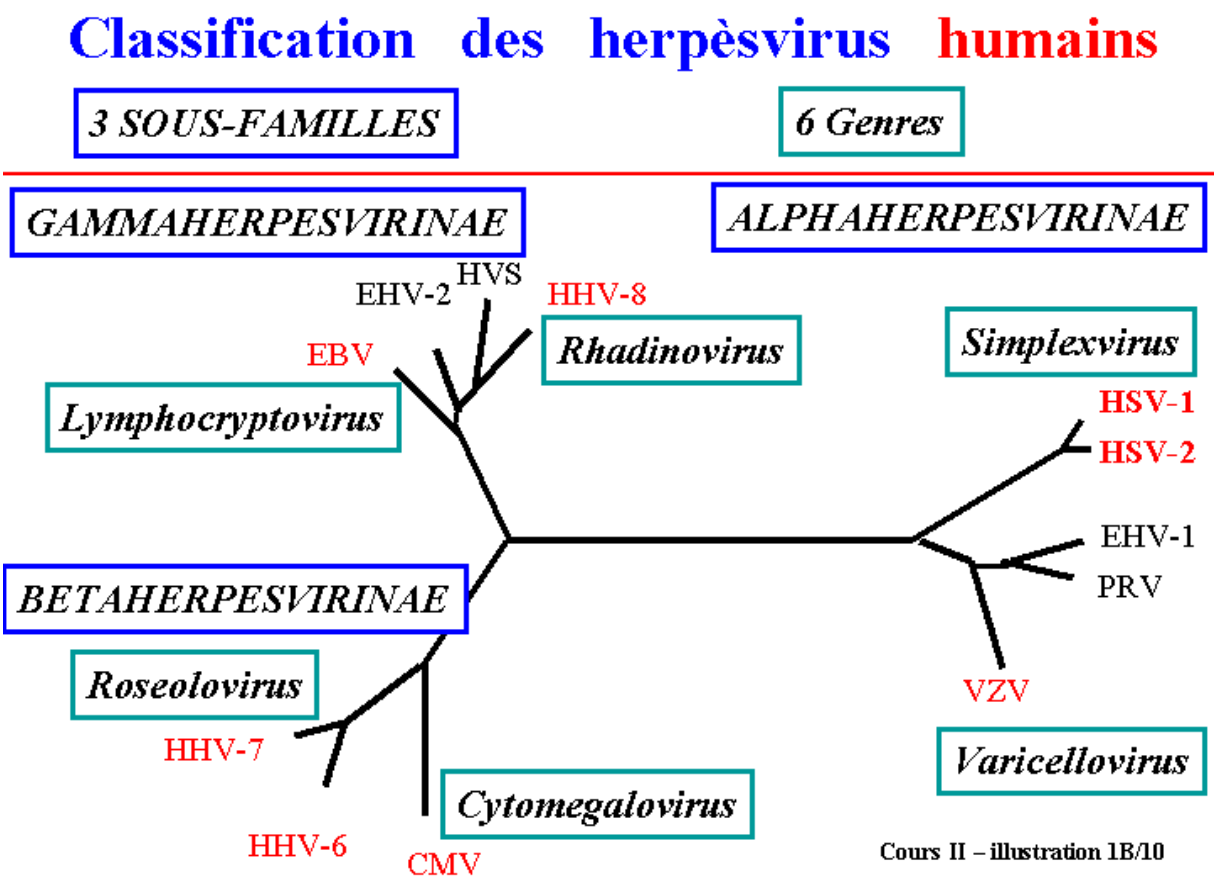

Figure 1 : Arbre phylogénétique des Herpesviridae (8).

I.2 Structure des HSV

Le génome du HSV est constitué de deux segments désignés L (long) et S (*short* : court), liés de façon covalente (Figure 2). Chacun de ces segments est composé d'une séquence unique (U_L ou U_S) flanquée par de larges séquences répétées inversées (SRI). Les SRI situées aux extrémités du segment U_L sont désignés ab et b'a', alors que celles du segment U_S sont nommées a'c' et ca. Les deux segments du génome peuvent donc être inversés et combinés de diverses façons de manière à former jusqu'à quatre isomères qui diffèrent uniquement par l'orientation relative de leurs séquences (**9**) .

Les gènes viraux sont généralement nommés selon leur localisation dans chacun des segments U_L et U_S, suivi d'un numéro correspondant à leur position relative de gauche à droite. La nomination des protéines virales est basée sur leur propriété générale ; selon qu'il soit une

protéine infectieuse cellulaire (ICP) ou protéine du virion (VP), ou selon leur fonction respective (ex : gène UL23=Thymidine kinase). Dans certains cas, elles peuvent être identifiées par le gène auxquelles elles sont transcrites. Les gènes compris dans les séquences uniques sont présents en une seule copie, alors que ceux encodés dans les séquences répétées sont présents en deux copies dans le génome. Les séquences répétées "a" sont importantes pour l'enroulement de l'ADN suite à l'infection, et dans l'emballage de l'ADN viral dans les capsides préformées. Les séquences *pac*1 et *pac*2 situées dans ces régions, assurent en partie cette fonction en clivant l'ADN concatémère nouvellement formé et en l'emballant dans les virions **(10)** . Les séquences "b" codent entre autre pour une protéine (ICP0) impliquée dans la régulation des gènes très précoces. Le segment U_L code pour plus de 60 protéines distinctes qui sont entre autre impliquées dans la réplication de l'ADN viral et dans la formation de la capside. Les séquences "c" codent pour un activateur (ICP4) essentiel à la transcription des gènes très précoces. Finalement, le segment U_S code pour quatorze protéines dont les glycoprotéines de l'enveloppe virale (**9)** .

Le génome du HSV comprend trois origines de réplication nommées selon leur localisation (oriL ou oriS). OriL est retrouvée en une seule copie dans le segment U_L, alors qu'oriS, située dans une séquence répétée du segment U_S, est présente en deux copies. Les oriL et oriS sont des séquences palindromiques constituées d'un centre riche en nucléotides A et T, flanquées par des séquences inversées répétées comprenant plusieurs sites de liaisons pour la protéine d'origine UL9. Seulement une de ces oriS est nécessaire à l'initiation de la réplication de l'ADN viral **(10)**.

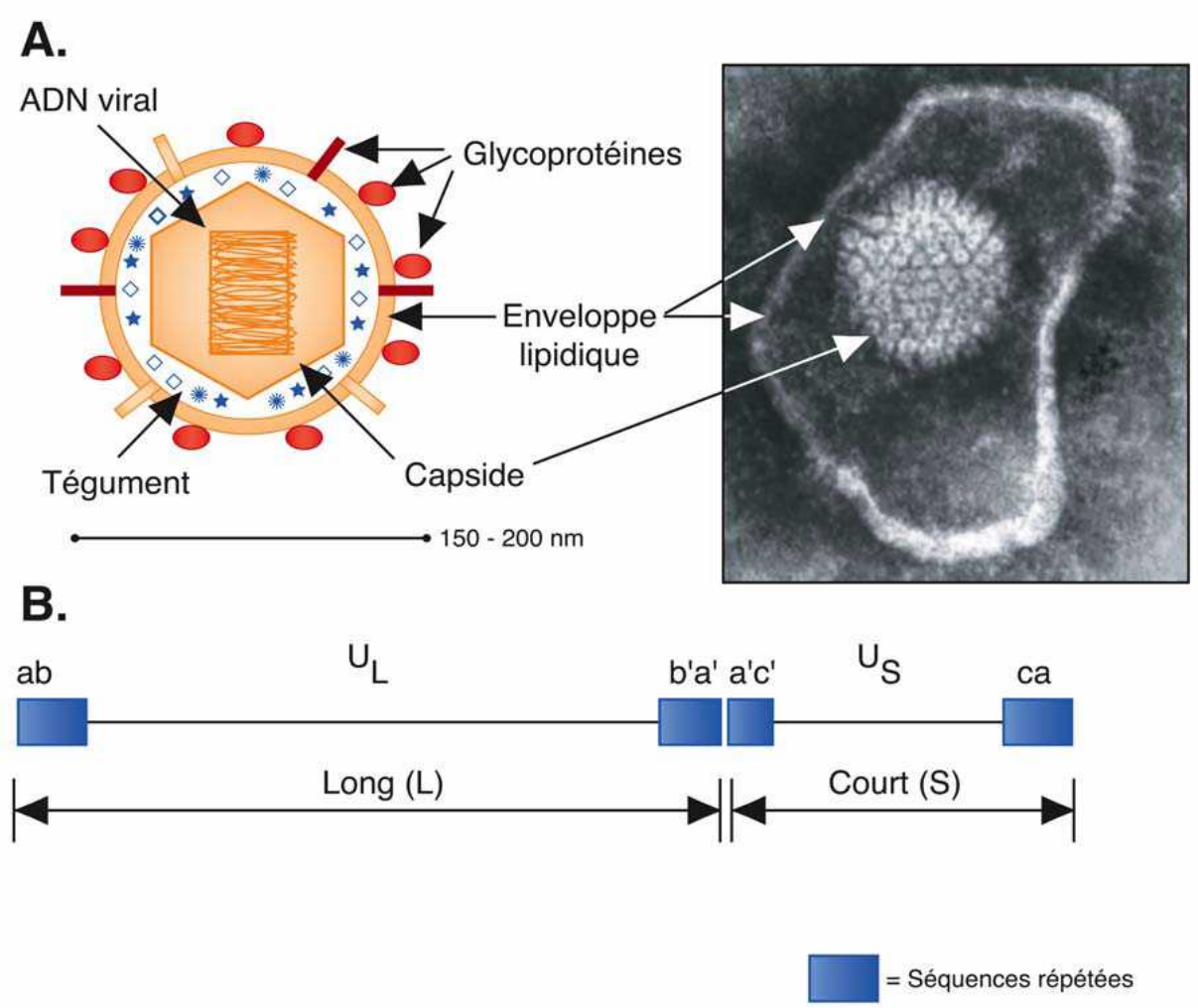

Figure 2 : Structure du HSV (10)

Le virion du HSV (A) est composé de quatre principaux éléments : I) un corps dense aux électrons comprenant; II) un ADN double brin; III) une capside icosapentahedrale et ; IV) une enveloppe. Ces composantes structurales peuvent également être visualisées en microscopie électronique (à droite). Le génome du HSV (B) est constitué de deux segments désignés L (long) et S (*short* : court), liés de façon covalente et flanqués par de larges séquences répétées (**10**).

I.3 Cycle de réplication virale

L'HSV utilise la cellule hôte afin d'exprimer les protéines nécessaire à sa réplication et à sa propagation.

Le cycle de réplication des virus herpès simplex est un cycle de réplication classique des virus à ADN qui se constitue de plusieurs étapes **(5).**

- **Attachement et décapsidation du virus dans la cellule hôte**

Pour initier l'infection, le HSV doit s'attacher à des récepteurs présents à la surface des cellules et fusionner son enveloppe avec la membrane cellulaire. Les glycoprotéines de l'enveloppe du HSV assurent l'attachement et la pénétration du virus dans les cellules. Il est à noter qu'elles induisent également une réponse immunitaire de l'hôte contre le virus. Des douze glycoprotéines de l'enveloppe du HSV, les gB, gC, gD, gH et gL semblent spécifiquement impliquées dans ce processus. Les gE et gI forment une partie du récepteur Fc, alors que la fonction des autres glycoprotéines n'est pas encore tout à fait connue (**11**). L'attachement du virus est initié par l'interaction de la gC et de la gB avec les glycosaminoglycanes du sulfate d'héparane de la surface cellulaire. Malgré le fait que ces interactions intensifient l'efficacité de l'infection, la gC ne semble pas absolument indispensable à cette étape (1**2**) puisque des cellules n'exprimant pas le sulfate d'héparane demeurent permissives à l'infection par le HSV **(13, 14)**. L'attachement viral est stabilisé par l'interaction de la gD et l'un des nombreux co-récepteurs cellulaires nouvellement identifiés (**15)**. Ces récepteurs appartiennent à trois grandes familles et ceux-ci sont maintenant nommés protéines herpétiques de l'entrée virale (Hve). HveA fait partie de la famille des récepteurs du facteur tumoral nécrosant alpha (TNF-α). HveB, HveC (également connu sous le nom de nectin-1α) et HIgR (nectin-2α) sont inclus dans la superfamille des immunoglobulines. Finalement, une troisième famille de récepteur comptant un seul membre a été identifiée et consiste en un protéoglycane de sulfate d'héparane modifié (3-O-heparane sulfate sulfaté) (**16**). HveC demeure le principal co-récepteur cellulaire nécessaire à l'infection des cellules humaines par le HSV. La fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire s'effectue par un mécanisme encore inconnu, mais qui semble nécessiter la gB (**17, 18)** et l'hétérodimère gH-gL **(19)**. La nucléocapside et les protéines du tégument sont alors libérées dans le cytoplasme de la cellule hôte. La nucléocapside et certaines protéines du tégument (VP16, VP1-2) sont transportées dans le noyau via les microtubules, alors que les autres protéines du tégument (vhs, US11) demeurent dans le cytoplasme de la cellule (**9)**.

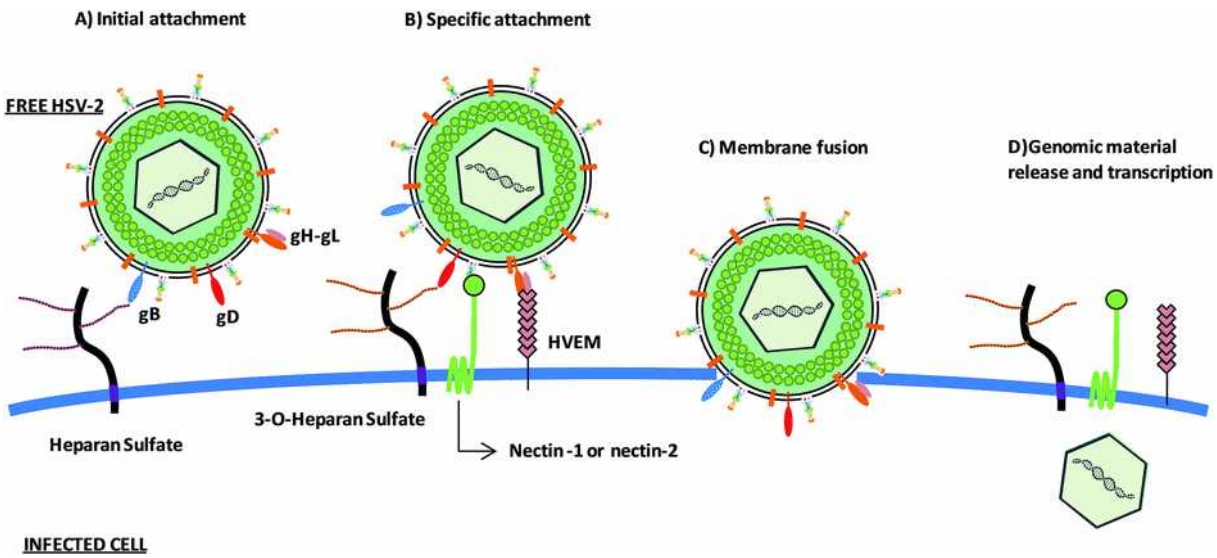

Figure 3 : cycle de réplication d'un HSV : attachement et décapsidation du virus **(20)**

➢ Expression des gènes

Les virus à ADN se servent de la cellule hôte de manière à exprimer leurs propres protéines nécessaires à leur réplication et à leur prolifération. De façon générale, les virus expriment deux types de protéines; les protéines non-structurales impliquées dans la réplication de l'ADN viral et les protéines de structure qui forment le virion et une partie de l'enveloppe virale (**10)**. Tous les virus herpétiques partagent la caractéristique d'une expression séquentielle hautement régulée de leurs gènes (21). Les gènes du HSV peuvent donc être classés en trois groupes selon leur apparition dans le temps: les gènes très précoces (α); les gènes précoces (β) et les gènes tardifs (γ). Les gènes α sont transcrits immédiatement suite à l'infection et assurent la transcription des gènes β qui codent pour des protéines impliquées dans la réplication de l'ADN viral. Certaines protéines virales α et β entraînent également l'expression des gènes γ, qui codent majoritairement pour des protéines structurales (**9).** Les événements clés de la réplication du HSV sont la transcription de l'ADN, la synthèse, l'assemblage de la capside, l'emballage de l'ADN et l'acquisition de l'enveloppe qui prennent place dans le noyau de la cellule infectée **(9).**

Très tôt suite à l'infection (2 à 4 h), les gènes α sont exprimés. L'ARN polymérase II cellulaire est responsable de la synthèse de tous les ARNm viraux **(22, 23)**. L'expression des gènes α est indépendante des enzymes virales, étant stimulée par un facteur régulateur de la transcription appelé αTIF ou VP16 (24). Ce facteur est encodé par le gène viral UL48 et fait partie des protéines composant le tégument du virus. αTIF se combine à d'autres facteurs régulateurs cellulaires tels que Oct-1 et HCF **(25)** et active la transcription des gènes α en se liant à une séquence TAATGARAT située en amont de ces gènes. Une autre protéine du

tégument, le produit du gène UL41 (vhs), interagit avec une protéine cellulaire et dégrade rapidement l'ARNm suite à l'infection, bloquant ainsi l'induction des gènes cellulaires. Des six protéines α synthétisées, cinq sont impliquées dans le cycle réplicatif du virus (ICP0, ICP4, ICP27, ICP22, US1.5), modifiant plusieurs fonctions clés de la cellule hôte. Une autre protéine (ICP47) bloque la présentation des antigènes à la surface des cellules infectées. Ces protéines sont dites multifonctionnelles et stimulent l'expression subséquente des gènes β et γ. Par exemple, en plus d'être un activateur indispensable à la transcription de tous les gènes précoces et tardifs **(26, 27)** ICP4 possède une fonction d'autorégulation en se liant avec des éléments répresseurs sur son propre promoteur **(28, 29)**. La diminution des niveaux d'ICP4 mène alors à la réduction de l'expression des gènes précoces et tardifs. La protéine ICP0 n'est pas absolument essentielle à la réplication virale *in vitro*, mais augmente significativement l'activité transcriptionelle de la protéine ICP4. ICP27, pour sa part, est essentielle à la transcription des gènes tardifs (30). De plus, elle inhibe la maturation des ARN en empêchant leur épissage **(31)**. Contrairement aux gènes cellulaires, la plupart des transcrits viraux ne nécessitent pas d'épissage, et l'effet net d'une telle inhibition résulte en une diminution de la synthèse des protéines cellulaires. Les fonctions d'ICP22 ne sont pas encore très bien comprises, mais elles semblent modifier l'ARN polymérase II cellulaire et optimiser l'expression d'ICP0 **(32, 33)**.

La deuxième classe de gènes exprimés sont les gènes β ou précoces. L'expression de ces gènes nécessite absolument la fonction des protéines ICP4 et ICP27, et la synthèse des protéines β atteint un niveau maximum de 5 à 7 h suivant le début de l'infection. Ces dernières sont majoritairement impliquées dans la réplication de l'ADN viral. Sept protéines virales issues de ces gènes sont strictement essentielles à la réplication de l'ADN virale (UL9, UL29, UL5/UL52, UL8, UL30, et UL42). Les autres, notamment la thymidine kinase virale (UL43), la ribonucléotide réductase (UL39/UL40), la dUTPase (UL50), et l'uracyl ADN glucosylase (UL2), contrôlent le métabolisme des nucléotides. On verra que plusieurs protéines β sont la cible de la thérapie antivirale courante (ADN polymérase : UL30, et thymidine kinase: UL23) et en cours de développement. On peut également subdiviser les protéines β en deux groupes selon l'initiation de leur expression dans le temps. Les gènes β1 sont exprimés très précocement et de façon presque concomitante aux protéines α. Ce groupe de gènes est exemplifié par le gène UL29, codant pour la protéine de liaison à l'ADN simple brin (ICP8), et par le gène UL39, codant pour la grosse sous-unité de la ribonucléotide réductase (ICP6). Les gènes β_2 pour leur part, sont exprimés dans un laps de temps un peu

plus long suite à l'expression des protéines α. Le gène UL23 codant pour la thymidine kinase (TK) virale est représentatif de ce groupe de gènes **(9)**.

Finalement, les gènes exprimés plus tardivement, les gènes γ sont principalement impliqués dans la formation de la structure du virion. Les protéines synthétisées sont alors assemblées pour former la capside et le tégument du virion. Le niveau d'accumulation de ces protéines atteint son maximum suivant le début de la synthèse de l'ADN viral et l'expression de ces gènes est stimulé par la synthèse de l'ADN. Cependant, les gènes précoces/tardifs ou γ1 (par exemple : ceux codants pour ICP5, gG, gD, et ICP34.5) sont exprimés relativement tôt suite à l'infection et sont stimulés au départ par les gènes très précoces. Leur niveau se voit significativement augmenté par l'initiation de la réplication de l'ADN viral. D'un autre côté, les gènes γ2 typiques (UL44 : gC, UL41 :vhs, UL36 : ICP1-2, UL38 :ICP32/VP19C, et US11) sont exprimés plus tardivement dans l'infection et la synthèse de ces protéines est complètement freinée par des inhibiteurs de la réplication de l'ADN viral **(9)**.

- **Encapsidation, Attachement et libération des virions**

L'assemblage de la capside virale requiert la synthèse de plusieurs protéines virales tardives. Les quatre principales protéines de la capside (UL19 :VP5, UL38 :VP19c, UL18 :VP23 et UL35 :VP26), la protéine d'échafaudage codée par le gène UL26.5 et la protéase UL26 sont nécessaires à ce processus. D'autres protéines ont également été impliquées dans l'assemblage de la capside, mais ne sont pas indispensables, du moins dans des systèmes *in vitro* (**10)**. Les capsides vides sont alors chargées de l'ADN viral par un processus qui implique simultanément le clivage de l'ADN concatémère en de simples unités monomériques et l'empaquetage de l'ADN, pour ainsi former la nucléocapside **(34, 35)**. Ce mécanisme n'est pas encore très bien connu mais il a été observé que les coupures dans l'ADN s'effectuent à des sites spécifiquement déterminés par la distance entre les sites *pac* 1 et *pac* 2 **(36, 37)**. La protéine codée par le gène UL15 en association avec celle du gène UL26, semblent impliquées dans le clivage de l'ADN en cours de réplication. L'empaquetage de l'ADN viral dans les capsides matures requiert plusieurs protéines virales incluant le produit des gènes UL6, 15, 17, 25, 28, 32, et 33. Le complexe UL15-UL26, semble initier l'entrée de l'ADN viral dans la capside. L'exonucléase codée par le gène UL12 joue également un rôle dans l'empaquetage de l'ADN viral (**9)**.

Les nucléocapsides bourgeonnent ensuite de la membrane nucléaire interne, d'où ils acquièrent une enveloppe et certaines protéines du tégument. La route suivante empruntée par les virions est encore controversée. Une des hypothèses propose que les virus enveloppés fusionnent avec la membrane nucléaire externe, et que les nucléocapsides alors libérées dans

le cytoplasme de la cellule sont ré-enveloppées lors du bourgeonnement à partir des compartiments de l'appareil de Golgi (**9**). Ces virus ré-enveloppés sont alors déplacés à la surface de la cellule par un transport vésiculaire. L'autre mécanisme suggéré impose que les virions enveloppés soient transportés par mouvements vésiculaires de la membrane externe du noyau vers l'appareil de Golgi et sécrétés à l'extérieur de la cellule **(38)**. Certaines évidences récentes sont maintenant en faveur du premier modèle de ré-enveloppement **(39)**.Comme les glycoprotéines de l'enveloppe virale sont disséminées dans toutes les membranes de la cellule suite à leur synthèse, elles se retrouvent également à la surface de l'enveloppe virale. La réplication virale est approximativement achevée en l'espace de 18 h et ce processus entraîne des dommages cellulaires irréversibles **(9)**.

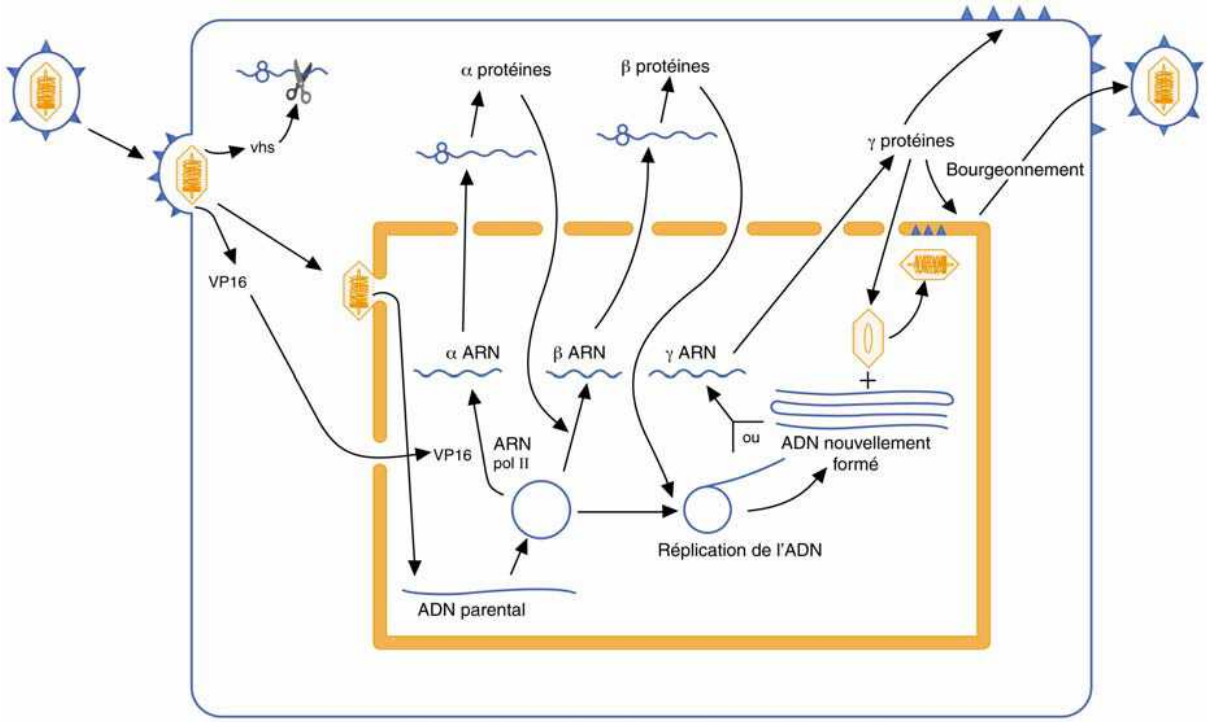

Figure 4: Schéma du cycle de réplication du VHS dans une cellule hôte (9).

I.4 R**éservoir et mode de transmission**

Chez l'humain, la transmission du HSV dépend de contacts intimes durant lesquels il y a échange de salive, de sperme, de liquide cervical ou de fluide vésiculaire provenant de lésions infectées, entre un individu qui excrète du HSV et une personne susceptible. Le virus doit entrer en contact avec une muqueuse ou de la peau abrasée pour qu'il y ait initiation de l'infection. Aucun vecteur animal n'a été décrit pour l'infection causée par les HSV humains et ces derniers demeurent donc le seul réservoir pour la transmission du virus. Il ne semble

pas non plus y avoir de variations saisonnières dans l'incidence de l'infection (**9**). Puisque l'infection au HSV est rarement fatale, et que le virus demeure à l'état de latence, une personne infectée demeurera une source d'infection constante tout au long de sa vie. Le HSV-1 est habituellement transmis par la salive ou par auto-inoculation (pouce, œil) et est acquis tôt dans l'enfance. Le HSV -2 pour sa part, est généralement transmis par des contacts sexuels et par auto-inoculation avec des lésions génitale ou anorectale. Le HSV -1 peut être transmis assez fréquemment par contact oro-génital tandis que la transmission du HSV-2 de la sphère génitale à la cavité orale est très rare **(40)**. De façon intéressante, cependant, les infections génitales causées par le HSV -1 sont habituellement à la fois moins sévères et moins susceptibles d'entraîner des récurrences **(41, 42)**. Il y a également de plus en plus d'évidences qui suggèrent que la présence d'anticorps contre le HSV-1 protège quelque peu contre l'infection au HSV-2 (43, 44), et presque totalement contre l'herpès génital causé par le HSV -1 (41). Les femmes susceptibles (séronégatives pour le HSV -2) ont un risque plus élevé de contracter une infection génitale (asymptomatique ou symptomatique) d'un partenaire infecté qu'un homme séronégatif par une partenaire infectée **(44, 45)**. En effet, les risques qu'une femme susceptible à l'infection contracte le HSV -2 d'un homme infecté est de 80% suivant un seul contact sexuel **(46)**, ce qui correspond à un risque qui est environ trois fois plus élevé que celui qu'encourt un homme séronégatif.

Dans le cas de l'herpès néonatal, l'infection du nouveau-né peut se faire par trois voies différentes : intra-utérine, intra-partum et post-natale. Les risques les plus élevés de la transmission du HSV de la mère au fœtus surviennent lors d'une infection primaire ou initiale de la femme enceinte (30 à 50%) (47). Par contre, les risques qu'un nouveau-né acquiert l'infection herpétique suite à une exposition virale durant une infection récurrente asymptomatique sont beaucoup moins grands (moins de 4%) (47). L'exposition du fœtus à des charges virales élevées augmenteraient donc les risques de transmission du HSV, alors que le transfert passif d'anticorps de la mère au fœtus diminuerait ces risques (47). En effet, le statut immunitaire de la mère avant l'accouchement influence à la fois la sévérité de l'infection et les possibilités de transmission du virus au fœtus. Une rupture prolongée des membranes (plus de 6 h) augmente les risques de l'infection du fœtus. De plus, l'utilisation de moniteurs intra-utérins peut également être un site d'inoculation virale **(46)**.

I.5 Facteurs de risque (48, 49)

Les facteurs de risque de l'herpès sont :

- Le sexe féminin,

- La précocité du 1er rapport sexuel,
- Le nombre de partenaires sexuels,
- Les antécédents d'IST,
- L'infection par VIH,
- Le niveau socio-économique faible,
- Les antécédents de lésions génitales,
- L'âge,
- La race noire

I.6 Epidémiologie

Le virus HSV-1 est très contagieux, courante et endémique dans le monde entier. La plupart de ses infections sont contractées pendant l'enfance et elles durent toute la vie. Dans l'immense majorité des cas, il s'agit d'herpès orofacial/labial (infections à l'intérieur ou autour de la bouche) d'infections génitales ou anales à HSV-1 **(5).**

Classiquement, HSV-1 infecte la partie supérieure du corps et HSV-2 atteint plutôt la région génitale mais cette distinction n'est pas absolue **:** les études virologiques estiment que 90% des herpès génitaux sont liés à HSV-2 contre 10% qui sont dus à HSV-1, la séroprévalence HSV-1, étant dans les deux sexes d'environ 65 p. 100 **(50, 51).**

La prévalence de l'infection HSV-1 est de 95% dans les pays en développement et de 60-70% au niveau des pays industrialisés avec l'âge d'acquisition généralement plus élevé.

La prévalence de l'infection à HSV-2 est élevée dans les pays en développement en particulier en Afrique subsaharienne où la prévalence dans la population générale adulte varie entre 30 et 80 % chez la femme et 10-50% chez l'homme **(52).** Au niveau des pays industrialisés, elle est de 5à 30% mais a augmenté de 30% dans ces 20 dernières années **(52).** Elle varie entre les pays développés où parmi les adultes en bonne santé, la séroprévalence à HSV-2 est aux Etats Unis plus importante qu'en Europe. En outre la séroprévalence de l'HSV-2 varie d'un pays européen à un autre ; par exemple En 1989 : elle a été en Suède de 33% contre 8.3% seulement en Allemagne **(53).**

En Afrique sub-saharienne, la séroprévalence pour le HSV-2 est élevée (40-70 %), surtout en Afrique de l'Est et en Afrique australe. Des taux de prévalence plus faibles ont été relevés dans une population rurale d'Afrique de l'Ouest en Gambie. Dans cette étude, les taux de prévalence retrouvés dans un échantillon représentatif de 1 700 jeunes gens, âgés de 15 à 34 ans, étaient de 4,7 % chez les hommes et de 27,2 % chez les femmes **(54)**.

Selon l'étude NHANES III réalisée aux États-Unis, la séroprévalence du HSV-2 chez les personnes de plus de 12 ans était de 21% en 1988-1994, soit une hausse de 30% par rapport aux années 1976-1980, alors que 16,4% des personnes de plus de 15 ans avaient une sérologie

positive pour le HSV-2 (Fleming 1997). Dans le cadre de la même étude, la prévalence du HS la séroprévalence HSV-1, étant dans les deux sexes d'environ 65 p. 100.

-1 est restée au même niveau, autour de 65% **(55).**

I.7 Physiopathologie

- Définitions

Primo-infection herpétique : premier contact infectant avec l'un des deux virus (HSV-1 ou HSV-2) au niveau muqueux ou cutané, elle peut être symptomatique ou asymptomatique

Infection initiale non primaire : premier contact infectant symptomatique ou asymptomatique avec le virus HSV-1 ou HSV-2, chez un sujet préalablement infecté par l'autre type viral ;

Récurrence: expression clinique d'une réactivation virale locale dans les ganglions sensitifs sacrés chez un patient préalablement infecté par le même type viral ;

Excrétion virale asymptomatique : détection d'HSV-1 ou HSV-2 en l'absence de signes fonctionnels ou de lésions visibles par le patient ou par le médecin

Réactivations: périodes de réplication virale, séparées par des périodes de latence, survenant soit sous la forme de récurrence clinique, soit sous la forme d'excrétion virale asymptomatique.

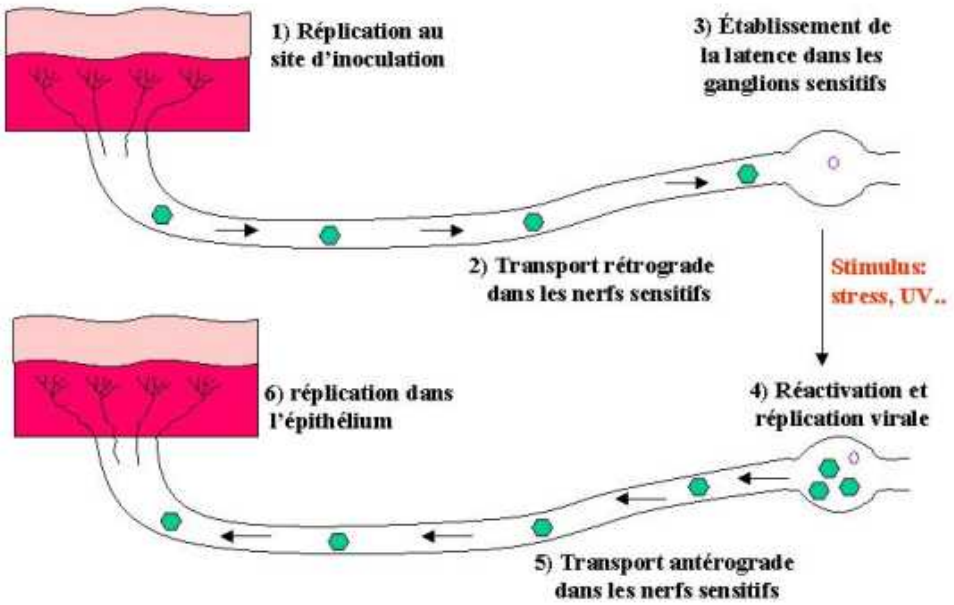

Figure 5: PATHOGENIE DE L'INFECTION à HSV **(56)**.

I.8 Cycle évolutif de l'infection herpétique

Les infections causées par les HSV-1 et HSV-2 sont plus souvent bénignes, voire totalement asymptomatiques. Les individus séropositifs pour le HSV-2 rapportant une histoire d'herpès

génital varient 10 à 25%, montrant une symptomatologie non reconnue ou une infection tout simplement asymptomatique chez la plupart **(45)**. Cependant, les individus présentant des récurrences fréquentes associées à des manifestations cliniques généralement l'herpès génital, ces infections ont un retentissement important sur leur qualité de vie. Dans certains cas, l'infection au HSV peut être associée à des atteintes sévères du SNC, de l'œil ou à des formes graves chez le nouveau-né. De plus, chez les patients immunodéprimés, l'infection à HSV est habituellement plus sérieuse et peut avoir des répercussions importantes sur la santé de ces patients.

I.8.1 Herpès labial

Les infections orofacial causées par le HSV-1 peuvent se manifester sous plusieurs aspects. L'infection primaire peut être totalement asymptomatique (deux fois plus fréquente) ou se présenter de différentes façon, allant de vésicules localisées à de la fièvre associée à des malaises généraux. La période d'incubation varie entre 2 à 12 jours avec une période moyenne de 4 jours. Le virus peut ensuite être excrété jusqu'à 23 jours dans la cavité orale (moyenne de 7 à 10 jours). Chez l'enfant, une infection primaire au HSV-1 symptomatique est habituellement caractérisée par une atteinte de la cavité buccale et des gencives (gingivostomatite) 10% des cas. Des lésions herpétiques sont rencontrées sur la muqueuse buccale, les gencives, le palais, la langue et le pharynx. Les patients se plaignent d'un mal de gorge, de malaises et peuvent même avoir de la difficulté à avaler et à manger due à la douleur associée aux lésions. Lors de l'infection primaire, les patients peuvent également présenter des adénopathies submandibulaires et cervicales **(11)**.

La réactivation du HSV-1 des ganglions trigéminés se manifeste habituellement par une infection mucocutanée au niveau des lèvres, plus communément appelée "feu sauvage". L'apparition du feu sauvage est habituellement précédée d'un prodrome associé à un picotement, de la chaleur et de la douleur qui est probablement dû à la réplication précoce du virus dans les terminaisons nerveuses de l'épiderme ou de la muqueuse **(57).** Le prodrome dure en moyenne 6 h et est suivi par la formation des vésicules **(58)**. Dans certains cas, la présence d'un prodrome permet l'initiation d'un traitement antiviral rapide qui peut résulter en la diminution de l'étendue et de la durée des lésions **(59, 60)**. Les vésicules sont typiquement rencontrées sur le vermillon de la lèvre et persistent en moyenne durant une période de 48 h. Ces vésicules sont habituellement localisées et sont en moyenne au nombre de trois à cinq. Ces lésions progressent en pustules ou en ulcères qui formeront des croûtes en l'espace de 72 à 96 h. La guérison de ces lésions est habituellement complétée en 8 et 10

jours. Les infections récurrentes symptomatiques semblent affecter 20 à 40% des adultes **(61, 62)** et la fréquence de celles-ci est très variable d'un individu à l'autre.

I.8.2 Herpès génital

L'infection génitale primaire est habituellement causée par le HSV-2 et est fréquemment asymptomatique. Par contre, lorsqu'elle se manifeste cliniquement, elle est reliée à des symptômes systémiques ainsi qu'à des lésions vésiculaires caractéristiques qui ont une durée moyenne de 21 jours et durant laquelle l'excrétion virale est prolongée. Les lésions herpétiques typiques se présentent sous la forme de macules et de papules, suivie par des vésicules, des pustules et des ulcères. Durant l'infection primaire, les patients, fiévreux peuvent présenter de la dysurie, des adénopathies inguinales et un malaise général. Les plaintes systémiques sont fréquentes pour les deux sexes (70%), mais l'infection primaire est habituellement plus sévère chez la femme que chez l'homme. L'infection primaire est fréquemment associée à des complications chez les femmes **(43, 63)** et celles-ci consistent en une méningite aseptique, des lésions extra génitales et à de la rétention urinaire (**11)**. L'infection primaire (en l'absence d'anticorps contre le HSV-1) est habituellement plus sévère et prolongée que l'infection initiale **(11, 64)**.

Chez la femme, les lésions associées à une infection primaire symptomatique sont localisées sur la vulve et sont habituellement bilatérales. Le col de l'utérus est toujours affecté. Les lésions sont généralement très douloureuses et peuvent également se présenter au niveau du périnée, des fesses et du vagin. Un prurit important et d'abondantes sécrétions muqueuses vaginales y sont associés. Un syndrome de rétention urinaire se manifeste chez 10 à 15% des patientes et 25% des femmes développeront une méningite aseptique. Chez les hommes, les lésions vésiculaires affectent surtout le gland du pénis et le corps de celui-ci. De façon similaire à la femme, des lésions au niveau des fesses, des cuisses et du périnée peuvent être présentes. Une infection primaire au HSV-2 dans la région périnéale et anale est également possible et est plus commune chez les homosexuels de sexe masculin. L'infection génitale non primaire, mais initiale (présence d'anticorps contre le HSV -1) est habituellement moins sévère pour les deux sexes et les symptômes tendent à se résorber plus rapidement (2 semaines) **(46, 65)**. Le nombre de lésions, la sévérité de la douleur et la possibilité de complication sont également significativement diminués. Le HSV-1 peut également être la cause d'une infection génitale primaire. Tout comme le HSV-2, il peut causer les mêmes symptômes lors de l'infection primaire et établir une latence dans les ganglions sacrés (66).

La présence d'anticorps contre le HSV -1 suite à une infection orolabial protège cependant considérablement contre l'infection génitale par ce même type(41). Par contre, le HSV-1 est associé à un taux nettement moindre de récurrences que le HSV-2 **(67)**.

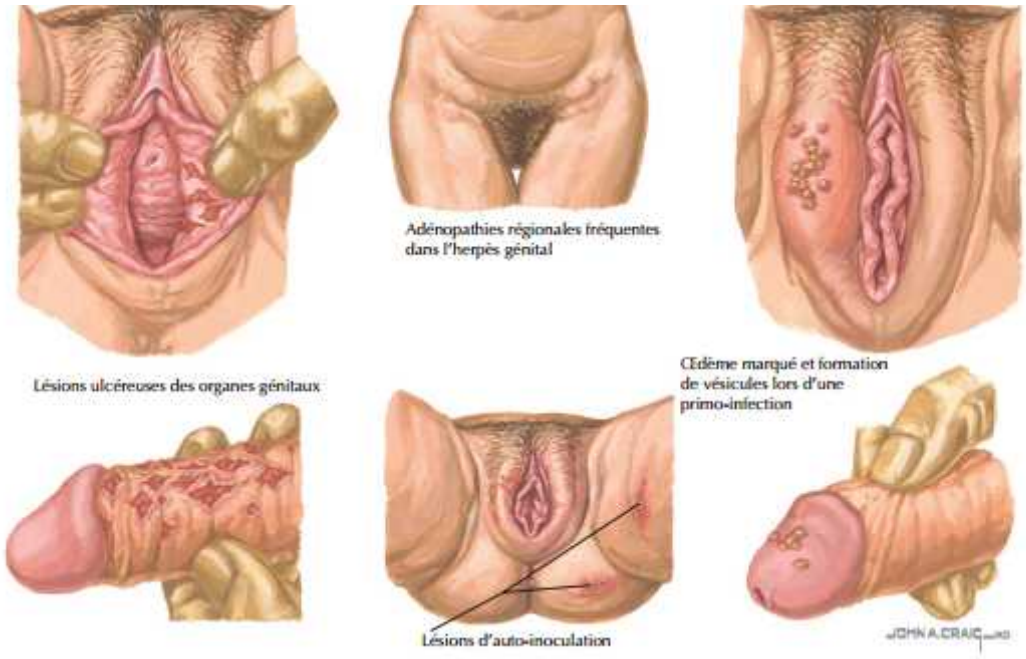

Figure 6 : Lésions herpétiques (56)

Figure 7 : Vulvite caractérisant la primo-infection herpétique (68).

I.8.3 Herpes néonatal

L'herpès néonatal est une manifestation très grave, souvent fatale. La transmission de l'infection in utéro est plutôt rare (5% des cas), tandis que l'infection intra-partum au cours du passage du fœtus dans les voies génitales de la mère infectée est la plus fréquente (75 à 78%). Le nouveau-né peut également être infecté par les proches et le personnel soignant présentant de l'herpès orolabial. L'herpès néonatal est habituellement dû au HSV -2 (60 à 70% des cas), mais une infection au HSV -1 peut entraîner des formes disséminées évolutives plus graves qu'avec le HSV -2 **(69)**. Les risques de transmission du HSV de la mère au fœtus peuvent dépendre de plusieurs facteurs.

Bien que la mortalité ait diminué depuis l'introduction des antiviraux, elle est de 15% si le SNC est atteint et de 57% si l'infection est disséminée **(70)**. L'infection congénitale (intra utérine) est caractérisée par une triade de lésions vésiculaires ou scarifiantes de la peau, d'une atteinte oculaire, et d'une microcéphalie ou anencéphalie. Dans le cas où l'infection herpétique est acquise en intra-partum ou post-partum, les manifestations cliniques peuvent se diviser en trois grandes catégories : Les infections localisées de la peau, des yeux, et de la cavité buccale; l'encéphalite herpétique avec ou sans atteinte cutanée et les formes disséminées impliquant plusieurs organes tels que le SNC, les poumons, le foie, les glandes surrénales, la peau, les yeux et/ou la bouche (71).

L'encéphalite herpétique atteint le tiers des enfants présentant une infection herpétique néonatale. Les enfants sont léthargiques, irrités, mal nourris et ont une température corporelle instable. Le virus peut être cultivé à partir du LCR dans environ 24 à 40% des cas et ce diagnostic devient très important puisque sans traitement antiviral, la mort s'en suit dans 50% des cas, et les survivants présenteront une atteinte neurologique très importante **(46)**. L'infection de la peau, des yeux et de la cavité buccale, quoique très morbide, n'entraîne habituellement pas la mort. Par contre, dans approximativement 30% des cas, l'enfant développera des évidences d'une atteinte neurologique **(46)**. De rares cas d'infection des mamelons par le HSV ont été rapportés chez la femme, et ont été reliés à la transmission du HSV de l'enfant à la mère durant l'allaitement **(72)**.

I.8.4 Herpes et VIH

L'infection au HSV fut l'une des premières infections opportunistes rapportée chez des homosexuels de sexe masculin atteints du SIDA **(73)**. Leur mode de transmission étroitement lié en est certainement en partie responsable. Il y a maintenant de plus en plus d'évidences épidémiologiques qui suggèrent que l'infection génitale au HSV -2 est un facteur de risque

dans l'acquisition du VIH et ce risque est évalué à deux fois plus élevé par rapport aux individus non infectés par le HSV -2 **(45)**.

Les différentes hypothèses d'interactions moléculaires et/ou cellulaires entre le HSV-2 et le VIH reposent sur le fait que ces interactions puissent effectivement se produire *in vivo*. Au niveau génital, les macrophages constituent une cible commune aux virus VIH1 et HSV-2. Le macrophage est considéré comme une des cellules productives majoritaires du VIH1 au sein du réservoir génital et une source majeure de la transmission sexuelle du VIH **(74)**. Il est l'un des éléments principaux et essentiels de la réponse non spécifique aussi bien au cours de la primo-infection que des récurrences herpétiques (75, 76), et il doit être infecté pour engendrer une réponse immune. Il constitue donc une cible commune au HSV et au VIH, et très probablement le centre des interactions entre le HSV-2 et le VIH1. Au niveau génital, la coïnfection des macrophages par ces deux virus est possible, dans trois situations : 1) chez un individu co-infecté présentant une réactivation herpétique, 2) chez un individu séropositif pour le VIH et exposé à un individu présentant une réactivation herpétique, 3) chez un individu présentant une réactivation herpétique exposé à un individu séropositif pour le VIH. Le phénomène de coïnfection paraît d'autant plus probable que des travaux ont rapporté des charges virales VIH élevées au sein des lésions herpétiques génitales d'individus co-infectés (77), et que la coïnfection dans les macrophages a déjà été observée *in vivo* avec le HSV1 [33]. Enfin, de nombreux travaux d'interactions moléculaires entre les virus HSV-1 et VIH1 dans des monocytes/macrophages laissent supposer qu'elles sont aussi possibles avec le HSV-2. Nous allons présenter les différentes données actuelles de ces interactions obtenues aussi bien *in vivo* et que *in vitro.*

- ✓ **Données in vivo**

• L'infection à HSV est un cofacteur majorant la susceptibilité d'un individu séronégatif pour le VIH mais exposé et l'infectiosité d'un individu infecté par le VIH.
D'une façon générale, la plausibilité biologique d'une relation causale entre une ulcération génitale et l'augmentation de la transmission du VIH est confortée d'une part par la présence d'une brèche muqueuse, véritable solution de continuité avec possibilité de passage direct du virus, chez le partenaire exposé, et d'autre part par l'augmentation du portage génital en VIH chez les individus séropositifs pour le VIH ayant une ulcération génitale. Chez les partenaires non infectés par le VIH, une ulcération génitale secondaire à une infection à HSV est capable d'accroître la sensibilité au VIH par rupture de l'intégrité de la barrière muqueuse, recrutement et activation des cellules-cibles pour le VIH. Chez les partenaires infectés par le VIH, une ulcération génitale pourrait augmenter l'infectiosité en VIH des sécrétions génitales. En effet,

de l'ADN pro-viral du VIH peut être détecté dans l'exsudat d'ulcérations génitales **(78, 79)**. L'ARN du VIH1 est presque systématiquement détecté par PCR dans les ulcérations génitales herpétiques chez des hommes séropositifs pour le VIH **(77)**. De plus, le traitement antiviral et la cicatrisation des ulcérations génitales s'accompagnent d'une diminution du portage génital en ARN du VIH.

• L'infection à VIH majore la fréquence et l'expression clinique (intensité et durée) des récurrences herpétiques génitales.

Ainsi, l'herpès cutanéomuqueux extensif ou chronique touche 15 à 30 % des patients infectés par le VIH **(80)**. Aux stades avancés de la maladie à VIH, les ulcérations peuvent être multiples, confluentes, parfois nécrotiques (73, 81). Les lymphocytes T cytotoxiques contre le HSV, capables de détruire une cellule infectée, jouent normalement un rôle prépondérant dans l'installation de la phase de latence et dans le contrôle des réactivations herpétiques. Les personnes infectées par le VIH ayant des récurrences fréquentes et symptomatiques ont une perte du contrôle de la réplication virale par les lymphocytes T cytotoxiques. Les conséquences de l'infection par le VIH et de l'immunodépression sur le portage génital asymptomatique en HSV sont encore peu documentées

- ✓ **Mécanismes in vitro**

In vitro, quelques travaux ont décrit des interactions entre les HSV et le VIH, essentiellement pour le HSV-1. Nous présentons d'une part l'effet de l'infection herpétique sur la réplication et l'infectiosité du VIH et d'autre part l'effet du VIH sur la réactivation et la réplication du HSV.

Modulation de la réplication et de l'infectiosité du VIH1 par une infection herpétique : elle peut être divisée en 3 mécanismes :

- Interaction des protéines de la membrane de la particule herpétique avec la membrane du macrophage infecté par le VIH. Certaines études ont montré que des macrophages infectés par le VIH au contact du HSV de type 1 ou 2 infectieux ou inactivé par la chaleur augmentaient la production de VIH, en partie par la voie de NF-kappa B. Cet effet semble être médié par l'interaction des glycoprotéines de la membrane du HSV ; en effet, il est atténué par l'utilisation d'anticorps dirigés contre les glycoprotéines herpétiques gB et gD, nécessaires à l'attachement et à la fusion aux cellules *(*figure *8) (82).*
- Induction de la réplication du VIH par les protéines très précoces herpétiques

Plusieurs travaux ont analysé le rôle Transactivateur des protéines herpétiques sur le génome du VIH. Plusieurs protéines d'expression herpétique, produits des gènes très précoces alpha, en particulier ICP0 et ICP4, sont capables *in vitro* de transactiver la réplication du VIH1 en interagissant avec la région régulatrice long terminal repeat (LTR), *via* NF-kappa B et Sp1. Ces études ont été réalisées sur des cellules (Véro, Héla) transfectées par des constructions de la région LTR du VIH1 associée à un gène rapporteur CAT (chloramphénicol aminotransférase) (83, 84), ou des cellules lymphocytaires de lignée $CD4^+$ CEM (85), infectées par le VIH1, au contact de souches virales HSV1 *(*figure *8)*. Ces résultats n'ont, toutefois, pas été encore confirmés avec le HSV-2.
Des cytokines sont sécrétées par les leucocytes au cours des réponses immunes à différents agents pathogènes. L'infection des macrophages par HSV-2 induit l'expression principalement de deux cytokines : IL6 et TNFalpha.

IL6. HSV-1 et HSV-2 infectieux sont capables d'induire l'expression d'IL6 dans des leucocytes par interaction avec la RNA-activated protein kinase (PKR) et NF-kappa B **(75)** et il est bien établi que IL6 induit la réplication du VIH par une augmentation de l'activité post-transcription **(86)**.

L'expression de TNFalpha est induite dans des macrophages infectés par HSV-2 par une régulation de l'activité transcriptionelle. Le TNFalpha induit lui-même une augmentation de la réplication du VIH par l'induction de l'activité transcriptionelle via NF-kappa B **(86)**.

La coïnfection virale peut également mener à la formation de virus pseudotypés, des particules virales comportant le génome du VIH-1 enveloppé des glycoprotéines de surfaces dérivées d'autres virus. Ces pseudotypes pourraient donc possiblement infecter des cellules normalement résistantes à l'infection par le VIH. La formation de pseudotypes a été décrite pour le HSV-1 et le VIH **(85, 87)**, par l'observation d'ARN du VIH dans des cellules épidermoïdes n'exprimant pas le CD4 **(87)**.

- Modulation de la réplication du HSV par l'infection à VIH

Les principales hypothèses de la modulation du VIH sur l'infection herpétique sont la majoration de la fréquence et de l'expression clinique (intensité et durée) des récurrences herpétiques génitales due à une réduction de l'immunité cellulaire. La réactivation des virus latents, puis la réplication virale au niveau muqueux ne sont pas contrôlées par les lymphocytes cytotoxiques spécifiques de l'herpès. La fréquence des précurseurs des CTL

quantifiés dans les cellules mononuclées sanguines semble être moins élevée chez les patients HSV + et VIH + que chez les patients HSV + et HIV -. Les patients souffrant de récurrences herpétiques génitales sévères présentent aussi un nombre des précurseurs des CTL significativement plus bas que les patients avec des récurrences de gravité moyenne **(88)**.

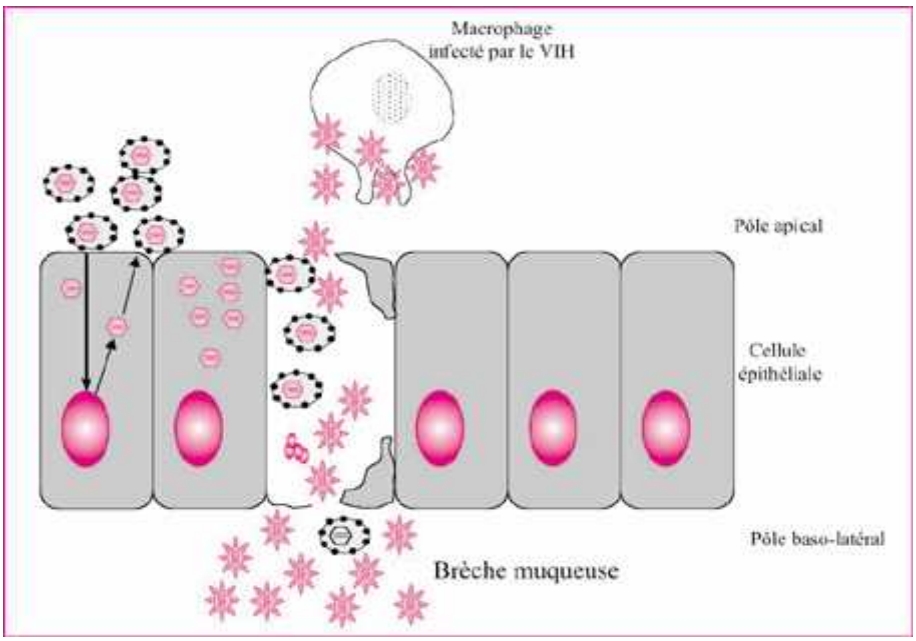

Figure 8: Passage du VIH par la brèche muqueuse (79)

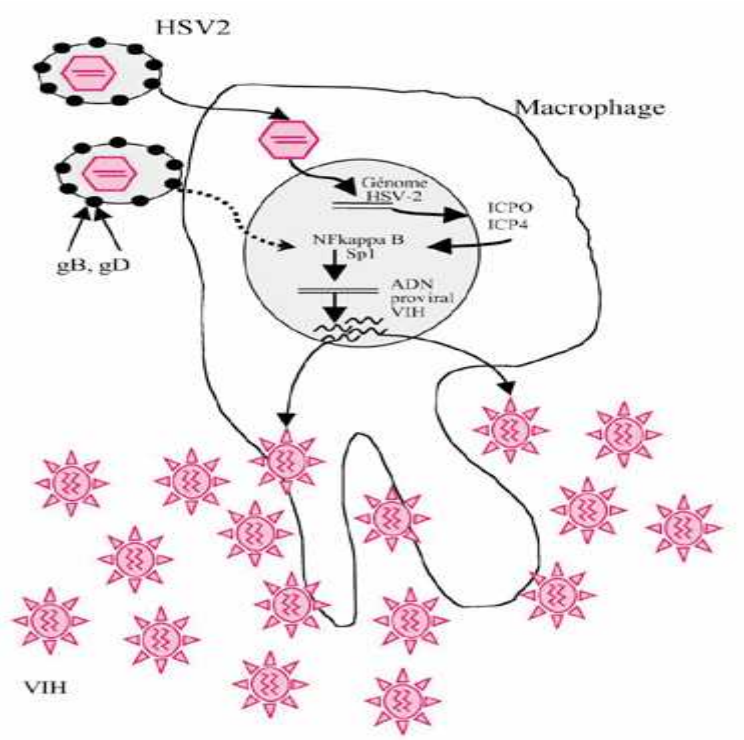

Figure 9 : **Interaction des glycoprotéines de la membrane du HSV (82)**

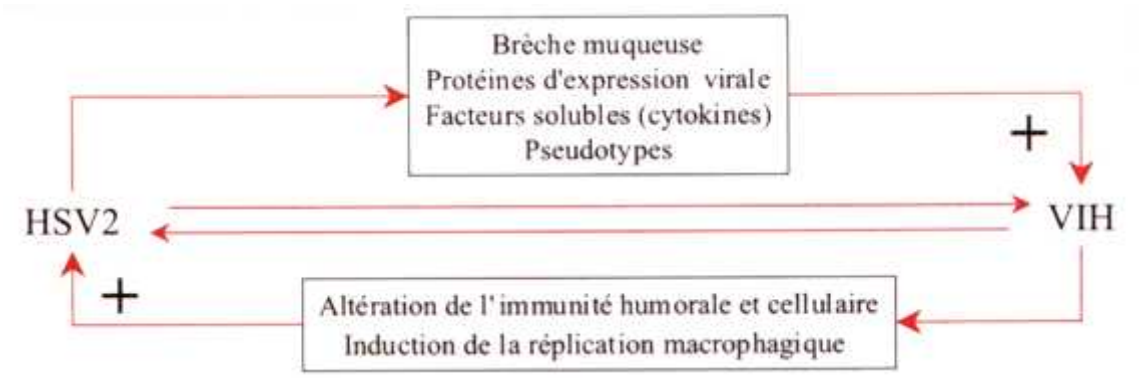

Figure 10 : Amplification des lésions herpétiques et des interactions entre le HSV2 et le VIH (77)

I.9 Diagnostic biologiques :

La symptomatologie des infections herpétiques orofacial et génitales est généralement évocatrice pour poser le diagnostic sans avoir recours à un diagnostic biologique. Cependant, il existe certaines situations où le recours au diagnostic biologique est indispensable, en cas de lésions atypiques et d'infections graves du fait de la localisation (SNC, œil) ou du terrain (immunodéprimé, nouveau-né, femme enceinte) afin de mettre en place rapidement un traitement antiviral adéquat.

Deux types de tests sont mis en œuvre au laboratoire: Tests de diagnostic direct : la détection du virus par culture, du génome par PCR ou celle des antigènes par immunofluorescence et tests de diagnostic indirect ; les sérologies qui permettent de définir l'état immunitaire du patient **(50)**.

I.9.1 Prélèvement :

Il doit être réalisé le plus tôt possible dès l'apparition des premiers symptômes en dehors de toute désinfection ou de traitement antiviral et porter sur des lésions fraiches : vésicules et pustules.

Dans le cas d'une éruption vésiculeuse typique, on recueille à l'aide d'un premier écouvillon le liquide vésiculaire et avec un second écouvillon les cellules du plancher par des rotations fermes en prenant garde de ne pas faire saigner

En cas d'infections asymptomatiques orales ou génitales on écouvillonne une large surface de la muqueuse et on recueille les sécrétions. La totalité de l'écouvillon doit être mise dans le tube contenant le milieu de transport. Si l'écouvillon est trop long le couper afin de pouvoir fermer le tube hermétiquement, ce qui permet l'acheminement des échantillons dans un

laboratoire de virologie dans des conditions satisfaisantes même à des températures ambiantes.

Divers milieux de transports sont utilisés parmi lesquels nous avons le sigma-virocult, le milieu M4 (Multi-Microbe-Media prévus pour la survie des mycoplasmes et chlamydia), ENEM, solutions saines type solution de Hank's **(51).**

Pour rechercher une excrétion asymptomatique au niveau des voies génitales chez la femme, l'écouvillonnage se fera à deux niveaux : faces interne, externe des petites lèvres et col utérin : après avoir éliminé, à l'aide d'un écouvillon qu'on jette, le bouchon muqueux du canal cervical, un deuxième écouvillon est introduit sur 1 ou 2 cm dans le canal cervical, tourné dans ce canal puis passé à la surface du col utérin, puis exprimé dans un tube de milieu de transport. Un troisième écouvillon est passé sur les faces interne et externe des petites lèvres pour être exprimé dans le même tube que l'écouvillon précédent **(89).**

L'acheminement au laboratoire doit être rapide 2 à 4h pour avoir de meilleurs résultats. Les prélèvements doivent être conservés dans le milieu de transport entre +4°C et +8°C **(69)**.

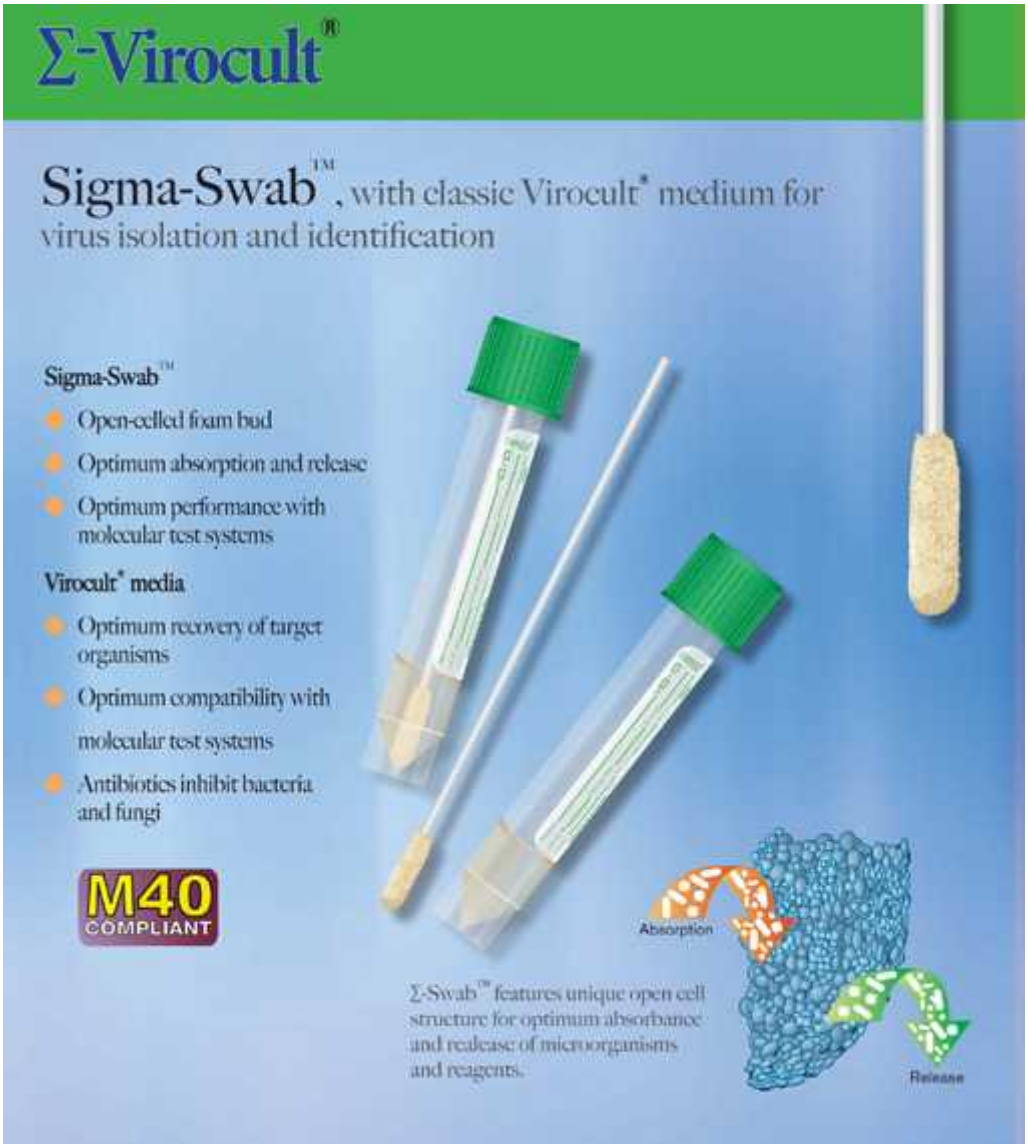

Figure 11: le milieu sigma-virocult

I.9.2 Technique de Diagnostics direct :

- **Culture virale :**

La culture virale est la technique de référence malgré sa nécessité de laboratoires spécialisés **(7, 90)** ; sa sensibilité atteint 77% en primo-infection et diminue pendant les récurrences où il y a moins de charge virale ainsi qu'une période d'excrétion virale plus courte **(91)**.

Les virus herpès sont cultivables sur un grand nombre de cellules (Véro, Hep2, fibroblastes humains (MRC5)). Les cellules les plus couramment utilisées sont les cellules diploïdes de fibroblastes humains MRC5., après filtration du prélèvement, le liquide filtré est mis en culture dans des boites contenant du MRC5 et incubé à 37°C. Ces virus donnent rapidement

(en 24h à 4 jours) un effet cytopathique très évocateur : cellules bien rondes en foyer (grappe de raisin) **(48, 50)**.

Grâce à l'immunofluorescence et l'immunoperoxydase, La culture virale permet aussi l'identification du type viral HSV -1 ou 2 et l'isolement de la souche en vue de réaliser un virogramme et tester la sensibilité aux antiviraux surtout en cas d'herpès récurrent résistant cliniquement au traitement antiviral **(48, 50).**

- **Révélation par ELISA :**

C'est un Test direct et rapide au moyen d'anticorps immunofluorescents, mais ne permet pas la distinction de type. Sa sensibilité est médiocre notamment pour des lésions à un stade avancé : croutes **(50, 51)**.

Des anticorps dirigés contre l'antigène viral sont fixés sur une plaque de polystyrène. Si le prélèvement étudié contient l'antigène, celui-ci va se fixer. Un deuxième anticorps marqué avec une enzyme vient s'accrocher. Après lavage, lorsqu'on ajoute le substrat de l'enzyme, il se produit une réaction colorée **(92).**

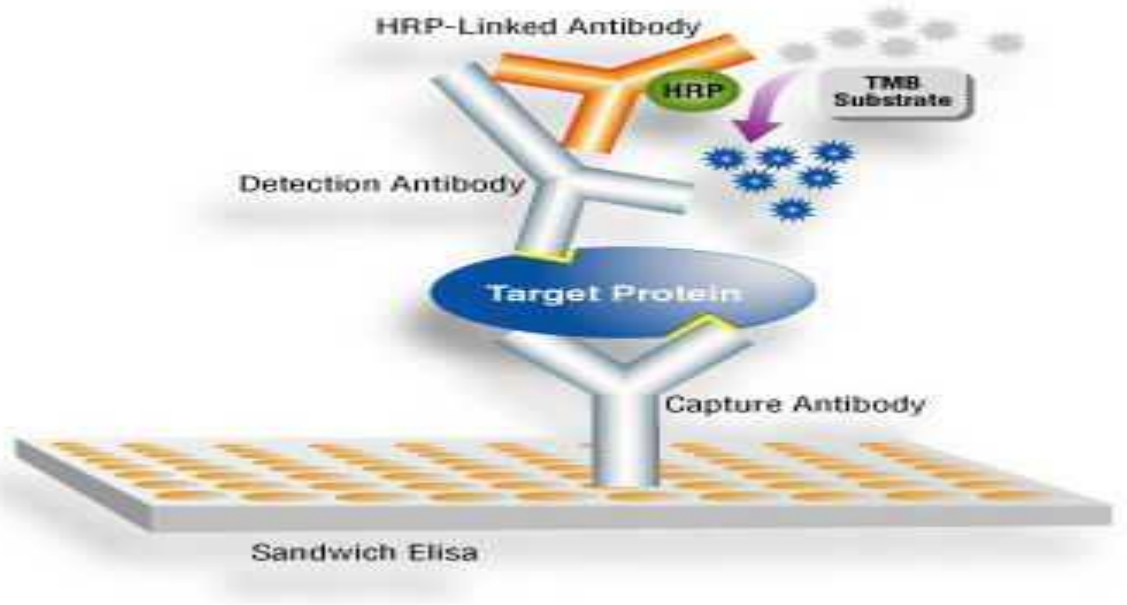

Figure 12: Détection d'antigènes par méthode ELISA

- **Cytodiagnostic de tzanck**

Examen réalisé sur un frottis obtenu par un raclage à partir d'un prélèvement au vaccinostyle de cellules infectées du plancher d'une ulcération, au mieux, d'une lésion vésiculeuse après avoir enlevé le toit de la lésion. Après coloration de MayGrünwald-Giemsa, l'effet cytopathogène du virus est visualisé au microscope optique : présence de cellules ballonnisées de grande taille et multinucléées avec un noyau bourgeonnant. Certaines colorations permettent de mettre en évidence des inclusions intranucléaires éosinophiles entourées d'un halo clair avec une margination de la chromatine au niveau de la membrane nucléaire. De la même façon, n'importe quel tissu prélevé pourra être étudié à la recherche d'une infection herpétique.

C'est un examen rapide et simple mais non pathognomonique car le même aspect est observé dans les infections à varicelle et zona **(56, 93).**

- **Détection du génome viral par PCR**

C'est une technique spécifique, la plus sensible actuellement : Trois à quatre fois plus sensible que la culture **(50)** surtout pour le diagnostic d'encéphalite herpétique. Elle persiste positive 5 jours avant d'être négative après la mise sous acyclovir et permet de débuter le traitement sans attendre.

Dans la mesure où cette détection ne nécessite pas des conditions spéciales de transport et de conservation, elle est rapide **(94).** Mais expose pour autant au risque de faux positifs par contamination ou faux négatifs par inhibiteur de la réaction d'amplification. Elle révèle la présence de séquences génomiques virales dans les cellules étudiées permettant la détection du virus en très faible quantité dans un tissu suspect **(56).**

Vu son faible seuil de détection, c'est le meilleur test pour rechercher l'excrétion virale asymptomatique **(50, 94).**

Tableau I: Tests de diagnostic direct de l'infection herpétique (95)

Tests	Culture virale	Détection d'antigènes par immunofluorescence	Détection d'antigènes par Techniques immuno-enzymatiques	PCR
Nature du prélèvement	Ecouvillon/ frottis/ tissu	Ecouvillon/ frottis/ tissu	Ecouvillon	Ecouvillon/ frottis/ tissu
Sensibilité	80-90%	30-40%	60-80%	90-95%
Spécificité	80-90%		80-90%	80-90%
Avantages	Typage, antivirogramme	Faible coût	Faible coût et rapidité	Sensibilité, rapidité

I.9.3 Technique de diagnostic indirect :

- **Sérologie**

La sérologie identifie les sujets porteurs d'anticorps anti HSV formés 4 à 6 semaines après l'infection. Elle permet ainsi de préciser le statut immunitaire et la séroconversion. Mais elle n'est pas adaptée au diagnostic d'une lésion clinique sauf si une séroconversion est démontrée signant une primo-infection symptomatique ou non.

Récemment, il a été rapporté que la détection d'anticorps de type IgM dirigés contre la gG de HSV-2 permettrait d'affirmer une primo-infection à ce virus, ces anticorps n'étant plus détectés lors des récurrences (50).

- **Sérologie non spécifique**

La sérologie non spécifique de type utilise des isolats de souches d'HSV-1 et

2 comme fraction antigénique qui détecte les anticorps communs aux deux types d'herpès simplex virus : IgG plus ou moins IgM par IFI ou ELISA.

En effet, une séropositivité permet uniquement d'établir qu'un individu est infecté par le virus HSV-1 ou HSV-2 ou les deux. Cette information est généralement peu utile. Une sérologie négative éliminant une infection par l'un ou l'autre des 2 virus est plus contributive, à condition que la sensibilité du test soit identique vis-à vis des deux virus. En l'absence d'IgG et d'IgM, elle permet d'exclure une étiologie herpétique dans un contexte d'ulcérations récurrentes. Elle permet aussi d'établir un diagnostic de primo-infection herpétique en cas de séroconversion lorsqu'on dispose de deux sérums distincts mais est ininterprétable en présence d'une primo-manifestation. La recherche des IgM doit être réservée au seul cas de suspicion de primo-infection et n'est interprétable que s'il existe un profil de séroconversion.

Au cours de la primo-infection herpétique, les anticorps anti-HSV non spécifiques de type apparaissent après le contact infectant dans un délai de 5 à 10 jours pour les IgM et de 1 à 2 semaines pour les IgG. Après la primo-infection, les IgM disparaissent en quelques semaines, alors que les IgG vont persister toute la vie. Certaines récurrences peuvent néanmoins s'accompagner d'une réapparition des IgM, notamment chez le sujet immunodéprimé mais la présence d'IgM n'est pas toujours synonyme de réactivation **(96).**

- **Sérologie spécifique du type**

Les tests sérologiques spécifiques de type détectent les anticorps dirigés contre les glycoprotéines d'enveloppe gpG1 et gpG2, spécifiques de HSV1 et HSV2 respectivement. Les trousses actuellement commercialisées utilisent les techniques Elisa ou immun blot et la plupart révèlent exclusivement les IgG.

Lorsque le virus est isolé ou mis en évidence par PCR, la sérologie spécifique de type n'a pas d'utilité. Elle peut également confirmer l'infection herpétique dans des cas de présentations asymptomatiques ou mal diagnostiquées ou encore en l'absence de culture positive ainsi que pour évaluer le risque chez des couples stables discordants.

La sérologie peut également être importante pour le diagnostic de l'herpès génital chez la femme enceinte. En effet, le dépistage d'anticorps anti HSV chez le conjoint d'une femme enceinte séronégative permettra de prendre les mesures de préventions nécessaires afin d'éviter une infection herpétique primaire en cours de grossesse **(97)**.

Plusieurs méthodes ont été utilisées afin de rechercher les anticorps anti HSV -1 et -2 dont la neutralisation, la fixation du complément, l'immunofluorescence, l'immunobuvardage (Western blot) et l'ELISA. Cette dernière méthode est maintenant la plus utilisée pour la recherche d'anticorps spécifiques au HSV-1 et –2 (anticorps dirigés contre la gG1, gG2) et elle permet également la détection d'IgM associées à des infections actives **(98).** Plusieurs méthodes sont maintenant commercialisées **(69)** dont le POCkit/HSV2 test rapid® (Diagnosis) qui peut être effectué en l'espace de 6 à 10 min. Ce test comporte une sensibilité de 96% et une spécificité de 98% en comparaison avec la méthode Western blot **(49)**.

Cependant, la séroconversion peut être démontrée seulement deux semaines suivant l'apparition des symptômes de l'infection virale **(49)**.

I.10 TRAITEMENT

I.10.1 Les antiviraux

I.10.1.1 Acyclovir

Acyclovir ou 9, 2-hydroxyéthoxyméthyle guanine est un nucléoside acyclique dérivé à partir de la guanine, une base purique, et analogue de la désoxyguanine. C'est un virostatique et non un virulicide, son effet étant limité à l'infection aigue sans action sur la prévention des récidives.

- **Mécanisme d'action**

Après une triphosphorylation de l'acyclovir qui lui est nécessaire pour être actif, l'acyclovir triphosphate est incorporé au sein du génome viral où il bloque sélectivement l'ADN polymérase virale et inhibe ainsi la réplication virale. Ainsi, Il cible uniquement les cellules infectées du fait que l'activité de la TK virale dépasse celle des enzymes cellulaires pour la première phosphorylation de l'acyclovir et que la sensibilité de l'ADN polymérase virale est plus importante 57 par rapport à l'ADN polymérase cellulaire pour l'acyclovir triphosphate **(99).**

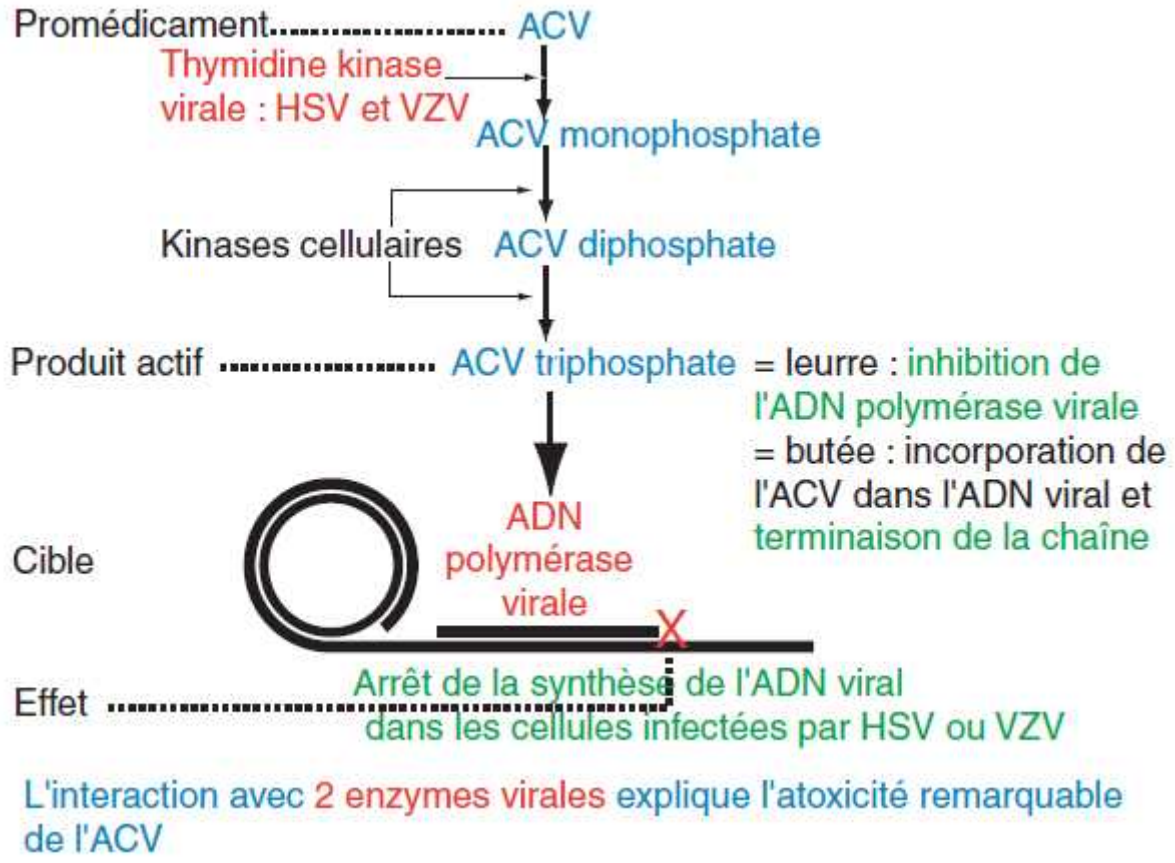

Figure 13 : Mécanisme d'action de l'acyclovir **(100).**

- **Pharmacocinétique**

- La biodisponibilité de l'acyclovir administré par voie orale est faible : de 15 à 30 %.
- Sa demi-vie plasmatique est de 2 à 3 heures.
- La diffusion tissulaire, en particulier dans le LCR, est bonne. L'acyclovir passe également dans le lait maternel.
- Son élimination se fait par voie rénale, imposant une diminution de la posologie chez l'insuffisant rénal.
- Plusieurs formulations d'ACV sont maintenant disponibles (orale, intraveineuse, topique et ophtalmique), et dans certains pays, l'ACV sous forme de crème contenant 5% d'ACV est offert en vente libre pour le traitement de l'herpès labial. Sous sa forme orale, des comprimés de 200 mg et de 800 mg, ainsi que des suspensions liquides d'ACV (200 mg dans 5 ml de diluent) sont disponibles. Par contre, suite à une administration orale, l'ACV est absorbé lentement et sa biodisponibilité est assez faible (10 à 20%) **(101)**.

- **Effets secondaires**

L'Acyclovir est en général très bien toléré. Des nausées, vomissements ou des céphalées ont pu être rapportés. Après administration intraveineuse, des irritations locales, une éruption cutanée et même une hypotension ont été signalées. L'effet secondaire principal est une cristallisation dans les voies excrétrices urinaires à l'origine d'une insuffisance rénale. De rares cas de neutropénie et d'élévation des transaminases ont été rapportés. La prescription d'Acyclovir est à éviter de principe au cours du premier trimestre de la grossesse. Toutefois, aucune toxicité particulière n'a été observée chez le fœtus, le prématuré et le nouveau-né **(7, 102).**

I.10.1.2 Famciclovir et Valaciclovir

Ce sont deux molécules, proches de l'Acyclovir, de meilleure biodisponibilité orale par rapport à l'acyclovir. Valaciclovir est un L-valylester de l'Acyclovir. Le Famciclovir est, un 6 désoxydiacéthylester du Penciclovir, ou 9, 4- hydroxy-3-hydroxyméthyl-but-1-yl) guanine. Il représente la forme orale de Penciclovir.

- **Mécanisme d'action**

Leur mécanisme d'action est équivalent à celui de l'acyclovir. Le Valacyclovir est rapidement hydrolysé en acyclovir au niveau hépatique.

- **Pharmacocinétique**

Le Famciclovir présente certains avantages en comparaison à l'Acyclovir : sa biodisponibilité est excellente (77 %). La stabilité intracellulaire du Penciclovir triphosphate lui permet d'avoir une demi-vie 10 à 20 fois supérieure à l'Acyclovir triphosphate. La demi-vie du Penciclovir est de 2,5 heures. L'administration orale de Valacyclovir (1000 mg toutes les 8 heures) a permis d'obtenir, chez des volontaires sains, des taux plasmatiques équivalents aux taux obtenus après administration intraveineuse d'Acyclovir.

- **Effets secondaires**

La tolérance du Famciclovir (500 mg ou 750 mg 3 fois/j) ou du Valaciclovir
(1000 mg 2 fois/j) est analogue à celle du traitement par l'Acyclovir dans la primo-infection et les récurrences herpétiques pour le Famciclovir, et les récurrences herpétiques génitales pour le Valaciclovir **(103).**

I.10.1.3 Penciclovir

Le Penciclovir (PCV) est une molécule de structure très proche de celle du Ganciclovir (molécule proche de l'ACV par l'adjonction d'un groupe hydroxyméthyl dont l'activité antivirale majeure concerne le cytomégalovirus).

- **Mécanisme d'action**

Le métabolisme et le mécanisme d'action du PCV sont identiques à ceux de l'ACV mais à la différence de cette dernière molécule le PCV triphosphate n'empêche pas la poursuite de la synthèse de la chaîne d'ADN. In vitro, l'effet inhibiteur du PCV sur HSV-1 et HSV-2 est similaire à celui de l'ACV.

I.10.1.4 Cidofovir

L'hydroxy-phosphonylméthoxypropyl-Cytosine ou Cidofvir (CDV) est un analogue phosphoré de nucléotide de sorte que son activation ne nécessite que deux phosphorylations, celles-ci étant assurées par des kinases cellulaires.

- **Mécanisme d'action**

Le CDV constitue une seconde alternative en cas de résistance à l'ACV. En effet, cet analogue de la cytidine ne nécessite pas de phosphorylation par la TK virale. Il comporte un groupement phosphonate empêchant le clivage par les estérases cellulaires. Cette forme phosphonate subit deux phosphorylations successives par des kinases cellulaires, lui permettant ensuite de s'insérer dans l'ADN viral et d'en stopper l'élongation.

I.10.1.5 Vidarabine (adénine-arabinoside)

Vidarabine ou 9-β-D-arabinofuranosyladénine est un analogue nucléosidique de la désoxyadénosine.

- **Mécanisme d'action**

Après une conversion en ara-arabinoside triphosphate, il bloque l'activité de l'ADN polymérase. Il inhibe également la terminaison des chaînes d'ADN après incorporation en position terminale.

- **Pharmacocinétique**

- Après administration par voie intraveineuse, il est retrouvé dans le LCR avec des taux importants (35 % des taux sériques).
- Son élimination est essentiellement rénale, imposant une adaptation des doses chez l'insuffisant rénal.

- **Effets secondaires**

De nombreux effets secondaires ont été rapportés, entre autres troubles, digestifs (anorexie, diarrhée), neurologiques **(100).**

I.10.1.6 Foscarnet

Le Foscarnet est un analogue pyrophosphaté de l'acide phospho-acétique. Il inhibe l'action de l'ADN pol virale en bloquant le site récepteur du pyrophosphate empêchant ainsi le lien diester entre l'enzyme et le substrat nucléosidique triphosphaté.

Foscarnet est réservé au traitement des infections par des souches résistantes à l'Acyclovir.

- **Pharmacocinétique :**

- Après une administration intraveineuse, il est éliminé par voie urinaire à 80%.
- Il existe une accumulation au niveau des os.

- **Effets secondaires :**

- Une néphrotoxicité est redoutable. Toutefois, L'insuffisance rénale est le plus souvent réversible.
- Une toxicité hématologique présentant souvent sous forme d'anémie est parfois observée chez les patients coinfectés par le SIDA.
- Des perturbations du bilan phosphocalcique, principalement une hypocalcémie par diminution du calcium ionisé sans modification du calcium total, sont rapportées.
- Des ulcérations génitales (gland, vulve) par toxicité locale du Foscarnet peuvent être évitées par une toilette locale après chaque miction **(103).**

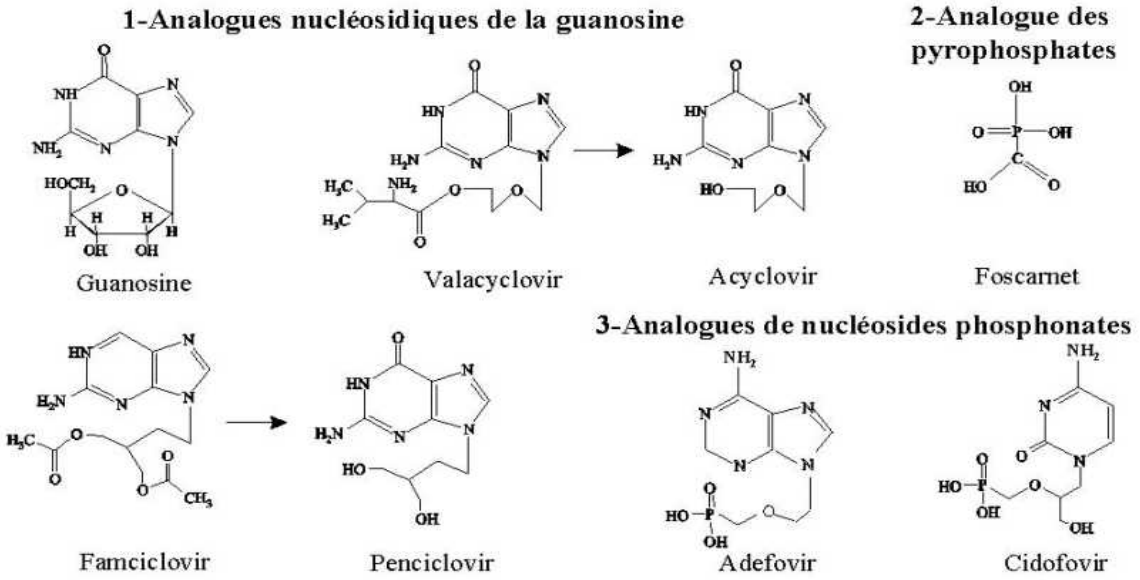

Figure 14**:** structures des antiviraux (100)

I.10.2 TRAITEMENT DES DIFFERENTES MANIFESTATIONS DE L'HERPES :

Le traitement des différentes manifestations de l'herpès est résumé dans le **Tableau II.**

Tableau II : Traitement des différentes manifestations de l'herpès **(104)**

Traitement de la poussée × 5 à 10 j ou plus, selon l'immunodépression Traitement de la poussée × 5 à 10 j ou plus, selon l'immunodépression Traitement préventif * Lésions résistantes à l'ACV I.V.5 à 10 mg/kg/8h ou ACV po. 200 ou 400 mg × 5/j ou Valacv 500 mg × 2/j ou FCV 500 mg × 2/j	Traitement préventif * ACV I.V. 5 mg/kg/8 h ou ACV po. 200 mg × 4/j ou Valacv 500 mg × 2/j ou FCV 500 mg × 2/j durant l'immunodépression	Lésions résistantes à l'ACV En 1re intention PFA 40 mg/kg/8 h ± TFT ou Cidofovir (CDV) en topique En 2e intention CDV I.V.
Herpès oral		
Gingivostomatite	Herpès labial récidivant (intérêt limité)	
ACV (suspension orale) 15 mg/kg ou 200mg × 4 à 5/j selon que l'enfant a moins ou plus de 2 ans	**Traitement de la poussée** comprimés pris dès les prodromes × 5 j Valacv 500 mg × 2/j ou ACV 200 mg × 5/j ou FCV 250 mg × 2/j	**Traitement suspensif quotidien po**. Valacv 500mg × 1 voire 2/j ou ACV 200 mg × 4/j ou FCV 250 mg × 2/j Réévaluation du traitement et des doses
Herpès oculaire		
Infection aiguë Topique : ACV / TFT / IdU / Ara-A / GCV / PCV/ BVdU / CDV + Traitement po. dans les cas sévères ACV ou Valacv 500 mg × 2/j	Prévention des récidives Traitement suspensif quotidien po. × 12 mois ACV 400 mg × 2/j ou Valacv 500 mg/j	
Encéphalite aiguë nécrosante		
Traitement d'urgence ACV I.V. 15 (voire 20) mg/kg/8 h × 14 (voire) 21 j	Traitement de consolidation (?) ACV po. ou Valacv × 3 à 4 mois	
Herpès du nouveau-né		
Traitement d'urgence ACV i.v 20 mg/kg/8 h × 21 j	Traitement de consolidation (?) ACV po. 15 mg/kg ou 200 mg × 4/j ou Valacv (hors AMM) × 3 à 4 mois	

En cas d'insuffisance rénale, toutes les doses indiquées sont à adapter à la clairance de la créatinine.

* Des doses quotidiennes supérieures d'ACV (800 mg × 4) ou de Valacv (2000 mg × 4) sont utilisées pour prévenir l'infection par CMV des personnes immunodéprimées.

I.10.21 Herpès orofacial

Lors de la primo-infection, en cas de gingivostomatite herpétique, le traitement antiviral doit être administré le plus rapidement possible, dès que le diagnostic est évoqué. L'Acyclovir représente le traitement de première intention, il est administré par voie orale sauf si l'intensité des lésions le rend impossible, on administrera alors le traitement par voie intraveineuse. Chez l'enfant de moins de 6ans, on utilise la suspension buvable. Lors de récurrences, un traitement préventif peut être instauré si celles-ci sont fréquentes (au moins 6/an) ou si l'impact socioprofessionnel est important pour le sujet atteint. Ce traitement permet de réduire la fréquence des crises et la durée de l'excrétion virale. La durée du traitement préventif dépendra d'une évaluation réalisée tous les 6 à 12 mois.

Dans l'herpès labial, l'acyclovir en crème dermique à 5% peut être utilisée à raison de 5 applications par jour pendant 5 à 10 jours. Le traitement doit là aussi être débuté le plus tôt possible, dès les premiers signes d'infection. La crème permet d'accélérer la guérison mais elle n'a aucune activité démontrée sur d'autres paramètres tels que la durée de la douleur par exemple **(105).**

I.10.2.2 Herpès génital

Dans le cas de formes sévères de primo-infections ou d'infections initiales non-primaires, l'Acyclovir peut être utilisé par voie intra veineuse, sinon on l'utilisera par voie orale.

Le Valacyclovir peut aussi être utilisé, ce qui permet de réduire le nombre de prises journalières. Lors de récurrences, l'Acyclovir et sa prodrogue sont utilisés per os.

L'utilisation per os de l'Acyclovir ou du Valaciclovir au long cours chez des personnes ayant des récurrences fréquentes (au moins 6 par an) diminue le nombre de récidives et améliore ainsi la qualité de vie des personnes. Comme pour l'herpès oral, la durée du traitement dépend d'une évaluation tous les 6 à 12 mois. La crème dermique peut être utilisée localement dans les mêmes conditions que pour l'herpès oral.

Administration orale	Acyclovir	Valacyclovir	Famciclovir
Primo infection pendant 7 jours	200mg 5 fois par jour ou 400mg « fois par jour	1g 2 fois par jour	250mg 3 fois par jour
Traitement épisodique de la récidive Patients immunocompétents pendant 7 jours	200mg 5 fois par jour ou 400mg 3 fois par jour ou 800mg 2 fois par jour	500mg 2 fois par jour ou 1g par jour	125mg 2 fois par jour
Patients infectés par le VIH	400mg 3 fois par jour ou 200mg 5 fois par jour	1g 2 fois par jour	500mg 2 fois par jour
Traitement suppressif continu	400mg 2 fois par jour	500mg par jour ou 1g par jour	250mg 2 fois par jour
Patients infectés par le VIH	400 à 800mg 2 à 3 fois par jour	500mg 2 fois par jour	500mg 2 fois par jour

Tableau III : Traitement de l'herpès génital selon recommandations des CDC 2002

I.10.2.3 Herpès de la femme enceinte

Lors d'une primo-infection survenant dans le dernier mois de grossesse, un traitement par acyclovir per os à la dose de 200mg 5fois par jour est recommandé jusqu'à l'accouchement.

Lorsque la primo-infection survient plus tôt dans la grossesse, le traitement est le même que chez la femme non enceinte mais il est recommandé de reprendre un traitement antiviral à partir de la 36ème semaine d'aménorrhée et jusqu'à l'accouchement afin de limiter les risques de transmission materno-fœtale : Acyclovir 200mg x 5/ jour per os pendant 10 jours puis 400mg 3 fois par jour à partir de la 36ème semaine d'aménorrhée jusqu'à la fin de la grossesse.

Pour le traitement des récurrences pendant la grossesse, le traitement sera le même que chez la femme non enceinte : Acyclovir 200mg x 5fois/jour per os.

Tableau IV : Les situations de la femme enceinte en rapport avec l'infection herpétique (91).

Situation maternelle :	Fréquence chez les mères d'enfant infecté	Risque d'herpès pour l'enfant	Conduite proposée
I. Primo-infection en prepartum (ou dans le mois précédent)	rare	++++ ≈ 75 %	Césarienne Discuter l'ACV
II. Récurrence en prepartum (ou dans la semaine précédente)	+	++ ≈ 2 à 5 %	Césarienne
III. Antécédents seuls d'herpès génital (chez la mère ou son partenaire)	++	+ ≈ 1/1 000	Voie basse après Bétadine®. Isolement d'HSV seul[1] à terme —> si +, discuter l'ACV pour l'enfant.
IV. Aucune manifestation d'herpès génital	+++ 2/3 des cas	+/- ≈ 1/10 000	Ne rien faire qu'éviter toute MST !
0,1 à 1 % des femmes enceintes tout-venant ont une excrétion génitale asymptomatique d'HSV.		Les 2/3 des herpès néonataux échappent à toute prévention.	

- **Place de la césarienne :**

La césarienne a pour but, de prévenir le risque de transmission et espérer une diminution des cas d'herpès néonatal en évitant le contact entre le virus et le fœtus.

Dans tous les cas, une césarienne est recommandée en cas d'excrétion virale symptomatique au moment d'accouchement qu'il s'agisse d'une primo-infection ou d'une récurrence sauf si le début de cette récurrence date de plus de 7 jours **(106).**

En l'absence de lésion, la césarienne peut être discutée en cas de primo-infection datant de moins de 6 semaines et non traitée par antiviral, ou en cas de récurrence asymptomatique de moins de 7 jours. La césarienne doit être réalisée si possible à membranes intactes ; en effet, l'intérêt d'une césarienne après 6 heures de rupture de la poche des eaux n'est pas démontré en ce qui concerne la prévention de l'infection néonatale. En cas de rupture précoce à un âge gestationnel où la maturité pulmonaire fœtale n'est pas atteinte, les spécialistes recommandent un traitement par Acyclovir intraveineux à la dose de 15 mg/kg/jour en 3 injections sans dépasser 1200 mg/jour. En salle de travail, il faut par ailleurs proscrire la pose d'une électrode de scalp, forceps, ventouses et rupture artificielle des membranes chez les patientes sans lésions avec suspicion d'excrétion virale ou chez les patientes symptomatiques refusant la

césarienne. Le badigeonnage antiseptique n'est cité dans aucune recommandation récente concernant les patientes aux antécédents d'herpès génital **(50)**.

I.10.2.4. Herpès néonatal

Le diagnostic d'herpès néonatal n'est pas toujours évident du fait que l'herpès génital est dans la plupart du temps méconnu, que les premiers signes n'apparaissent qu'après retour à domicile et que ce sont des symptômes non pathognomoniques communs à plusieurs maladies infectieuses. Néanmoins, Tout nouveau-né à risque d'infection néonatale à HSV doit bénéficier d'un examen initial soigneux, y compris chez les nouveau-nés de patientes avec antécédent d'herpès sans récurrence pendant la grossesse **(107)**.

Un nouveau-né symptomatique doit bénéficier des mêmes prélèvements systématiques associés à une ponction lombaire et à un prélèvement sanguin pour recherche par PCR ainsi qu'au prélèvement de toute lésion cutanéomuqueuse suspecte. La sérologie ne présente aucun intérêt chez le nouveau-né : d'une part, les anticorps maternels ne peuvent pas être différenciés de ceux de l'enfant et, d'autre part, l'enfant perd sa capacité à produire des anticorps anti-HSV en cas d'infection sévère **(3, 108).** Le traitement du nouveau-né repose sur l'Acyclovir à la dose de 60mg/kg/jour en 3 prises par voie intraveineuse et pour une durée de 14 jours dans une infection touchant la peau, les muqueuses ou l'œil, et de 21 jours dans une infection disséminée ou une atteinte du SNC. Un topique ophtalmique est associé en cas d'atteinte oculaire. L'efficacité du traitement est contrôlée par la PCR dans le LCR.

Ce traitement intraveineux instauré dans les plus brefs délais réduit le taux de mortalité à 30 % pour les enfants atteints d'infection disséminée, et à 6 % pour ceux présentant une atteinte du SNC. Il faut veiller à une bonne hydratation et à une adaptation des posologies à la fonction rénale en raison du risque de néphrotoxicité. Il existe aussi un risque de neutropénie transitoire, le plus souvent sans conséquence. Il est donc recommandé de réaliser une numération globulaire 2 fois par semaine. Le traitement par voie orale n'a pas d'indication chez le nouveau-né dans le traitement d'attaque. La société canadienne de pédiatrie recommande actuellement de poursuivre un traitement antiviral par voie orale pendant 6 mois après toute infection néonatale à HSV. La posologie recommandée est de 300 mg/m2 par dose administrée 3 fois par jour. Ce traitement a montré une nette efficacité surtout en termes de développement neurologique pour les méningo-encéphalites herpétiques.

A long terme, les enfants doivent bénéficier d'un suivi rapproché pour le dépistage d'éventuelles séquelles neurologiques, mais aussi pour le dépistage de toute récurrence. Il n'y a pas de consensus mais une forte recommandation à réaliser une ponction lombaire avec recherche de HSV dans le LCR à chaque récurrence cutanée, et à introduire ensuite un traitement par acyclovir intraveineux **(106).**

I.10.2.5 Encéphalite herpétique :

En cas d'encéphalite herpétique, le pronostic vital du patient étant en jeu, l'Acyclovir est administré par voie intraveineuse **(105)**.

I.10.2.6 Herpès oculaire :

La pommade ophtalmique à 3% d'Acyclovir est utilisée en application dans le cul de sac conjonctival. La valaciclovir est utilisé dans les kératites profondes ou les kérato-uvéites.

De plus, le valaciclovir est utilisé chez les patients de plus de 12ans dans la prévention des récidives d'infections oculaires à virus Herpès Simplex. L'Acyclovir est également indiqué dans la prévention des récidives oculaires à HSV chez le sujet immunocompétent **(105)**.

I.10.2 Résistance

Depuis son introduction dans les années 1980, l'Acyclovir est devenu le traitement de référence des infections à HSV, aussi bien en curatif qu'en prophylaxie. Cependant, dès le début de son utilisation, des souches résistantes sont apparues, les premiers cas ont été décrits en 1982. La prévalence des souches d'HSV résistantes à l'Acyclovir reste très faible dans la population générale, elle est estimée à 0,32%. Les cas de résistance retrouvés chez les sujets immunocompétents sont souvent associés à des récurrences d'herpès génital. De manière plus précise on observe : 1 3,4% à 10% de souches résistantes chez les sujets infectés par le VIH, 12,5% à 10% de souches résistantes chez les greffés d'organes avec une prévalence plus forte observée chez les greffés de moelle osseuse (6,5% à 14,3%) **(109)**.

La résistance du HSV en clinique peut se traduire par la persistance de lésions herpétiques malgré un traitement antiviral adéquat ou la dissémination cutanée ou viscérale de ces lésions. Plus précisément, l'infection résistante est soupçonnée lorsque les lésions herpétiques persistent pour une période de plus d'une semaine sans diminution appréciable de la largeur des lésions. Également, lorsque celles-ci sont d'apparence atypique, ou quand des lésions satellites se développent trois à quatre jours après l'instauration du traitement antiviral. Certains facteurs tels que la biodisponibilité, la pénétration de l'antiviral au site d'infection, la compliance du patient au traitement, son statut immunitaire, et l'interaction de l'ACV avec d'autres médicaments peuvent entraîner une diminution de l'efficacité du traitement sans pour autant que le virus soit résistant à l'antiviral **(109)**. Chez les sujets immunodéprimés, les études montrent que la prévalence des souches résistantes à l'acyclovir varie de 3,6% à 7%.

La résistance du HSV chez les patients immunodéprimés est un problème bien reconnu. Les virus résistant à l'ACV sont beaucoup plus fréquemment isolés et sont associés à des infections persistantes. Les lésions peuvent même progresser, s'aggraver, et se disséminer pour causer des infections telles que des pneumonies, des œsophagites et des encéphalites **(11).**

Quelques théories ont été émises afin d'expliquer l'incidence plus élevée de la résistance du HSV aux antiviraux chez les individus immunodéprimés. Premièrement, une réponse immunitaire inadéquate entraîne une réplication virale plus élevée et de façon continuelle, ce qui pourrait favoriser la sélection de virus mutants. En effet, la sévérité de l'immunodépression ainsi que l'utilisation prolongée de l'ACV sont considérées comme étant les deux facteurs principaux menant au développement de la résistance aux antiviraux. D'un autre côté, face à un système immunitaire déficient, des variant existant avant l'initiation de la thérapie antivirale pourraient se répliquer plus efficacement chez les individus immunodéprimés **(110)**. Cette dernière théorie peut être supportée par des études effectuées chez la souris qui ont clairement démontré que des HSV mutés dans certains gènes (TK, ICP0, RR, vhs, ICP 34.5) et sévèrement atténués dans leur capacité de réplication sont capables de se répliquer efficacement chez des souris dépourvues d'une réponse immunitaire efficace. La résistance des HSV à l'Acyclovir est liée à des mutations survenant sur les gènes UL23 et UL30 codant respectivement pour la TK et l'ADN polymérase, les deux enzymes impliquées dans le mécanisme d'action de l'Acyclovir. Une ADN polymérase fonctionnelle est indispensable pour la réplication virale alors que la TK ne l'est pas, il y a donc plus de chance d'avoir un mutant résistant viable si la mutation porte sur le gène de la TK que sur celui de l'ADN polymérase. Ceci explique que 95% des cas de résistance sont dus à une mutation sur le gène de la TK soit le gène UL23 **(111)** .

I.10.3 Prévention

La gestion des risques associés au HSV nécessite la collaboration de plusieurs intervenants, l'information et l'éducation du public sur les modes de contamination. ; Information des soignants sur le risque du HSV et sur les conditions de contamination, ainsi que sur les mesures de prévention existantes.

Les soignants porteurs de lésions herpétiques doivent être écartés du soin des patients à haut risque (nouveau-nés, immunodéprimés, brûlés…) car ils sont susceptibles de leur transmettre l'infection. Ceci est décidé après avoir évalué les risques de transmission du HSV des personnels soignant aux patients, prenant en compte le siège et l'étendue des lésions herpétiques du soignant ainsi que la gravité de la maladie des patients.

Le maintien de l'aptitude est conditionné au respect des précautions standard :

- En cas d'herpès labial : masque pendant les soins prodigués aux patients, pour prévenir tout contact des mains avec les lésions. L'importance du lavage des mains doit être mise en avant pour prévenir la transmission manuportée du germe **(112)**.

- En cas d'herpès cutané des mains : l'impossibilité de la désinfection des mains est incompatible avec le respect des précautions standards.
- En cas d'herpès néonatal : Les stratégies pour prévenir le HSV-N, comprend la détermination des grossesses à haut risque, l'accouchement par césarienne, l'antivirothérapie de la mère et les conseils préventifs aux futures mères et à leur conjoint. Cependant, les recommandations suivantes sont particulièrement pertinentes dans les pouponnières de soins spéciaux et les unités de soins intensifs néonatales **(113)** .

I.10.4 La *v*accination anti HSV : perspectives

Le dernier essai de vaccin anti HSV a donné, en 2002, des résultats qui, selon les commentateurs, ont pu être interprétés comme prometteurs. Rappelons qu'il s'agissait du vaccin de GlaxoSmithKline administré contre l'herpès génital à titre prophylactique, à des personnes dont le conjoint avait une histoire d'herpès génital. C'était un vaccin subunitaire à base de la glycoprotéine d'enveloppe D du HSV-2 (gD2), sous forme recombinante tronquée ; il comprenait un adjuvant de type Th1, associant de l'hydroxyde d'aluminium et du lipide A mono phosphorylé 3-dés O- acétylé (3-O-deacetylated-monophosphoryl lipid A ou 3d-MPL-A) **(114, 115)**.

II. METHODOLOGIE

II.1 Méthode

II.1.1 Lieu d'étude

L'étude a été réalisée au service des maladies infectieuses du CHU du Point G au CESAC de Bamako et au service de bactériologie-virologie de l'institut national de recherche en santé publique de Bamako (INRSP).

Le Service des maladies infectieuses et tropicales et le CESAC de Bamako ont servi de sites d'enrôlement des patients. Le diagnostic moléculaire a été réalisé au service de bactériologie-virologie de l'INRSP.

- **Description du service des maladies infectieuses du point G**

Ce service est abrité par un bâtiment à deux niveaux :

- Au rez-de-chaussée, se trouvent 15 salles d'hospitalisation, 2 salles de consultations, une salle pour l'hôpital du jour, une salle d'accueil, les bureaux du major, des infirmiers, des médecins en spécialisation, des thésards, des techniciens de surfaces et un hall pour les patients et les accompagnants. Le service a une capacité d'hospitalisation de 34 lits.
- A l'étage, se situe les bureaux des médecins, y compris celui du chef de service, un secrétariat, une salle des archives, une salle d'unité de recherche et une salle de cours.

- **Description du CESAC**

Le Centre d'Ecoute, de Soins, d'Animation, et de Conseil des personnes vivant avec le VIH a été créé en septembre 1996 afin d'apporter une réponse médicale et psychosociale adaptée aux problèmes de la prise en charge des personnes vivants avec le VIH/SIDA (PVVIH).

Le CESAC a été réalisé grâce au soutien financier de la coopération française en collaboration avec le Ministère de la Santé, des personnes âgées et de la solidarité de l'époque et l'association de Recherche de communication et d'Accompagnement à domicile des PVVIH (ARCAD/SIDA) qui assure la prise en charge totale de ses patients.

Le CESAC est situé au centre commercial de Bamako dans les locaux alloués par le Ministère de la Santé sur la rue Louis Archinard, contiguë au Centre d'Accueil et d'Orientation des Enfants (CAOE), entre le Ministère de l'Administration Territoriale et des Collectivités Locales et la gare ferroviaire. Il comprend :

- Un secrétariat,
- Un bureau du coordinateur,
- Cinq bureaux de consultation,
- Une salle d'attente,
- Deux salles de pharmacie, et un Magasin

- Un bureau de conseil dépistage,
- Une salle pour les opérateurs de saisie
- Un bureau des archivages,
- Une infirmerie,
- Un laboratoire
- Un bureau de service social,
- Un magasin,
- Quatre toilettes.

Le personnel :

Le personnel est pluridisciplinaire et est placé sous la responsabilité du médecin coordinateur du centre. Il est constitué d'une équipe permanente composée de 29 personnes.

Objectifs du CESAC :

Le CESAC a pour objectifs :

- Promouvoir une prise en charge de qualité dans le respect de l'éthique et des droits des personnes.

- Faciliter l'accès au conseil et soins:

- En offrant aux personnes et aux familles infectées et affectées par le VIH/SIDA un lieu d'accueil, de rencontre, d'orientation, d'information de soutien psychosociale ;
- En servant de lieu de prélèvements pour le dépistage volontaire et d'observation journalière pour les PVVIH ;

- Permettre aux intervenants du domaine de disposer d'un espace de rencontre, d'échange, d'information et de formation

- Améliorer la qualité de vie et de bien être des PVVIH :

- Offrir aux PVVIH une prise en charge globale en milieu extrahospitalier (accompagnement, soins à domicile).

▪ Description de l'INRSP

Créé par la loi N° 81-17/AN-RM du 31 mars 1981, et érigé en Établissement Public à caractère Administratif (EPA) par la loi N° 93-014 du 11 février 1993, l'INRSP est passé de ce statut à celui d'Établissement Public à caractère Scientifique et Technologique (EPST) par l'ordonnance N° 06-007/P– RM du 28 Février 2006.

Ses missions se résument comme suit :

- Promouvoir la recherche médicale et pharmaceutique en santé publique, notamment dans les domaines des maladies infectieuses, néoplasiques et sociales, de la santé

familiale, de l'éducation sanitaire, de l'hygiène du milieu, de la biologie clinique appliquée à la nutrition et aux affections endémo-épidémiques, de la toxicologie médicale et expérimentale, de la bromatologie, de la génétique, de la socio économie, de la médecine et pharmacopée traditionnelle ;

- Participer à la formation technique, au perfectionnement et à la spécialisation dans le domaine de sa compétence ;
- Assurer la référence dans le domaine de la biologie clinique ;
- Assurer la mise au point et la formulation des médicaments traditionnels améliorés ;
- assurer la protection du patrimoine scientifique relevant de son domaine ;
- Promouvoir la coopération nationale et internationale dans le cadre des programmes et d'accords d'assistance mutuelle ;
- Gérer les structures de recherche qui lui sont confiées

L'INRSP comprend cinq départements et une agence comptable qui sont :

- Département Santé Communautaire (DSC) ;
- Département Médecine Traditionnelle (DMT) ;
- Département Formation (DF) ;
- Département Administration et Personnel (DAP) ;
- Département de Diagnostic et de Recherche Biomédicale (DDRB) qui se compose de :
    - Service de biochimie clinique
    - Service de parasitologie
    - Service de sérologie
    - Service d'hématologie
    - Service de bactériologie-virologie

Le service de bactériologie-virologie est composé de plusieurs laboratoires et d'unité dont le laboratoire des IST/VIH. Ce dernier dispose de plateforme de PCR classique et de PCR en temps réel permettant le diagnostic moléculaire des agents pathogènes responsables d'IST dont les HSV.

II.1.2 Type et durée de l'étude

Il s'agissait d'une étude prospective à but descriptif qui s'est déroulé de Janvier 2018 à Août 2018.

II.1.3 Population d'étude :

La population d'étude est constituée avec les pvVIH ayant des ulcérations buccales ou génitales et suivies dans le service des maladies infectieuses et tropical du CHU du Point G et au CESAC de Bamako.

II.1.4 Taille de l'échantillon

Nous avons fait un échantillonnage exhaustif qui a porté sur 53 patients séropositifs au VIH ayant des ulcérations buccales ou génitales et suivis au service des maladies infectieuses du CHU du point G et au CESAC de Bamako.

- **CRITERES D'INCLUSION :**

Ont été inclus :

- Les PVVIH du service des maladies infectieuses et du CESAC ayant des ulcérations buccales et/ou génitales et acceptant de participer à l'étude.

- **CRITERES DE NON INCLUSION :**

N'ont pas été inclus :

- Les PVVIH ayant des ulcérations buccales ou génitales n'ayant pas voulu participer à l'étude ;

II.1.5 Méthode de prélèvement

Les prélèvements ont été effectués à l'aide d'écouvillon de type virocult. La technique a été un écouvillonnage appuyé réalisé au niveau des ulcérations afin d'aspirer des liquides et les cellules de ses ulcérations et sensés contenir les virus.

II.1.6 Transport et conservation des échantillons

Les échantillons collectés par écouvillonnage ont été acheminés dans des milieux de conservation de type sigma-virocult jusqu'à l'INRSP où ils ont été conservés dans le congélateur a -80°C avant leur manipulation pour la réaction de polymérase en chaine (PCR).

✓ **Extraction des acides nucléiques**

Les acides nucléiques (AN) ont été extraites selon les étapes suivantes :

- Extraction de l'ADN de HSV-1 et de HSV-2 avec comme différentes phases la lyse, le chargement de la colonne, le lavage et l'élution.
- Reconstitution des réactifs de HSV-1 et de HSV-2 avec comme différentes phase préparation de la solution stock de protéase, préparation du tampon AL (C), préparation du tampon AW1 (D) et préparation du tampon AW2 (E).

✓ **Amplifications**

Les amplifications de l'ADN des virus en temps réel ont été faites par le kit ARGEN HSV1-HSV2 et VZV et comporte les étapes suivantes

- Programme d'amplification
- Préparation de l'amplification,
- Lancement du programme HSV-1 et HSV-2
- Analyse des résultats et se terminera par la validation et l'interprétation des résultats

II.2 MATERIEL

II.2.1 Méthode d'enrôlement

C'est un mode de recrutement systématique de tous les PVVIH présentant une ulcération buccale ou génitale.

II.2.2 Matériel de diagnostic

Il s'agit de l'équipement utilisé pour les techniques de PCR (extraction, amplification et détection.

L'extraction a été faite à l'aide du kit QIAGEN DNA mini kit 250. L'amplification et la détection ont été faites simultanément à l'aide de l'instrument de PCR en temps réel, le stratagème Mxpro 3005P et le Lyght cycler 480 II.
Pour des mesures de sécurité, l'extraction a été faite sous un poste de sécurité microbiologique de classe II, dans une salle distincte de celle de mixte et d'amplification.

Figure 15 : Lyght Cycler 480 II

II.2.4 Analyse et saisie des données

Les données ont été saisies sur Epi Info version 7.2.1.0 et analysées sur IBM SPSS 20, Microsoft Word 2013a été utilisé pour l'élaboration du document.

II.3 Considérations éthiques

Le consentement éclairé (verbal ou écrit) des participants à l'étude a été demandé. Ils été informés des objectifs de l'étude. Les données ont été recueillies sur des fiches d'enquête anonyme. Au laboratoire les numéros anonymes ont été utilisés.

III. RESULTATS

Nous avons enrôlé 53 pvVIH répondant aux critères d'inclusions dont 30 (57%) au SMIT et 23 (43%) au CESAC

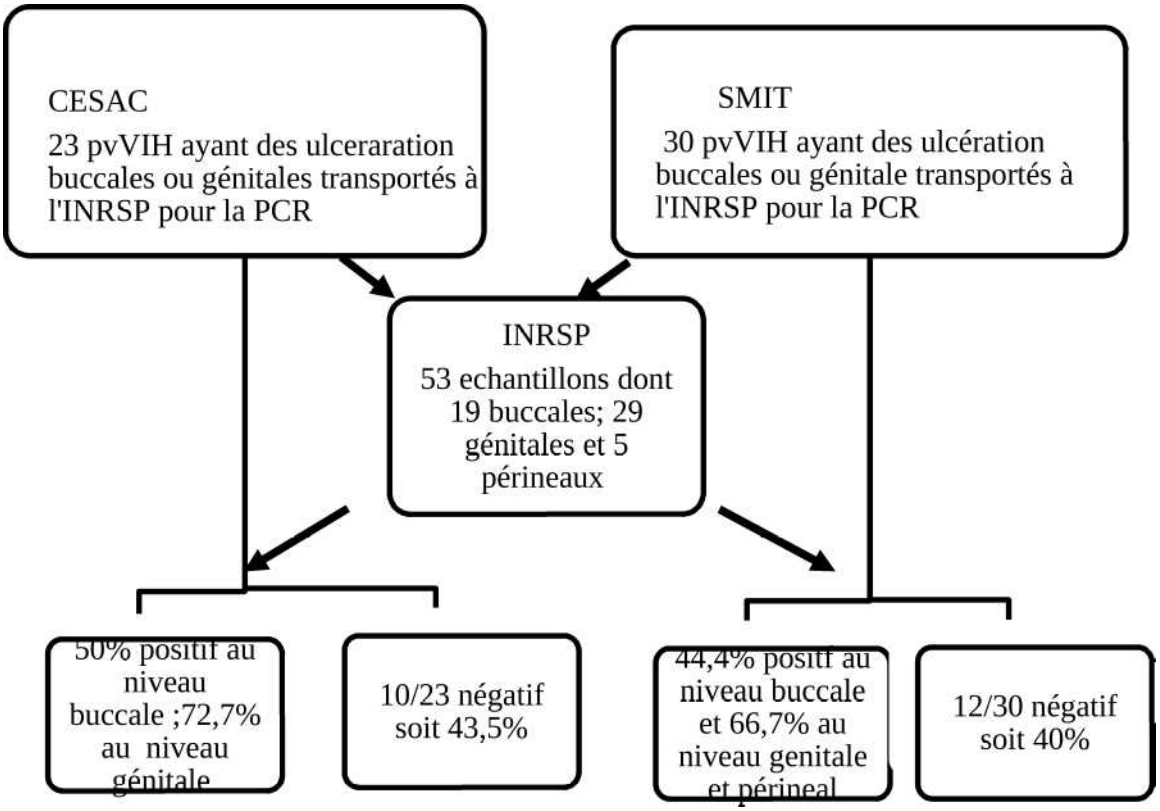

Figure 16 : Diagramme de Flux

III.1 Caractéristiques de la population

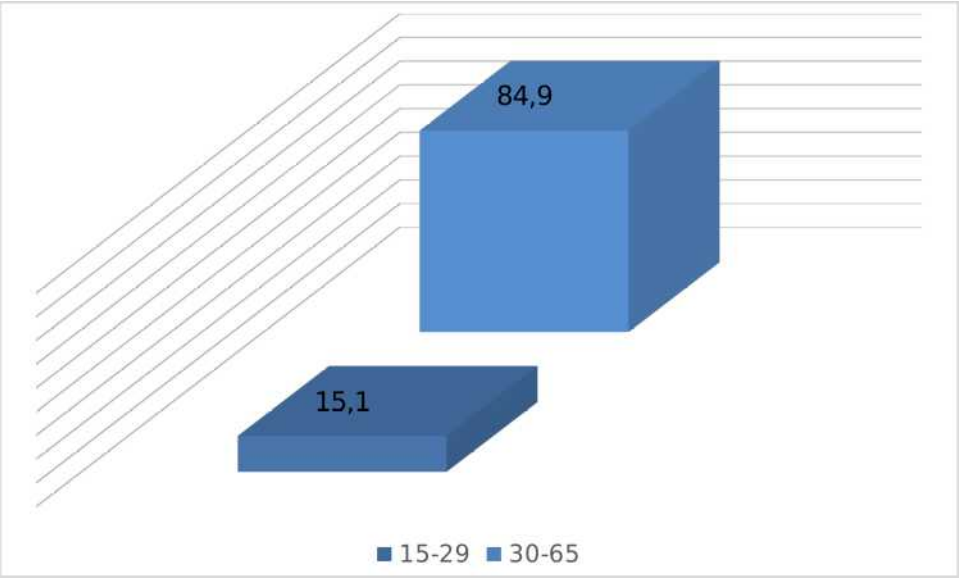

Figure 17 **:** Répartition selon la tranche d'âge

La tranche d'âge la plus touchée était compris entre 30 et 65 ans avec 84,9%.

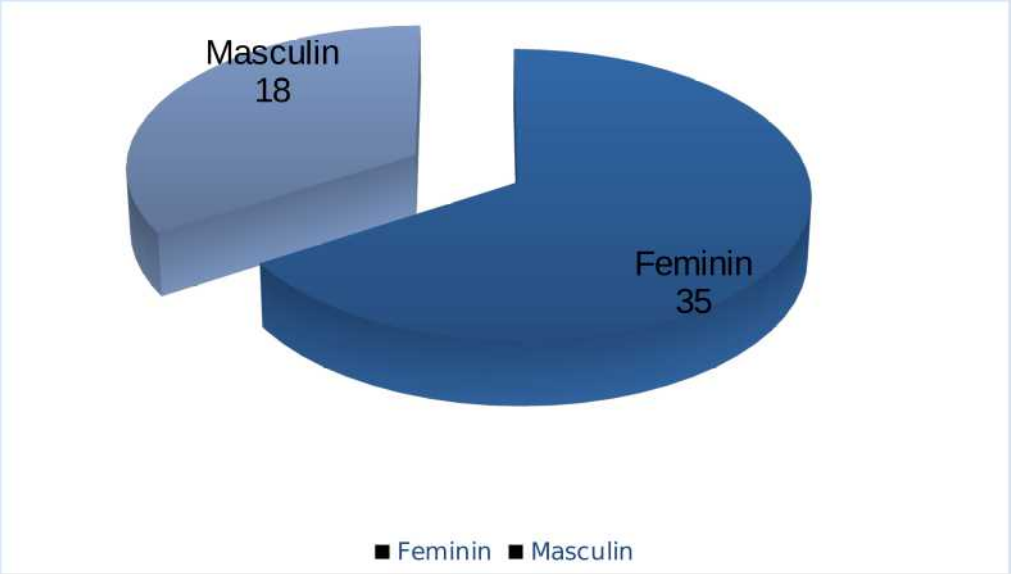

Figure 18 **:** Répartition selon le sexe

La majorité des patients étaient des femmes avec 35 cas.

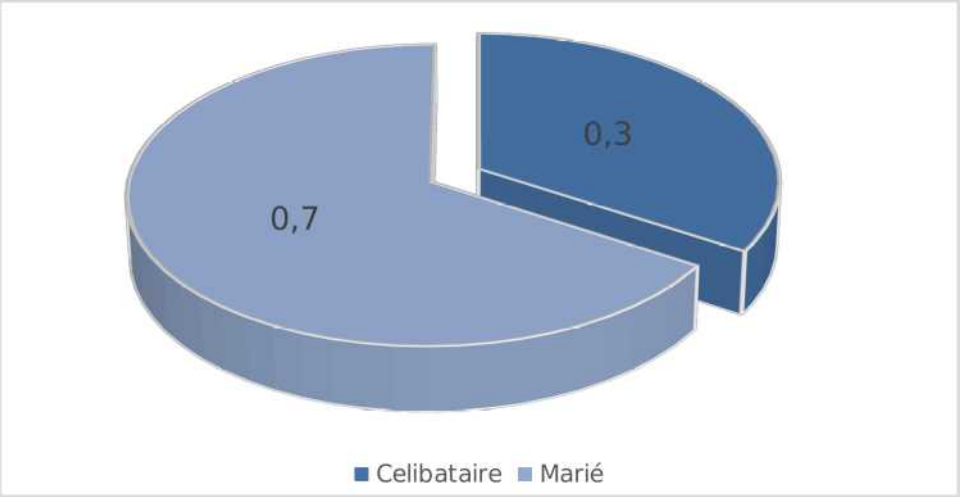

Figure 19 **:** Répartition selon le statut matrimonial

Les patients étaient majoritairement mariés avec 66%.

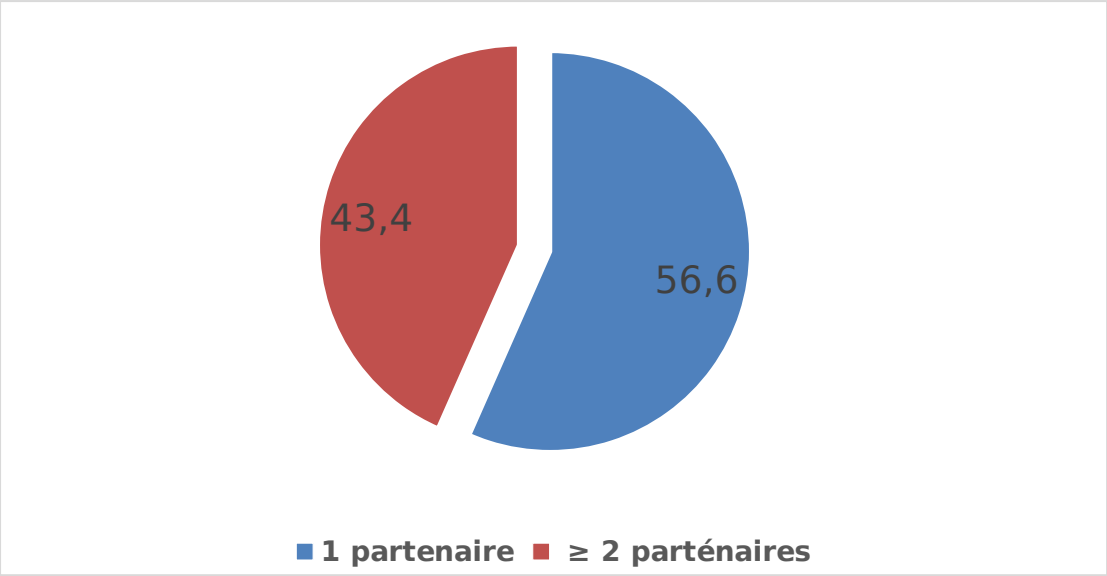

Figure 20 : Répartition selon le nombre de partenaires dans la vie sexuelle

57% de nos patients avaient au moins 2 partenaires dans la vie sexuelle.

Tableau V **:** Répartition selon la profession

PROFESSION	**Effectifs**	**Pourcentage**
Autre	4	7,5
Commerçant	14	26,4
Ménagère	19	35,8
Ouvrier	16	30,2
Total	53	100,0

Les ménagères et les ouvriers étaient les plus représentés avec 35,8% et 30,2%.

VI : Répartition selon le niveau d'instruction

Niveau d'instruction	**Effectifs**	**Pourcentage**
Analphabète	23	43,4
Ecole coranique	8	15,1
Fondamentale	18	33,3
Secondaire	2	3,8
Supérieur	3	5,7
Total	54	100,0

Les patients étaient majoritairement non instruits avec 43,4% cas.

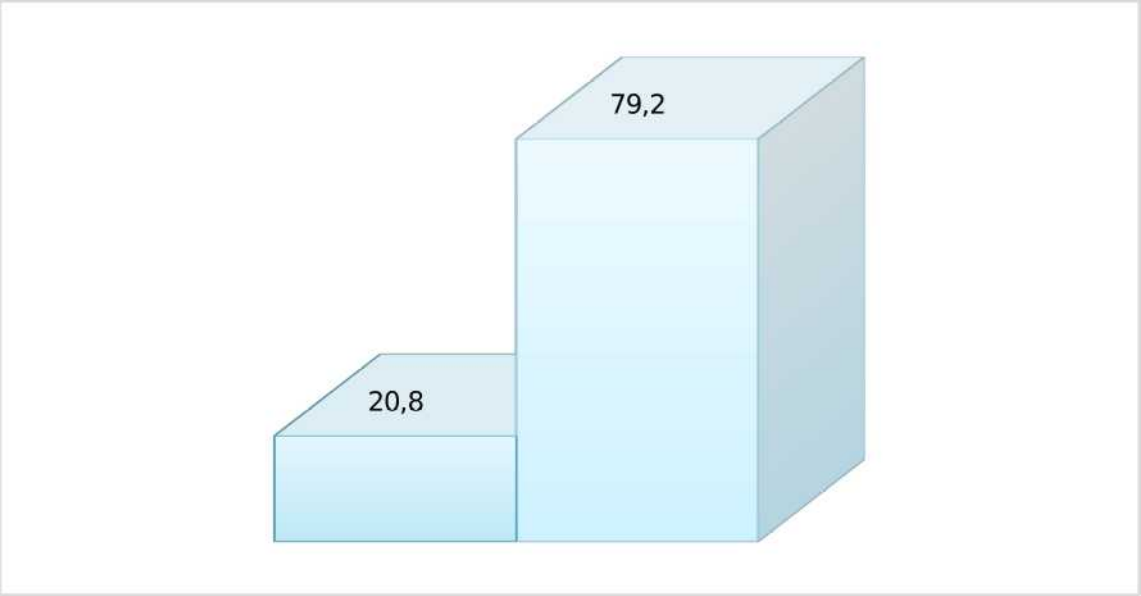

Figure 21 **:** Répartition selon les patients Sous traitement ARV
La plupart de nos patients étaient sous traitement ARV avec 79,2%.

III.2 Caractéristiques cliniques

Tableau VII**:** Répartition selon le motif de consultation

Motifs de consultation	**Effectifs**	**Pourcentage**
Dépistage du VIH	1	1,9
Renouvellement ARV	19	35,8
AEG	23	43,4
ulcération buccale	3	5,7
ulcération génitale	7	13,2

Parmi les motifs de consultation l'altération de l'Etat générale et le renouvellement d'ordonnance ARV étaient les plus rencontrés avec respectivement 43,4% et 35,8%.

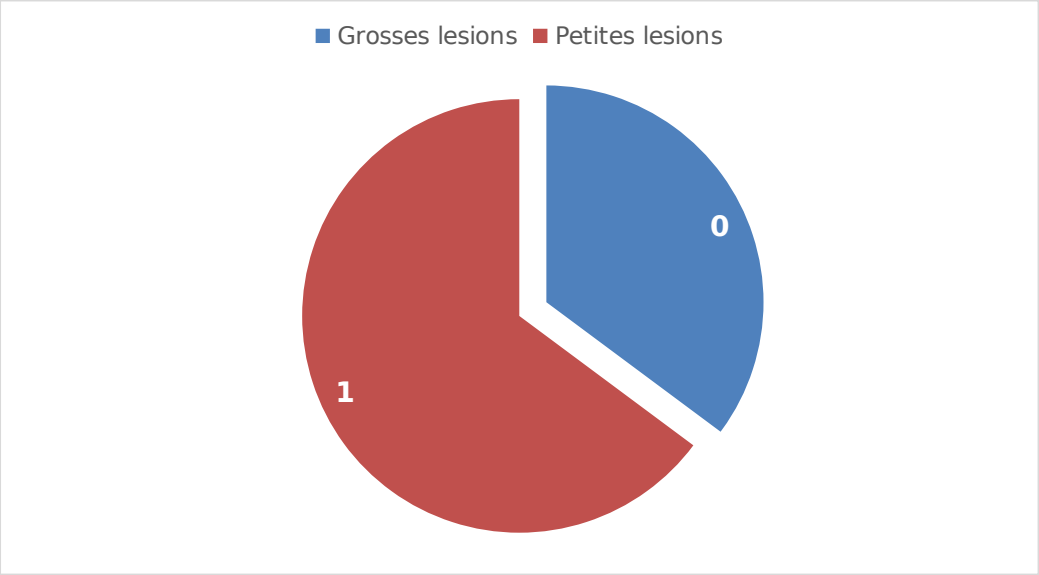

Figure 22 **:** Répartition selon les caractéristiques des lésions

65% des lésions chez nos patients étaient petites.

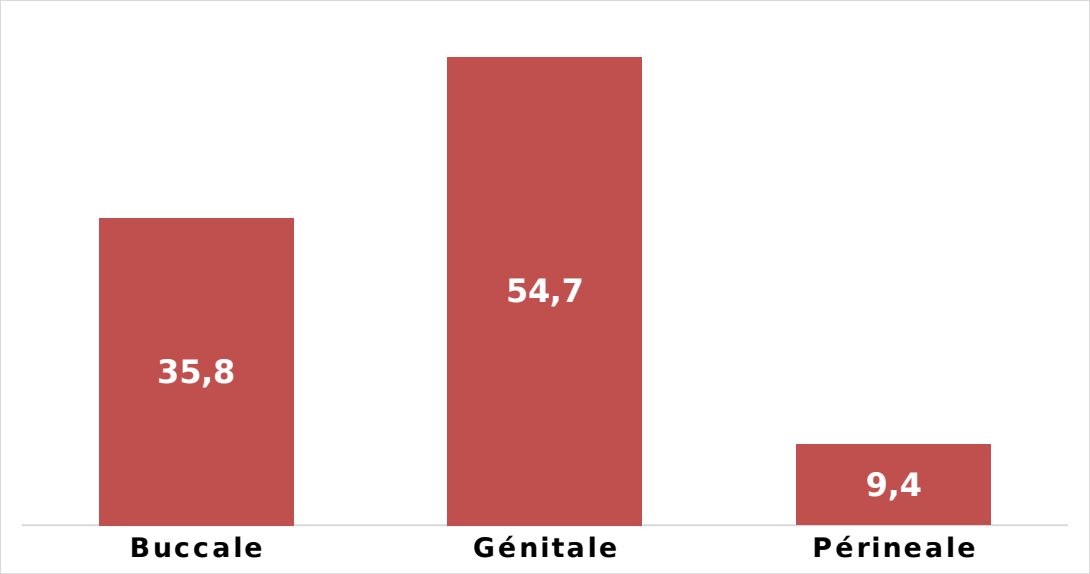

Figure 23 **:** Répartition selon la localisation de l'ulcération

L'ulcération au niveau génital était la plus dominante avec 54,7%.

III.3 Caractéristiques biologiques

Tableau VIII **:** Répartition selon les résultats de la PCR

Résultats	**Effectifs**	**Pourcentage**
Négatif	22	41,5
Positif	31	58,48

Dans notre étude le nombre de cas positif était le plus dominant avec 58,48%.

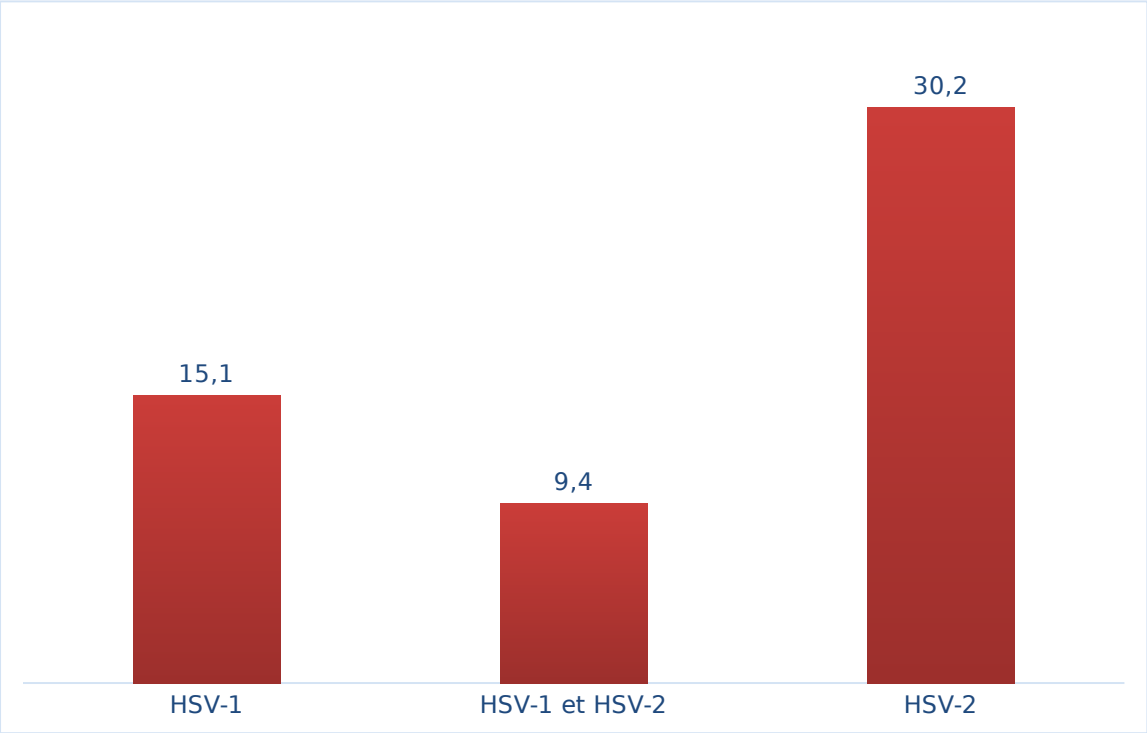

Figure 24 **:** Répartition selon le type de virus isolé

HSV-2 a été le virus le plus fréquent avec 30,2%.

III.4 Facteurs associés aux résultats PCR

Tableau IX : Relation entre la localisation d'ulcérations et le type de virus détecté

Types de Virus	HSV-1 N (%)	HSV-1 et HSV-2 N (%)	HSV-2 N (%)
Buccale	6 (31,6)	0	3 (15,8)
Génitale	1 (3,4)	5 (17,2)	14 (48,3)
Périnéale	1 (20,0)	0	1 (20,0

HSV-2 était le plus retrouver dans les ulcérations génitales avec 14 cas.

Tableau X : Relation entre le statut matrimonial et le résultat PCR

STATUT	Positif N (%)	Négatif N (%)
Marié	**19 (54,3)**	**16 (45,7)**
Célibataire	**12 (66,7)**	**6 (33,3)**

Khi-deux = 0,750 p (Fischer)=1

Les mariés étaient les plus représenté dans notre étude avec 66% mais ce sont les célibataires étaient les plus touchés avec 66,7% mais la différence n'était pas significative.

Tableau XI: Relation entre la tranche d'âge et le résultat de ka PCR

TRANCHE	Négatif N(%)	Positif N(%)
15-29	4 (50)	4 (50)
30-65	**18 (40)**	**27 (60)**

Khi-deux = 0,280 p (Khi-deux)= 0,597

Parmi la tranche d'âge 30-65, 60% était positif à l'infection à HSV.

Tableau XII **:** Relation entre la tranche d'âge et les virus détectés

Tranche d'âge	**Négatif N (%)**	**HSV-1 N (%)**	**HSV-1 et HSV-2 N (%)**	**HSV-2 N (%)**
15-29	**4 (50**	**0 (0)**	**1 (12,5)**	**3 (37,5)**
30-65	18 (40)	8 (17,8)	4 (8,9)	15 (33,3)

Khi-deux = 1,714 p (Khi-deux)=0,705

Dans notre étude la tranche d'âge 30-65 était la plus représenté mais la moins infecté avec HSV2 33,3% par contre la tranche d'âge 15-29 qui est la moins représenté est la plus touchée avec 37,5% mais la différence n'est pas significative

Tableau XIII **:** Relation entre le nombre de partenaire et le résultat PCR

Nombre de partenaire	**Négatif N(%)**	**Positif N(%)**
1 partenaire	14 (46,7)	16 (53,3)
≥ 2 partenaires	8 (34,8)	15 (65,2)
Total	22 (41,5)	31 (58,5)

Khi-deux = 0,757 p (Fischer)=0,415

Les patients ayant au moins 2 partenaires étaient le plus touché par l'infection à HSV avec 65,2%, ceux qui possédaient 1 partenaire avaient 53,3% mais la différence n'est pas significative dans notre étude.

Tableau XIV **:** Relation entre le sexe et le type de virus détecté

SEXE	**HSV-1 N(%)**	**HSV-1 et HSV-2 N(%)**	**HSV-2 N(%)**
Féminin	**4 (11,4)**	**3 (8,6)**	**13 (37,1)**
Masculin	4 (22,22)	2 (11,1)	5 (27,8)
Total	8 (15,1)	5 (9,)	18 (34)

Khi-deux = 0,757 p(Khi-deux)=0,384

Les femmes étaient les plus touchés par HSV2 avec 37,1%.

Tableau XV : Relation selon le nombre de partenaire et le type de virus détecté

Nombre de partenaire	**HSV-1 N(%)**	**HSV-1 et HSV-2 N(%)**	**HSV-2 N(%)**
1 partenaire	4 (13,3)	3 (10)	9 (30)
≥ 2 partenaires	4 (17,4)	2 (8,7)	9 (39,1)

Khi-deux = 0,757 p=0,384

HSV-2 était le plus détecté chez les patients ayant plusieurs partenaires avec 39,1%.

IV. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

IV.1 Difficultés rencontrées

L'indisponibilité temporaire ou permanente de certains examens complémentaires : Taux de CD4.

Le refus de certains patients de participer à l'étude.

La difficulté de certains patients à répondre à certaines questions posées en relation avec leur intimité.

Le problème de réactif pour la PCR en temps réel.

IV.2 Caractéristiques de la population

- **Sexe**

Le sexe féminin était le plus touché avec 66,66%.

Njimbam et al ,2016 avait eu 66% au Cameroun chez 100 pvVIH.

La grande surface de contact génital et les infections génitales récurrentes rendent les femmes vulnérables à cette infection par rapport à l'homme.

. Le sexe ratio était de 0,51.

- **Age**

La moyenne d'âge était 39 ans avec 15 et 62 ans comme extrémités.

La tranche d'âge 30-65 ans était la plus représenté avec 84,6% dans notre étude et ils avaient 60% de positif à l'infection HSV.

Njimbam et al; en 2006 au Cameroun avait trouvé une prédominance de la tranche d'âge 20-40 ans avec 56,81%.Ceci prouve que les infections sexuellement transmissible touche plutôt la population sexuellement active.

- **Statut matrimonial**

Les ménagères représentaient 35,8% de notre population d'étude.

Dans notre étude les mariés étaient les plus représentés avec 66% mais par rapport à l'infection ce sont les célibataires qui sont les plus touchés avec 66,7%.

Ce résultat est nettement supérieur à celui de Njimbam et al; en 2006 au Cameroun qui avait trouvé 24% de positif chez les célibataires. Ceci pourrait s'expliquer par une multitude de partenaires qui serait donc à l'origine de l'incidence élevé de l'infection au HSV.

IV.3 Caractéristiques biologiques

La prévalence de HSV dans notre étude était de 61,1%

60,7% South Africa par kularatne RS et al, en 2018 qui avait 771 patients.

La prévalence de HSV-1 dans notre étude était de 15,1%.

15,7% au Mali [rapport de l'INRSP, 2015] avec le même nombre d'échantillon que notre étude. Cela montre la disparition de l'infection à HSV-1 durant l'enfance.

La prévalence de HSV-2 génital était de 48,3%.

Ramaswamy M et al, avait trouvé 57% à Londres en 2004.

IV.4 facteurs associés au résultat PCR

La prévalence de HSV-2 chez les hommes dans notre étude était de 27,8%

16% trouvé en Pérou en 2008 par Clark J L. al ; sur 1825 hommes.

Ce faible taux chez les hommes pourrait s'expliquer par la transmission difficile de l'infection de la femme à l'homme.

La prévalence des HSV-2 chez la femme était 37,7%

Nakubulwa S. al ; avait trouvé 86% chez des femmes pvVIH en 2009 à Kampala.

Ceci pourrait s'expliquer par la grande surface de contact génital des femmes qui les rend vulnérables aux infections génitales surtout HSV par rapport à l'homme.

La prévalence de HSV-1 au niveau génital était de 3,4%.

Biškup U G. al ; avait trouvé 19% en Slovénie en 2015. Ceci montre que moins de personnes dans les pays à revenu élevé contractent l'infection à HSV-1 pendant l'enfance, sans doute grâce à de meilleures conditions de vie et d'hygiène, mais elles risquent l'infection génitale lors des rapports bucco-génitaux lorsqu'elles deviennent sexuellement actives.

Nous avons eu 41,2% d'échantillons négatifs aux HSV. Bien que l'ulcération génitale apparaisse souvent en relation avec les infections sexuellement transmissibles (IST) comme la Syphilis primaire et le Chancre mou, elle peut en fait résulter d'un grand nombre de maladies: autres pathologies infectieuses, dermatose inflammatoire, maladies multisystémiques, néoplasies et causes exogènes **(116)**.

Les trois maladies sexuellement transmissibles qui présentent le plus fréquemment des ulcères génitaux sont l'herpès génital, la syphilis primaire et le chancre mou. Leur répartition géographique n'est pas la même: dans les pays occidentaux industrialisés, l'herpès génital domine, suivi de la syphilis; en Asie du Sud-Est et en Afrique, le chancre mou est la cause la plus fréquente de l'ulcération génitale. Chez 3 à 10% des patients atteints d'ulcération génitale infectieuse, plus d'un agent infectieux est en jeu **(117).**

- **Syphilis**

Après l'infection par le tréponème pâle *(Treponema pallidum)*, la syphilis primaire se présente habituellement sous la forme d'un ulcère génital solitaire, indolore, à limites nettes, induré, associé à une lymphadénopathie inguinale également indolore. Après une moyenne de trois semaines d'incubation (de 9 à 90 jours), une tache rouge sombre ou une papule apparaît sur le point d'inoculation et évolue rapidement vers l'érosion. Le diamètre et la profondeur de la lésion augmentent progressivement pendant une à deux semaines jusqu'à atteindre une grandeur située entre 0,5 et 1,5 cm. Le diagnostic de la syphilis n'est souvent posé qu'au stade secondaire; deux raisons à cela: d'une part, la syphilis primaire peut être atypique dans sa

localisation (buccale, anale, cervicale, entre autres) ou, plus rarement, dans sa morphologie (ulcères multiples, mous ou absents). D'autre part, l'agent pathogène est difficile à détecter La séroréaction n'est en général mesurable qu'après la troisième semaine et l'agent pathogène n'est pas cultivable. Par conséquent, en cas de sérologie négative, le diagnostic pendant la phase précoce repose sur la détection directe de l'agent par microscopie à fond noir ou par PCR, cette dernière n'étant toutefois pas encore disponible en routine **(118)**.

- **Chancre mou**

Le chancre mou (en anglais: *chancroid*) se rencontre avant tout dans les pays en développement et tout particulièrement en Afrique, dans les Caraïbes et en Asie, où on le diagnostic chez plus de 50% des patients affectés d'ulcères génitaux. En Europe, des épidémies limitées ont été observées dans certaines grandes agglomérations ou dans des villes portuaires. L'agent pathogène du chancre mou est la bactérie *Haemophilus ducreyi,* à Gram négatif et facultativement anaérobie. Après un temps d'incubation de 3 à 7 jours, une papule inflammatoire et hyperalgique apparaît au niveau anogénital puis évolue vers une ulcération après quelques jours. Elle est fréquemment localisée sur le prépuce, le frein du prépuce ou le gland chez l'homme et sur la vulve, la petite lèvre ou le vestibule chez la femme. L'ulcère est habituellement térébrant, avec une exsudation purulente, et il saigne rapidement à la palpation. Parfois, le chancre est solitaire, mais en règle générale il y en a deux ou plus. Ils se multiplient par auto-inoculation et se trouvent souvent face à face («kissing ulcers»). Leur morphologie permet de distinguer différents types cliniques: chancre géant *(giant chancroid)*, ou encore serpigineux, phagédénique, transitoire, folliculaire, papuleux. Après environ une semaine, on observe fréquemment une lymphadénite régionale douloureuse (bubon), dont la fonte purulente est possible après 10 à 20 jours. Il s'agit d'une maladie autolimitée sans développement systémique. En absence de traitement, les ulcères génitaux et les abcès inguinaux peuvent cependant persister pendant des années. L'examen direct à la coloration de Gram laisse parfois envisager un diagnostic, mais la sensibilité de la détection de bâtonnets à Gram négatif regroupés en «banc de poisson» est faible. La détection par PCR fait de différencier les sérovars L1 à L3), ni les méthodes de culture (peu sensibles) ne sont disponibles en routine. La détection sérologique des anticorps par réaction de fixation du complément peut aider à compléter le diagnostic clinique. Au vu de la difficulté de la détection de l'agent pathogène, il est important de démarrer un traitement dès les premiers soupçons cliniques correspondants **(119).**

- **Granulome inguinal (donovanose)**

Le granulome inguinal est une IST chronique à progression lente, très rare en Europe et en Amérique du Nord mais endémique dans différentes régions tropicales ou subtropicales et en Australie centrale, ainsi que dans les pays en développement comme l'Inde, la Papouasie-Nouvelle-Guinée et l'Afrique du Sud. La maladie peut provoquer une destruction mutilante extensive des organes génitaux, et dans de rares cas une dispersion hématogène dans les os, le foie, la rate ou les poumons. L'agent pathogène est la bactérie à Gram négatif *Calymmatobacterium granulomatis.* L'incubation dure deux semaines en moyenne. La lésion primaire est une papule indurée ou un nodule, localisé chez l'homme sur le prépuce, le gland ou le pourtour de l'anus, et chez la femme sur la vulve, les lèvres, le vagin, le périnée ou le col utérin. Cette lésion primaire passe souvent inaperçue et évolue vers une ulcération indolore qui saigne légèrement. On rencontre parfois des plaques verruqueuses ou hypertrophiées, ainsi que des foyers sclérosés d'apparence cicatricielle, mais la Lymphadénite est le plus souvent absente. D'autres ulcérations parfois extragénitales peuvent résulter de l'auto-inoculation. De façon générale, les ulcères ne guérissent que lentement en formant des tissus fibreux et des cicatrices, cet effet étant encore accentué par surinfection. L'obstruction

des voies lymphatiques est une complication pouvant conduire au lymphœdème de la jambe. Le diagnostic est confirmé par la présence des corps de Donovan intra cytoplasmiques, sur un frottis coloré au Giemsa ou dans une biopsie. La détection de *Calymmatobacterium granulomatis* par une méthode de culture est extrêmement difficile (120, 121).

V. CONCLUSION

Notre étude nous a montré que la prévalence de l'infection à HSV est élevée chez les pvVIH, surtout la population sexuellement active. L'infection à HSV reste un problème de santé

publique préoccupant, particulièrement l'herpès génital, du fait de sa contribution sans nul doute à l'augmentation du risque de transmission du VIH et des autres IST. Les pvVIH atteinte d'herpès génitale doivent bénéficier d'une plus grande attention. Ces derniers devraient bénéficier d'une information et d'une éducation appropriée sur l'infection HSV-2 dans le cadre de leur prise en charge, associée si possible à la réalisation d'un test HSV-2. Surtout, les indications de traitement antiherpétique doivent être assouplis pour le confort du patient et la protection de son ou de ses partenaires. De plus, ne passons pas à côté de l'immense opportunité d'informer, de conseiller et de dépister pour le VIH tous les patients consultant pour un ulcère génital, afin de leur proposer une prise en charge adaptée.

VI. RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude nous formulons les recommandations suivantes:

- Aux autorités sanitaires :

- La mise en place :
  - ✓ des moyens financiers afin de favoriser l'accessibilité au diagnostic moléculaire;

- ✓ d'un système d'approvisionnement de matériels biologique ;
- ✓ Formation continue du personnel soignant ;
- ✓ Rendre disponible les intrants de CD4 ;
- Sensibilisation de la population ;
  - Aux cliniciens

La réalisation d'analyses moléculaire devant toute ulcération avant tout traitement

  - A la direction de l'INRSP :

Le renforcement du plateau technique de la biologie moléculaire, afin d'apporter de nouvelles solutions face à un virus qui se développer et qui tend à résister

L'établissement de meilleurs rapports avec les structures sanitaires, pour faciliter leur implication aux travaux de recherche menés avec leur collaboration.

  - Aux patients

- Dès l'apparition des symptômes se faire consulter
- En cas de lésion génitale porter le préservatif pendant les rapports sexuels
- Etre observant aux traitements

VII. REFERENCES

1. E. PILLY. Maladies Infectieuses et Tropicales. 25 e édition Alineas Plus - 17, 20 rue des Grands Augustins – 75006 Paris. 2016 ; 972 Pages.
2. Mbopi-Kéou F-X, Grésenguet G, Mayaud P, Weiss HA, Gopal R, Matta M, et al. Interactions between herpes simplex virus type 2 and human

immunodeficiency virus type 1 infection in African women: opportunities for intervention. The Journal of infectious diseases. 2000;182(4):1090-6.
3. Sarlangue J. Herpès et varicelle néonatals. Journal de pediatrie et de puericulture. 2000;5(13):290-5.
4. Berthier M, Nasimi A, Boussemart T, Cardona J, Oriot D. Manifestations neurologiques chez un enfant de mère atteinte d'herpès gestationis. Archives de pédiatrie. 1996;3(5):460-2.
5. Le Faou A. Précis de virologie humaine: Doin; 2012.
6. Hart T, Shears P. Atlas de Poche de Microbiologie, Flammarion Medecine-Sciences, 1997: Atlas de Poche de Microbiologie: Bukupedia; 1997.
7. Schaechter M. Encyclopedia of microbiology: Academic Press; 2009.
8. Moore PS, Gao S-J, Dominguez G, Cesarman E, Lungu O, Knowles DM, et al. Primary characterization of a herpesvirus agent associated with Kaposi's sarcomae. Journal of virology. 1996;70(1):549-58.
9. Roizman B, Knipe D, Whitley R. Fields virology. Herpesviridae: A Brief Introduction. 2001;2:2381-98.
10. Taylor TJ, Brockman MA, McNamee EE, Knipe DM. Herpes simplex virus. Front Biosci. 2002;7:d752-d64.
11. Whitley RJ, Roizman B. Herpes simplex virus infections. The lancet. 2001;357(9267):1513-8.
12. Herold BC, WuDUNN D, Soltys N, Spear PG. Glycoprotein C of herpes simplex virus type 1 plays a principal role in the adsorption of virus to cells and in infectivity. Journal of virology. 1991;65(3):1090-8.
13. Shieh M-T, WuDunn D, Montgomery RI, Esko JD, Spear PG. Cell surface receptors for herpes simplex virus are heparan sulfate proteoglycans. The Journal of cell biology. 1992;116(5):1273-81.
14. WuDUNN D, Spear PG. Initial interaction of herpes simplex virus with cells is binding to heparan sulfate. Journal of virology. 1989;63(1):52-8.
15. Spear PG, Eisenberg RJ, Cohen GH. Three classes of cell surface receptors for alphaherpesvirus entry. Virology. 2000;275(1):1-8.
16. Shukla D, Liu J, Blaiklock P, Shworak NW, Bai X, Esko JD, et al. A novel role for 3-O-sulfated heparan sulfate in herpes simplex virus 1 entry. Cell. 1999;99(1):13-22.
17. Ligas MW, Johnson DC. A herpes simplex virus mutant in which glycoprotein D sequences are replaced by beta-galactosidase sequences binds to but is unable to penetrate into cells. Journal of virology. 1988;62(5):1486-94.
18. Sarmiento M, Haffey M, Spear P. Membrane proteins specified by herpes simplex viruses. III. Role of glycoprotein VP7 (B2) in virion infectivity. Journal of virology. 1979;29(3):1149-58.
19. Forrester A, Farrell H, Wilkinson G, Kaye J, Davis-Poynter N, Minson T. Construction and properties of a mutant of herpes simplex virus type 1 with glycoprotein H coding sequences deleted. Journal of virology. 1992;66(1):341-8.
20. O'Donnell CD, Kovacs M, Akhtar J, Valyi-Nagy T, Shukla D. Expanding the role of 3-O sulfated heparan sulfate in herpes simplex virus type-1 entry. Virology. 2010;397(2):389-98.
21. Honess RW, Roizman B. Regulation of herpesvirus macromolecular synthesis I. Cascade regulation of the synthesis of three groups of viral proteins. Journal of virology. 1974;14(1):8-19.
22. Alwine JC, Steinhart WL, Hill C. Transcription of herpes simplex type 1 DNA in nuclei isolated from infected HEp-2 and KB cells. Virology. 1974;60(1):302-7.
23. Costanzo F, Campadelli-Fiume G, Foa-Tomasi L, Cassai E. Evidence that herpes simplex virus DNA is transcribed by cellular RNA polymerase B. Journal of virology. 1977;21(3):996-1001.

24. Batterson W, Roizman B. Characterization of the herpes simplex virion-associated factor responsible for the induction of alpha genes. Journal of virology. 1983;46(2):371-7.
25. Preston CM. Repression of viral transcription during herpes simplex virus latency. Journal of General Virology. 2000;81(1):1-19.
26. Dixon R, Schaffer PA. Fine-structure mapping and functional analysis of temperature-sensitive mutants in the gene encoding the herpes simplex virus type 1 immediate early protein VP175. Journal of virology. 1980;36(1):189-203.
27. Watson RJ, Clements JB. A herpes simplex virus type 1 function continuously required for early and late virus RNA synthesis. Nature. 1980;285(5763):329.
28. Faber SW, Wilcox KW. Association of the herpes simplex virus regulatory protein ICP4 with specific nucleotide sequences in DNA. Nucleic acids research. 1986;14(15):6067-83.
29. Kristie TM, Roizman B. Separation of sequences defining basal expression from those conferring alpha gene recognition within the regulatory domains of herpes simplex virus 1 alpha genes. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1984;81(13):4065-9.
30. Jean S, LeVan KM, Song B, Levine M, Knipe DM. Herpes simplex virus 1 ICP27 is required for transcription of two viral late (γ2) genes in infected cells. Virology. 2001;283(2):273-84.
31. Hardy WR, Sandri-Goldin R. Herpes simplex virus inhibits host cell splicing, and regulatory protein ICP27 is required for this effect. Journal of virology. 1994;68(12):7790-9.
32. Carter KL, Roizman B. Alternatively spliced mRNAs predicted to yield frame-shift proteins and stable intron 1 RNAs of the herpes simplex virus 1 regulatory gene alpha 0 accumulate in the cytoplasm of infected cells. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1996;93(22):12535-40.
33. Long MC, Leong V, Schaffer PA, Spencer CA, Rice SA. ICP22 and the UL13 protein kinase are both required for herpes simplex virus-induced modification of the large subunit of RNA polymerase II. Journal of virology. 1999;73(7):5593-604.
34. Ladin B, Blankenship M, Ben-Porat T. Replication of herpesvirus DNA. V. Maturation of concatemeric DNA of pseudorabies virus to genome length is related to capsid formation. Journal of virology. 1980;33(3):1151-64.
35. Ladin BF, Ihara S, Hampl H, Ben-Porat T. Pathway of assembly of herpesvirus capsids: an analysis using DNA+ temperature-sensitive mutants of pseudorabies virus. Virology. 1982;116(2):544-61.
36. Deiss LP, Chou J, Frenkel N. Functional domains within the a sequence involved in the cleavage-packaging of herpes simplex virus DNA. Journal of virology. 1986;59(3):605-18.
37. Varmuza SL, Smiley JR. Signals for site-specific cleavage of HSV DNA: maturation involves two separate cleavage events at sites distal to the recognition sequences. Cell. 1985;41(3):793-802.
38. Enquist L, Husak PJ, Banfield BW, Smith GA. Infection and spread of alphaherpesviruses in the nervous system. Advances in virus research: Elsevier; 1998. p. 237-347.
39. Skepper J, Whiteley A, Browne H, Minson A. Herpes simplex virus nucleocapsids mature to progeny virions by an envelopment→ deenvelopment→ reenvelopment pathway. Journal of virology. 2001;75(12):5697-702.
40. Scott LL, Sanchez PJ, Jackson GL, Zeray F, Wendel Jr GD. Acyclovir suppression to prevent cesarean delivery after first-episode genital herpes. Obstetrics & Gynecology. 1996;87(1):69-73.

41. Lafferty WE. The changing epidemiology of HSV-1 and HSV-2 and implications for serological testing. Herpes: the journal of the IHMF. 2002;9(2):51-5.
42. Lafferty WE, Coombs RW, Benedetti J, Critchlow C, Corey L. Recurrences after oral and genital herpes simplex virus infection. New England Journal of Medicine. 1987;316(23):1444-9.
43. Bryson Y, Dillon M, Bernstein DI, Radolf J, Zakowski P, Garratty E. Risk of acquisition of genital herpes simplex virus type 2 in sex partners of persons with genital herpes: a prospective couple study. Journal of Infectious Diseases. 1993;167(4):942-6.
44. Mertz GJ, Benedetti J, Ashley R, Selke SA, Corey L. Risk factors for the sexual transmission of genital herpes. Annals of internal medicine. 1992;116(3):197-202.
45. Wald A, Langenberg AG, Link K, Izu AE, Ashley R, Warren T, et al. Effect of condoms on reducing the transmission of herpes simplex virus type 2 from men to women. Jama. 2001;285(24):3100-6.
46. Whitley RJ, Kimberlin DW, Roizman B. Herpes simplex viruses. Clinical Infectious Diseases. 1998:541-53.
47. Stanberry LR, Cunningham AL, Mindel A, Scott LL, Spruance SL, Aoki FY, et al. Prospects for control of herpes simplex virus disease through immunization. Clinical Infectious Diseases. 2000;30(3):549-66.
48. Aractingi S, Aubin F, Avril M-F, Bachelez H, Bagot M, Barbaud A, et al., editors. Herpes virus infections in children and immunocompetent adults: cutaneous and mucosal herpes. ANNALES DE DERMATOLOGIE ET DE VENEREOLOGIE; 2012: MASSON EDITEUR 21 STREET CAMILLE DESMOULINS, ISSY, 92789 MOULINEAUX CEDEX 9, FRANCE.
49. Ashley R, Cent A, Maggs V, Nahmias A, Corey L. Inability of enzyme immunoassays to discriminate between infections with herpes simplex virus types 1 and 2. Annals of internal medicine. 1991;115(7):520-6.
50. Milpied B, Janier M, Timsit J, Spenatto N, Caumes E, Chosidow O, editors. Herpes génital. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie; 2016: Elsevier Masson.
51. Fleming DT, Leone P, Esposito D, Heitman CK, Justus S, Chin S, et al. Herpes virus type 2 infection and genital symptoms in primary care patients. Sexually transmitted diseases. 2006;33(7):416-21.
52. Weiss H. Epidemiology of herpes simplex virus type 2 infection in the developing world. Herpes: the journal of the IHMF. 2004;11:24A-35A.
53. Smith JS, Robinson NJ. Age-specific prevalence of infection with herpes simplex virus types 2 and 1: a global review. The Journal of infectious diseases. 2002;186(Supplement_1):S3-S28.
54. Shaw M, van der Sande M, West B, Paine K, Ceesay S, Bailey R, et al. Prevalence of herpes simplex type 2 and syphilis serology among young adults in a rural Gambian community. Sexually transmitted infections. 2001;77(5):358-65.
55. Xu F, Schillinger JA, Sternberg MR, Johnson RE, Lee FK, Nahmias AJ, et al. Seroprevalence and coinfection with herpes simplex virus type 1 and type 2 in the United States, 1988–1994. The Journal of infectious diseases. 2002;185(8):1019-24.
56. Laurent R. Herpès. EMC-Médecine. 2005;2(3):265-75.
57. Huff JC, Krueger GG, Overall JC, Copeland J, Spruance SL. The histopathologic evolution of recurrent herpes simplex labialis. Journal of the American Academy of Dermatology. 1981;5(5):550-7.
58. Spruance SL, Overall Jr JC, Kern ER, Krueger GG, Pliam V, Miller W. The natural history of recurrent herpes simplex labialis: implications for antiviral therapy. New England Journal of Medicine. 1977;297(2):69-75.

59. Esmann J. The many challenges of facial herpes simplex virus infection. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001;47(suppl_1):17-27.
60. Laiskonis A, Thune T, Neldam S, Hiltunen-Back E. Valacyclovir in the treatment of facial herpes simplex virus infection. The Journal of infectious diseases. 2002;186(Supplement_1):S66-S70.
61. Bader C, Crumpacker CS, Schnipper LE, Ransil B, Clark JE, Arndt K, et al. The natural history of recurrent facial-oral infection with herpes simplex virus. Journal of Infectious Diseases. 1978;138(6):897-965.
62. Embil J, Stephens R, Manuel F. Prevalence of recurrent herpes labialis and aphthous ulcers among young adults on six continents. Canadian Medical Association Journal. 1975;113(7):627.
63. Corey L, Adams HG, Brown ZA, Holmes KK. Genital herpes simplex virus infections: clinical manifestations, course, and complications. Annals of internal medicine. 1983;98(6):958-72.
64. Cusini M, Ghislanzoni M. The importance of diagnosing genital herpes. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 2001;47(suppl_1):9-16.
65. Langenberg AG, Corey L, Ashley RL, Leong WP, Straus SE. A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. New England Journal of Medicine. 1999;341(19):1432-8.
66. Sucato G, Wald A, Wakabayashi E, Vieira J, Corey L. Evidence of latency and reactivation of both herpes simplex virus (HSV)-1 and HSV-2 in the genital region. Journal of Infectious Diseases. 1998;177(4):1069-72.
67. Benedetti J, Corey L, Ashley R. Recurrence rates in genital herpes after symptomatic first-episode infection. Annals of internal medicine. 1994;121(11):847-54.
68. Milpied B, Janier M, Derancourt C, Verret J-L, Caumes E, Bouscarat F, editors. Herpès génital. Annales de dermatologie et de vénéréologie; 2006: Elsevier.
69. Thouvenot D, Najioullah F. Herpes virus simplex de types 1 et 2 (HSV-1 et HSV-2): Herpesvirus humains. La Revue du praticien. 1999;49(20):2203-7.
70. Jacobs RF, editor. Neonatal herpes simplex virus infections. Seminars in perinatology; 1998: Elsevier.
71. Whitley RJ, Soong S-J, Hirsch MS, Karchmer AW, Dolin R, Galasso G, et al. Herpes simplex encephalitis: vidarabine therapy and diagnostic problems. New England Journal of Medicine. 1981;304(6):313-8.
72. Mercey D, Mindel A. Screening pregnant women for genital herpes. Biomedicine & Pharmacotherapy. 1990;44(5):257-62.
73. Siegal FP, Lopez C, Hammer GS, Brown AE, Kornfeld SJ, Gold J, et al. Severe acquired immunodeficiency in male homosexuals, manifested by chronic perianal ulcerative herpes simplex lesions. New England Journal of Medicine. 1981;305(24):1439-44.
74. Martin JC, Bandres JC. Cells of the monocyte-macrophage lineage and pathogenesis of HIV-1 infection. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 1999;22(5):413-29.
75. Paludan SR, Mogensen SC. Virus-cell interactions regulating induction of tumor necrosis factor alpha production in macrophages infected with herpes simplex virus. Journal of virology. 2001;75(21):10170-8.
76. Kodukula P, Liu T, Van Rooijen N, Jager MJ, Hendricks RL. Macrophage control of herpes simplex virus type 1 replication in the peripheral nervous system. The Journal of Immunology. 1999;162(5):2895-905.
77. Schacker T, Ryncarz AJ, Goddard J, Diem K, Shaughnessy M, Corey L. Frequent recovery of HIV-1 from genital herpes simplex virus lesions in HIV-1–infected men. Jama. 1998;280(1):61-6.

78. Plummer FA, Simonsen JN, Cameron DW, Ndinya-Achola JO, Kreiss JK, Gakinya MN, et al. Cofactors in male-female sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Journal of Infectious Diseases. 1991;163(2):233-9.
79. Kreiss JK, Coombs R, Plummer F, Holmes KK, Nikora B, Cameron W, et al. Isolation of human immunodeficiency virus from genital ulcers in Nairobi prostitutes. Journal of Infectious Diseases. 1989;160(3):380-4.
80. Dover JS, Johnson RA. Cutaneous manifestations of human immunodeficiency virus infection: Part II. Archives of dermatology. 1991;127(10):1549-58.
81. Maier JA, Bergman A, Ross MG. Acquired immunodeficiency syndrome manifested by chronic primary genital herpes. American Journal of Obstetrics & Gynecology. 1986;155(4):756-8.
82. Moriuchi M, Moriuchi H, Williams R, Straus SE. Herpes simplex virus infection induces replication of human immunodeficiency virus type 1. Virology. 2000;278(2):534-40.
83. Golden MP, Kim S, Hammer SM, Ladd EA, Schaffer PA, DeLuca N, et al. Activation of human immunodeficiency virus by herpes simplex virus. Journal of Infectious Diseases. 1992;166(3):494-9.
84. Albrecht MA, DeLuca N, Byrn R, Schaffer P, Hammer S. The herpes simplex virus immediate-early protein, ICP4, is required to potentiate replication of human immunodeficiency virus in CD4+ lymphocytes. Journal of virology. 1989;63(5):1861-8.
85. Calistri A, Parolin C, Pizzato M, Calvi P, Giaretta I, Palù G. Herpes simplex virus chronically infected human T lymphocytes are susceptible to HIV-1 superinfection and support HIV-1 pseudotyping. Journal of acquired immune deficiency syndromes and human retrovirology. 1999;21:90-8.
86. Roulston A, Lin R, Beauparlant P, Wainberg MA, Hiscott J. Regulation of human immunodeficiency virus type 1 and cytokine gene expression in myeloid cells by NF-kappa B/Rel transcription factors. Microbiological reviews. 1995;59(3):481-505.
87. Heng MC, Heng SY, Allen SG. Co-infection and synergy of human immunodeficiency virus-1 and herpes simplex virus-1. The lancet. 1994;343(8892):255-8.
88. Posavad CM, Koelle DM, Shaughnessy MF, Corey L. Severe genital herpes infections in HIV-infected individuals with impaired herpes simplex virus-specific CD8+ cytotoxic T lymphocyte responses. Proceedings of the National Academy of Sciences. 1997;94(19):10289-94.
89. Ramel F. Herpès et lésions cutanées: quoi de neuf? Pathologie biologie. 2002;50(7):440-4.
90. Wald A, Zeh J, Selke S, Warren T, Ryncarz AJ, Ashley R, et al. Reactivation of genital herpes simplex virus type 2 infection in asymptomatic seropositive persons. New England Journal of Medicine. 2000;342(12):844-50.
91. Huraux J, Huraux-Rendu C, Blanchier H, Le Baleur AS-C. Herpes génital et grossesse. Mesures préventives. Médecine et Maladies Infectieuses. 1994;24(4):477-84.
92. Fleury H. Virologie humaine. 5ème éd. Masson, Paris p; 2009.
93. Nahmias AJ, Lee FK, Beckman-Nahmias S. Sero-epidemiological and-sociological patterns of herpes simplex virus infection in the world. Scand J Infect Dis Suppl. 1990;69:19-36.
94. Akom E, Venne S. L'infection génitale au virus herpès simplex: Institut national de santé publique du Québec; 2003.
95. Chanzy B, Braig S, Morand P. Débats et actualités dans le diagnostic virologique de l’herpès. Pathologie biologie. 2002;50(7):419-24.

96. Védie A-L, Gan E, Bélivier E, Mesnage R, Bessis D, Boralevi F, editors. La dermatose congénitale érosive et vésiculeuse, une entité mal connue. Annales de Dermatologie et de Vénéréologie; 2015: Elsevier.
97. Brown ZA. Genital herpes complicating pregnancy. Dermatologic clinics. 1998;16(4):805-10.
98. Ohana B, Lipson M, Vered N, Srugo I, Ahdut M, Morag A. Novel approach for specific detection of herpes simplex virus type 1 and 2 antibodies and immunoglobulin G and M antibodies. Clinical and diagnostic laboratory immunology. 2000;7(6):904-8.
99. Furman PA, St Clair M, Spector T. Acyclovir triphosphate is a suicide inactivator of the herpes simplex virus DNA polymerase. Journal of Biological Chemistry. 1984;259(15):9575-9.
100. Descamps V BF, Picard-Dahan C. Herpès. Encyclopédie Médico-Chirurgicale : Pédiatrie – Maladies infectieuses. 1997;4-295-A-10.
101. de Miranda P, Blum MR. Pharmacokinetics of acyclovir after intravenous and oral administration. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. 1983;12(suppl_B):29-37.
102. Lycke E, Kristensson K, Svennerholm B, Vahlne A, Ziegler R. Uptake and transport of herpes simplex virus in neurites of rat dorsal root ganglia cells in culture. Journal of General Virology. 1984;65(1):55-64.
103. Malkin J. Place des antirétroviraux en 2000 dans le traitement et la prévention de l'infection herpétique. Pathologie biologie. 2002;50(8):477-82.
104. Saiag P, Lorette G. Prise en charge de l'herpes cutanéomuqueux chez le sujet immunocompétent. Ann Dermatol Vénéréol. 2001;128:867-9.
105. VIDAL. 2015.
106. Braig S, Chanzy B. Genital herpes: practical impact of the 2001 consensus conference? Journal de gynecologie, obstetrique et biologie de la reproduction. 2002;31(6 Suppl):4S60-4S4.
107. Bertholom C. Modalités de prise en charge du nouveau-né suspect d'être infecté par HSV1 ou HSV2. Option/Bio. 2015;26(530):14-5.
108. Benoist G, Bourrillon A. Pédiatrie: Réussir les ECNi: Elsevier Masson; 2014.
109. Danve-Szatanek C, Aymard M, Thouvenot D, Morfin F, Agius G, Bertin I, et al. Surveillance network for herpes simplex virus resistance to antiviral drugs: 3-year follow-up. Journal of Clinical Microbiology. 2004;42(1):242-9.
110. Parris DS, Harrington JE. Herpes simplex virus variants restraint to high concentrations of acyclovir exist in clinical isolates. Antimicrobial agents and chemotherapy. 1982;22(1):71-7.
111. Leib DA, Harrison TE, Laslo KM, Machalek MA, Moorman NJ, Virgin HW. Interferons regulate the phenotype of wild-type and mutant herpes simplex viruses in vivo. Journal of Experimental Medicine. 1999;189(4):663-72.
112. Gilbert SC. Oral shedding of herpes simplex virus type 1 in immunocompetent persons. Journal of oral pathology & medicine. 2006;35(9):548-53.
113. Allen UD, Robinson JL, pédiatrie Scd, d'immunisation Cdmie. La prévention et la prise en charge des infections par le virus de l'herpès simplex. Paediatrics & child health. 2014;19(4):207-12.
114. Deback C, Huraux J-M. Vaccination antiherpès simplex virus: perspectives. La Revue de médecine interne. 2007;28(1):16-21.
115. Belshe RB, Leone PA, Bernstein DI, Wald A, Levin MJ, Stapleton JT, et al. Efficacy results of a trial of a herpes simplex vaccine. New England Journal of Medicine. 2012;366(1):34-43.
116. Lautenschlager S. Diagnosis of syphilis: clinical and laboratory problems. JDDG: Journal der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft. 2006;4(12):1058-75.

117. Rosen T, Brown TJ. Genital ulcers: evaluation and treatment. Dermatologic clinics. 1998;16(4):673-85.
118. Lautenschlager S. Cutaneous manifestations of syphilis. American journal of clinical dermatology. 2006;7(5):291-304.
119. McLean CA, Stoner BP, Workowski KA. Treatment of lymphogranuloma venereum. Clinical Infectious Diseases. 2007;44(Supplement_3):S147-S52.
120. ENGELKENS HJH, STOLZ E. Genital ulcer disease. International journal of dermatology. 1993;32(3):169-81.
121. O'Farrell N. Donovanosis. Sexually transmitted infections. 2002;78(6):452-7.

VIII. ANNEXE

Questionnaire

***HERPES simplex virus* identifie dans les ulcérations buccales et/ou génitales chez les personnes vivant avec le VIH/sida suivies au CESAC de Bamako et dans le service des Maladies Infectieuses et Tropicales du CHU du Point G**

FICHE D'ENQUETE

N° …….

I. Renseignements sociodémographiques

AGE : _____ SEXE : 1- Masculin_____ 2- féminin ____

NATIONALITE : _____

STATUT MATRIMONIAL

1-Célibataire___

Si OUI Jamais marié___ Divorcée___ Chaste__ Concubinage___

Si OUI nombres de partenaires rencontrés dans la vie sexuelle____

2-Marié(e) ___

a) Monogame ____
b) Polygame ___

Nombre de coépouse(s)/ conjointes : 1__ , 2__, 3__ ; 4___

ADRESSE **:**

Quartier_____

Commune I__ ; II___ ; III__ ; IV__ ; V____; VI____ ; autres à préciser_____

TEL _____

NIVEAU D'INSTRUCTION **:**

1-Fondamental 1 2- Fondamental 2 3- Secondaire 4-Supérieur 5- Analphabète

6-autres : à préciser_____

PROFESSION : _____

II. CLINIQUE :

- MOTIF DE CONSULTATION _____

DATE D'APPARITION DES PREMIER SYMPTOMES_____

-douleurs OUI___ ou NON___

Démangeaisons OUI___ ou NON___

Présence de vésicules ____ ; Présence d'ulcérations____

Localisations de l'ulcération…….

Typique (groupement des vésicules) ___ ou atypique (groupement des vésicules____

Lymphadénite inguinale OUI___ ; ou NON___

Exsudat blanchâtre OUI ___ ; ou NON___

Caractéristiques des lésions

Petites____ grosse ____ inflammation____

Autres signes associés……

Est-ce que cela vous est-il déjà arrivé ?

Oui ___ ; ou NON ___

A quand remonte cela ?

Semaines ___ ; mois____ ; année ___

Autres Diagnostiques à préciser_____

III. FACTEURS

ANTECEDENTS MEDICAUX :

VIH___ SI OUI VIH-1___/ VIH-2____/

Etes-vous Diabétique ? OUI__/ NON___/

Avez-vous une insuffisance rénale ? OUI__/ NON___/

Etes-vous drépanocytaire ? OUI__/ NON___/

Etes-vous sous corticothérapie ? OUI__/ NON___/

Lésions génitales récentes OUI___ ou NON___

D'autres IST à préciser……..……

ANTECEDENTS COMPARTEMENTAUX :

Célibataire : Avez-vous déjà eu de rapports sexuels? OUI____ ou NON____

Protégé_____ non Protégé_____

Si protégé : tous_____ certains____ dans quels circonstances_____

Nombre de partenaires dans la vie sexuelle:

Un ___ ; deux ____ ; plus de deux ____

Fréquence de rapport/semaine :

1___ ; 2___ ; 3___ ; 4__ ; plus de 4___
Partenaires habituels(les)_____ ; ou partenaires inhabituels(les)_____
Pratiquez-vous le contacte oro-génital: OUI ___ ; ou NON____
Pratiquez-vous le contact annal OUI ___ ; ou NON____
Date du dernier rapport sexuel_____
Marié : avez-vous des rapports protégés ? OUI____ NON_____
Si oui : tous_____ certains____ dans quels circonstances_____
Fréquence de rapport sexuels/semaine :
1___ ; 2___ ; 3___ ; 4__ ; plus de 4___
Pratiquez-vous le contacte oro-génital: OUI ___ ; ou NON____
Pratiquez-vous le contact annal OUI ___ ; ou NON____
Date du dernier rapport sexuel_____
Femmes enceintes OUI____ ou NON_____
Autres maladies à préciser_____

IV. EXAMEN PARACLINIQUE :

Examen sérologique sur prélèvement sanguin____
PCR sur les cellules au niveau de l'ulcération_____

V. TRAITEMENT

Etes-vous sous ARV ? _____
Si oui, depuis combien de temps _____
Quel schéma en cours ?_____
Avez-vous changé de schéma, de ligne ?
Traitement anti-herpétiques OUI___ ; ou NON____
Date de début du traitement anti-herpétique ……
Molécules anti-herpétiques utilisées et posologies…….....
…….
…….
Nombres de jours sous traitement anti-herpétiques ….…….
Nombres de mois sous traitement anti-herpétique prophylactique ……..
Evolution sous traitement : Guérison____ Amélioration____ Sans effet____
DATE _____

MINISTERE DE LA SANTE ET DE L'HYGIENE L'HYGIENE PUBLIQUE
-=-=-=-=-=-=-

REPUBLIQUE DU MALI
Un Peuple – Un But – Une Foi
-=-=-=-=-=-=-

INSTITUT NATIONAL DE RECHERCHE EN SANTE PUBLIQUE (INRSP)
BP 1771 / Tel 20 21 42 31/20 21 06 42/ Bamako
-=-=-=-=-=-=-

Guide de travail

HERPES SIMPLEX VIRUS IDENTIFIE DANS LES ULCERATIONS BUCCALES ET/OU GENITALES CHEZ LES PERSONNES VIVANT AVEC LE VIH/SIDA SUIVIES AU CESAC DE BAMAKO ET DANS LE SERVICE DES MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES DU CHU DU POINT G

Définition du cas suspect

Herpès génital :

-primo-infection : vésicules rapidement ulcérées, multiples et siégeant sur le prépuce et le gland, ou sur la vulve, le vagin et souvent le col utérin, accompagnées de fièvre, d'adénopathie inguinales, et dysurie. Certains vulvo-vaginites sont sévères et très douloureuses. Cette primo-infection survient à l'âge des premiers rapports sexuels et elle est rarement asymptomatique.

-herpès génital récidivant : elles se manifestent par des lésions localisées ou en bouquet unilatéral au niveau des lèvres vulvaires, du gland ou du prépuce souvent ulcérées peu caractéristiques.

Déroulement de l'enquête

Administration de la fiche de consentement

Au moment de la consultation, si un patient répond au cas suspect, lui proposer de participer à l'étude et lui administrer le formulaire de consentement.

Apres signature de la fiche de consentement, lui attribué un numéro d'identification.

Administration du questionnaire

Le patient ayant signé la fiche de consentement, porter son numéro anonyme sur un questionnaire et le lui administrer

Les parties du questionnaire à remplir sont : renseignement sociodémographique, cliniques, facteurs, examens paraclinique et traitements

Prélèvements

Deux milieux de cultures seront disponible : milieu virocult et le milieu e-swab copan

Identifier les milieux par le numéro anonyme du patient

Dans le cas d'une éruption vésiculeuse typique, le liquide vésiculaire et les cellules du plancher des vésicules les plus fraîches doivent être prélevés à l'aide d'un écouvillon par rotation ferme, sans faire saigner.

L'écouvillon ou les sécrétions doivent être déchargés dans un milieu de transport pour les techniques aux laboratoires.

La totalité de l'écouvillon doit être mise dans le tube contenant le milieu de transport. Ne pas oublier de casser l'écouvillon à la zone indiquée afin de pouvoir fermer le tube hermétiquement.

Maintenir les tubes avec l'écouvillon verticalement sur le portoir à la température ambiante et de transporter à l'INRSP pour congélation à -80°C

HERPES SIMPLEX VIRUS IDENTIFIE DANS LES ULCERATIONS BUCCALES ET/OU GENITALES CHEZ LES PERSONNES VIVANT AVEC LE VIH/SIDA SUIVIES AU CESAC DE BAMAKO ET DANS LE SERVICE DES MALADIES INFECTIEUSES ET TROPICALES DU CHU DU POINT G

FICHE DE CONSENTEMENT

Je soussigné _____, sujet en consultation au service des maladies infectieuses du point G, certifie que l'investigateur ci-dessous mentionné m'a bien expliqué le but et l'intérêt de l'étude. J'ai bien compris que l'étude est confidentielle et anonyme, et que ma participation est volontaire. J'ai compris que je peux accepter ou refuser de participer à l'étude, et en cas de participation je peux me retirer à tout moment et sans préjudice sur ma prise en charge. Je décide donc de donner mon consentement libre et éclairé.

Date
Signature/empreinte
FICHE D'ENGAGEMENT
Je soussigné _____, investigateur de l'étude avoir expliqué au sujet ci-dessus le but et l'intérêt de l'étude. Je lui ai fait part que l'étude sera confidentielle et anonyme et que sa participation est volontaire et sans condition. Le sujet peut se retirer à tout moment sans préjudice et sans impact sur sa prise en charge donc il peut donner son consentement libre et éclairer. Je m'engage donc à garder les informations confidentielles dans le respect du droit humain.
Date
Signature

SOP D'EXTRACTION DES ADN D'HSV1, HSV2 ET VZV

I.INTRODUCTION

Ce SOP consiste à détecter et/ou mesurer la charge virale des virus HSV-1, HSV-2 et VZV dans les frottis gynécologiques et buccaux.

II. Protocole d'extraction

2.1 Préalable

Cette étape s'inscrit dans le cadre de l'utilisation de la trousse d'extraction des échantillons DNA EXTRACTION. Elle nécessite la reconstitution des réactifs. La trousse est conservée avant et après première ouverture au sec à +2°C/+8°C jusqu'à la date de péremption indiquée sur la boîte, l'exception de la protéase QIAGEN qui est stable 6 mois à température ambiante sous forme lyophilisée. Après reconstitution, celle-ci doit être conservée à -15°C/-31°C, aliquotée, afin d'éviter des cycles de congélation et décongélation successifs, nous constituerons 5 aliquots

2.2 Composition du kit

- Réactif d'extraction :

Le kit est composé de **:**

A Mini-colonne QIAamp® .....25 x 10
B Tubes collecteurs (2 mL) ..... 10 x 50
C* Tampon AL ..... 2X33 mL
D** Tampon AW1 (concentré) ..... 98 mL
E Tampon AW2 (concentré) ..... 66 mL
F Tampon AE .....128 mL
G*** Protéinase K .....6 mL
H Tampon ATL ..... 50 mL

- Réactif de quantification et d'Amplification :

W0 Eau pour extraction (qualité PCR) 2 x 1,8 mL
IC2 Contrôle interne 2 ..... 1 x 1 mL

R0 Eau pour amplification (qualité PCR)..... 1 x 300µL
QS1 Standard de quantification **1** HSV1+HSV2+VZV (2 000 copies/µL) ..... 1 x 300µL
QS2 Standard de quantification 2 HSV1+HSV2+VZV (200 copies/µL) ..... 1 x 300µL
QS3 Standard de quantification 3 HSV1+HSV2+VZV (20 copies/µL) 1 x 300µL
QS4 Standard de quantification 4 HSV1+HSV2+VZV (2 copies/µL) ..... 1 x 300µL
SC Contrôle de sensibilité HSV1+HSV2+VZV (0,5 copie/µL) ..... 1 x 300µL
R1 Prémix d'amplification de HSV-1 et d'IC2 .....2 x 450µL
R2 Prémix d'amplification de HSV-2 et d'IC2 ..... 2 x 450µL
R3 Prémix d'amplification de VZV et d'IC2 ..... 2 x 450µL

2.3 Réactifs et Matériel nécessaire et non fourni

• Éthanol 96-100%.
• Centrifugeuse de paillasse (6 000 g – 12 000 g).
• Vortex
• Tubes en polypropylène de microcentrifugation (1,5 mL, 2 mL).
• Bain-marie à +56°C.
•Flotteur
• Micropipettes et cônes à filtre.
• Gants jetables.
•plaques pour les 2 plateformes

2.4 Reconstitution des réactifs de HSV1, HSV2 et de VZV

a) Préparation du tampon AL (C)

- Homogénéiser le tampon AL (**C**) avant utilisation.
- Ne jamais conserver la protéinase K dans le tampon AL (**C**).
- S'il y a un précipité dans le tampon AL, le dissoudre en le chauffant à +70°C.
- À conserver à +2°C/+8°C.

b) tampon AW1 (D)

- À conserver à +2°C/+8°C.
- Le tampon AW1 (**D**) est fourni sous forme concentrée.

Avant utilisation la première fois, ajouter un volume de 130 ml d'éthanol 96-100%, aux 98 ml de tampon concentré pour obtenir un volume de 228mL.

c) tampon AW2 (E)

- À conserver à +2°C/+8°C.
- Le tampon AW2 (**E**) est fourni sous forme concentrée. Avant utilisation la première fois, ajouter un volume de 160 mL d'éthanol 96-100%, aux 66ml de tampon concentré pour obtenir un volume de 226 mL.

2.6 Protocole d'extraction

NB : Les échantillons, le réactif IC2 et W0, décongelés doivent avoir été impérativement homogénéisés avant de suivre l'étape

2.6.1 Echantillons

Sont concernés par le présent SOP les prélèvements sur les ulcérations buccales et génitales

2.6.2 Mode opératoire

1. Préalable

• Mettre les échantillons, IC2 et W0 à la température ambiante de la salle (+18°C/+25°C).
• Mettre le tampon d'élution AE (F) à la température ambiante de la salle (+18°C/+25°C).
• Vérifier que les tampons AW1 (D) et AW2 (E) ont été reconstitués (Voir chapitre « Reconstitution des réactifs »)
• S'il y a un précipité dans le tampon AL (C), le dissoudre en le chauffant à +70°C.
• Toutes les étapes de centrifugation sont réalisées à température ambiante.

2. Lyse

a) Préparer autant de tubes de 1,5 ml de microcentrifugation qu'il y a d'échantillons et ajouter un tube dans lequel le mélange (**W0+IC2**) séra extrait ; les identifier en les marquant sur le bouchon.
b) Préchauffer le bain-marie à +56°C.
c)Pipeter 200 µL de tampon AL(**C**) et les déposer au fond de chacun des tubes de microcentrifugation de 1,5 ml identifiés.
d) Ajouter 20 µL de protéinase K.
e) Ajouter 10 µL de contrôle interne **IC2**.
f) Ajouter 200 µL de **W0** dans LE tube identifié pour le mix **W0+IC2.**
g) Ajouter 200 µL d'échantillons dans les tubes identifiés pour les échantillons. Si le volume d'échantillon disponible est inférieur à 200µL, il peut être complété avec du PBS, mais ATTENTION, le résultat obtenu sur cet échantillon ne sera que qualitatif.
h) Mélanger en vortexant pendant 15 sec. Pour que la lyse soit efficace, il est nécessaire de bien mélanger afin d'avoir une solution parfaitement homogène.
i) Incuber à +56°C pendant 10 min dans le bain marie ou sur une plaque chauffante.
j) La lyse est complète après 10 min d'incubation.
NB: Des temps d'incubation plus longs n'ont pas d'effet sur le rendement ou la qualité de l'ADN extrait. Les agents potentiellement infectieux peuvent être inactivés en incubant l'échantillon à +95°C pendant 15 min après la lyse. Toutefois des incubations prolongées à de telles températures peuvent conduire à une dégradation de l'ADN.
k) Centrifuger brièvement les tubes pour enlever les gouttes présentes dans les bouchons.

3. Chargement de la colonne

a) Ajouter 200 µL d'éthanol absolue (96-100 %) par tube et mélanger en respectant un temps de passage au vortex de 15 secondes.
b) Centrifuger brièvement les tubes pour enlever les gouttes présentes dans les bouchons.
c) Tranféré avec précaution le contenu du tube sur une colonne QIAamp® emboîtée sur un tube de 2 ml. S'assurer de ne pas mouiller le haut de la colonne (zone de contact avec le bouchon).

d) Fermer le bouchon afin d'éviter les contaminations croisées entre échantillons et centrifuger à 6000 g pendant 1 min. S'il reste de la solution sur la membrane de la colonne, centrifuger à nouveau jusqu'à ce que la solution passe au travers de la membrane.
e) Placer les colonnes sur un tube de 2 mL propre et éliminer les tubes contenant les filtrats.

4. Lavage

a) Ouvrir les colonnes avec précaution et ajouter 500 µL de tampon AW1 (**D**). Fermer les colonnes et centrifuger à 6 000 g pendant 1 min.
b) Placer les colonnes sur un tube de 2 mL propre et éliminer les tubes contenant les filtrats.
c) Ouvrir les colonnes avec précaution et ajouter 500 µL de tampon AW2 (**E**).
d) Fermer les colonnes et centrifuger à pleine vitesse (12 000 g) pendant 3 min.
e) Placer les colonnes sur un tube de 2 mL propre (non fourni) et éliminer les tubes contenant les filtrats.
f) Centrifuger 1 min à pleine vitesse (14000 rpm) . Cette étape sert à éliminer tout risque de remontée de tampon AW2 (**E**) sur la colonne lors de la décélération de la centrifugeuse, ou lors du transfert des colonnes hors du rotor.
g) Placer chaque colonne sur un tube de 1,5 mL propre (non fourni) identifié et éliminer les tubes contenant les filtrats.

5. Elution

NB : ce sont les colonnes qui doivent être jetées et non les tubes collecteurs
a) Ouvrir les colonnes avec précaution et ajouter **50** µL de tampon d'élution AE (**F**).
b) Fermer les colonnes et incuber pendant 5 min à température ambiante.
c) Centrifuger à 6000 g pendant 1 min.
d) L'ADN extrait est contenu dans l'éluât. L'ADN extrait est stable un an lorsqu'il est conservé à -15°C/-31°C.

III. Protocole d'Amplification et de détection en temps réel

3.1 Définition : L'amplification est réalisée au moyen de la technique des sondes d'hydrolyse 5' nucléase TaqMan® (n° de brevet : 5210015, 5487972).
Les mélanges d'amplification sont prêts à l'emploi, et contiennent les amorces, les dNTPs, le tampon d'amplification, la Taq Polymérase et les sondes de chacun des paramètres viraux HSV-1, HSV-2, VZV ainsi que la sonde et les amorces spécifiques du contrôle interne (IC2) introduit dès l'extraction (avant lyse).

3.2 Matériel nécessaire

Micropipette (P20) et cônes à filtre stériles de 20 µL.
• LightCycler 480 (System II), Mx3005P.
• centrifugeuse de plaque pour Applied Biosystems ou Mx3005P.
• Gants jetables.
• Capillaire, tube ou plaque adapté à chaque instrument d'amplification temps réel validé avec la trousse HSV1 HSV2 VZV R-gene®.
• Bloc froid adapté à chaque instrument d'amplification temps réel validé avec la trousse HSV1 HSV2 VZV R-gene®.

3.3 Préparation de la plaque

Avant chaque utilisation :
- Les réactifs doivent être décongelés complètement **à température ambiante** avant le début de l'essai.

- Homogénéiser chaque réactif (au vortex durant 2 secondes ou par pipetages successifs) et centrifuger brièvement.
- S'assurer que le portoir réfrigéré ait été décontaminé 30 min sous U.V.
- S'assurer que le portoir réfrigéré ait bien été pré-refroidi à +2°C/+8°C.

NB: Afin de suivre l'évolution de la charge virale d'un patient test après test, il est impératif que les analyses successives des échantillons soient réalisées strictement selon le même protocole et avec les mêmes instruments d'extraction et d'amplification.

Pour Mx3005P

ETAPES		DUREE	TEMPERATURE	CYCLES
Les rampes de montée et descente en température sont paramétrées par défaut, jusqu'à 20°C/sec, ou 100%				
ACTIVATION TAQ POLYMERASE		15MIN	95°C	1
AMPLIFICATION	DENATURATION	20 SEC	95°C	45
	HYBRIDATION ELONGATION	40 SEC	60°C	

NB : Pour la détection simultanée des virus HSV-1, HSV-2, VZV et/ou entérovirus, utiliser le programme d'amplification décrit dans la fiche technique de la trousse Enterovirus R-gene®
Note 1 : Sur LightCycler, ajouter au programme une étape de «refroidissement » 30 sec / 40°C / 1 Cycle en fin de PCR
Sur LC 480

ETAPES		DUREE	TEMPERATURE	CYCLES
Les rampes de montée et descente en température sont paramétrées par défaut, jusqu'à 20°C/sec, ou 100%				
ACTIVATION TAQ POLYMERASE		15MIN	95°C	1
AMPLIFICATION	DENATURATION	20 SEC	95°C	45
	HYBRIDATION ELONGATION	40 SEC	60°C	
	Refroidissement	30 SEC	40°C	1

Note 2 : Sur Mx3005P ou Versant kPCR Molecular System AD, sélectionner «none» dans «Reference Dye».
Note 3 : Sur LightCycler 480, deux systèmes optiques existent : seul le « System II » est compatible avec l'utilisation de la trousse
HSV1 HSV2 VZV R-gene®. Le « System II » intègre dans son logiciel une compensation de couleur automatique

3.4 PREPARATION DE L'AMPLIFICATION

Dans la pièce réservée à l'amplification
NB : Afin d'éviter au maximum les contaminations, refermer les puits au fur et à mesure des distributions.
Replacer les prémix d'amplification (R1, R2, R3), les standards de quantification (QS) et le contrôle de sensibilité (SC) à -15°C/-31°C immédiatement après utilisation.

• Faire un flux et reflux de 15 µL dans les prémix afin d'assurer leur répartition homogène dans les puits.
• Pipeter 15 µL de prémix d'amplification et les déposer dans les puits.
NB: Bien respecter l'ordre d'ajout des échantillons/réactifs.
• Ajouter 10 µL de chaque échantillon extrait dans 1 tube contenant le prémix d'amplification correspondant au virus recherché.
• Ajouter 10 µL de contrôle de sensibilité (**SC**) dans le tube dédié (cf. paragraphe « Les contrôles »).
• Ajouter 10 µL de chaque standard (du **QS4** au **QS1**) par tube contenant le prémix d'amplification correspondant au virus recherché
(cf. paragraphe « Les contrôles »).

• Ajouter 10 µL de **IC2+W0** extrait dans le ?tube dédié. Ce tube constitue le contrôle **IC2W0** (cf. paragraphe « Les contrôles »).
• Centrifuger les plaques dans l'appareil approprié puis les transférer dans le thermocycleur.

	QUANTIFICATION
	EXTRACTION 200 µL ELUTION DANS 50 µL (copies/ml
QS1	500 000
QS2	50 000
QS3	**5000**
QS4	500

3.5 VERIFICATION ET LANCEMENT DU PROGRAMME HSV1 HSV2 VZV R-gene®

• Lancer le programme d'amplification décrit en chapitre « Programme ».
• Désigner les échantillons et les contrôles.
•Pour un résultat qualitatif utiliser le QS3
• Pour la quantification de HSV-1 et/ou HSV-2 et/ou VZV entrer les valeurs de standard suivantes en copies/ml:

IV. Analyse et

	QUANTIFICATION
	EXTRACTION 200 µL ELUTION DANS 50 µL (copies/ml
QS1	500 000
QS2	50 000
QS3	**5000**
QS4	500

Interprétation des résultats

Note : 530 nm = correspond au canal de lecture. Elle peut différer selon les plateformes de PCR temps réel. Par souci de simplification de la notice, seul le terme « 530 nm »= « FAM »= « Green » est utilisé.

560 nm =« VIC », « Hex » correspond au canal de lecture ou autre selon les plateformes de PCR temps réel. Par souci de simplification de la notice, seul le terme « 560 nm » est utilisé.

4.1 ANALYSE DES DONNEES SUR Mx3005P

• Vérifier que none a bien été sélectionné dans le champ référence dye car les prémix de la trousse HSV1 HSV2 VZV R-gene® ne contiennent pas de fluorochrome de référence passive.

• L'analyse de la cible virale est effectuée en désélectionnant le bouton Hex.

• L'analyse du contrôle d'extraction + inhibition est effectuée en désélectionnant le bouton Fam.

• La ligne de seuil doit être ajustée en mode Linear scale.

• La concentration calculée pour HSV-1 ou HSV-2 ou VZV apparaît dans la colonne Quantity (copies) de la fenêtre Quant du tableau récapitulatif.

• L'analyse des contrôles d'extraction + inhibition est effectuée en comparant le CT calculé pour chaque contrôle d'extraction + inhibition
(**IC2sample**) au CT obtenu avec le contrôle d'extraction + inhibition de référence (**IC2W0**) à **560 nm**.

4.2 ANALYSE SUR LIGHTCYCLER 480 (système III)

• Activer la compensation automatique FAM - HEX du LC480 (System II)

• L'analyse de la cible virale est effectuée en mode Absolute Quantification à **530 nm** (FAM).

• L'analyse du contrôle d'extraction + inhibition est effectuée en mode Absolute Quantification à **560 nm** (HEX).

• Pour chaque échantillon positif, un Crossing Point (CP) est calculé à **530 nm**.

• L'analyse des contrôles d'extraction + inhibition est effectuée en comparant le CP calculé pour chaque contrôle d'extraction + inhibition (**IC2sample**) au CP obtenu avec le contrôle d'extraction + inhibition de référence (**IC2W0**) à **560 nm** (HEX).

V. Validation et interprétations des résultats

5.1 VALIDATION DU TEST POUR LES 2 PLATEFORMES

NB: Pour valider l'expérience, toutes les conditions énumérées ci-dessous doivent être impérativement remplies.

Dans le cas contraire, l'ensemble de l'expérience avec échantillons, contrôles et standard(s), doit être réitéré.

Note : CT = Crossing Threshold pour la plupart des plateformes de PCR temps réel ou CP (Crossing Point) pour les appareils de la gamme LightCycler. Par souci de simplification de la notice, seul le terme CT est utilisé.

1ère CONDITION : IC2W0 ne doit donner aucun signal (CT) à **530 nm**.

2ème CONDITION : IC2W0 doit donner un signal (CT) inférieur ou égal à **32** cycles à **560 nm**.

3ème CONDITION : - Interprétation quantitative : La valeur de CT du QS3, ainsi que la pente ou l'efficacité requise pour la gamme standard, doivent être comprises entre les valeurs listées dans le tableau ci-dessous

- Interprétation qualitative : la valeur de CT du QS3, qui sert de contrôle positif, doit être comprise entre **31** et **35** cycles à **530** nm.

5.2 INTERPRETATION DES RESULTATS POUR LES 2 PLATEFORMES

• Chaque résultat d'échantillon est analysé individuellement.

• Un CT s'affiche pour tous les échantillons positifs.

• L'absence de CT correspond à un échantillon négatif ou inhibé et/ou mal extrait

Contrôle d'extraction +Inhibition (IC2sample)	CT [IC2sample] ≤ CT [IC2W0] + **3** cycles		CT [IC2sample]> CT [IC2W0] + **3** cycles	
	Echantillon NON INHIBÉ et correctement extrait		**Echantillon INHIBÉ et/ou mal extrait**	
ECHANTILLON	**CT calculé**	**CT non calculé**	**CT calculé**	**CT non calculé**

Interprétation **Quantitative** HSV-1, HSV-2, VZV	Pathogène détecté Quantification validée	Pathogène non détecté	Pathogène détecté Quantification à refaire	Résultat invalide
Interprétation **Qualitative** HSV-1, HSV-2, VZV	Pathogène détecté	Pathogène non détecté	Pathogène détecté	Résultat invalide

FICHE SIGNALETIQUE

Nom : DIENG
Prénom : Amadou
Nationalité : Malienne

Ville de sountenance : Bamako/Mali
Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Pharmacie
Section : Pharmacie

Titre de la thèse : Prévalence des HSV dans les ulcérations buccales et/ génitales chez les personnes vivants avec le VIH/SIDA et suivies au CESAC de Bamako et dans le service des maladies infectieuses et tropicales du chu du Point G

Prévalence des HSV dans les ulcérations buccales et/ génitales chez les personnes vivants avec le VIH/SIDA et suivies au CESAC de Bamako et dans le service des maladies infectieuses et tropicales du chu du Point G

Introduction / Objectifs

L'infection par HSV2 est la causes la plus fréquentes d'ulcération génitale dans le monde et pourrait aussi constituer un cofacteur de transmission du VIH, en effet les personnes infectées par HSV-2 ont deux à trois fois plus de risque d'acquérir le VIH et la coïnfection des deux virus entraîne une élévation de la charge virale plasmatique et du portage génital, et donc probablement une transmission accrue.

Le but de cette étude était de déterminer la prévalence des HSV dans les ulcérations buccales et génitales chez les PVVIH suivies au CESAC DE Bamako et au service des maladies infectieuses et tropicales du Point G.

Méthodologie

Il s'agissait d'une étude prospective à but descriptive menée chez 53 PVVIH suivies au CESAC de Bamako et dans le service des maladies infectieuses et tropicales du CHU du Point G de Janvier 2018 à Aout 2018. Les échantillons ont été prélevés sur des lésions ulcératives par écouvillonnage appuyé avec le sigma-virocult® et transporté à l'INRSP. L'extraction des d'ADN a été faite par le mini kit 250 (Qiagen).La technique de rtPCR en temps réel sur le LightCycler 480 (LC-480) de Roche a été utilisée pour la détection simultanée des HSV-1 et HSV-2 (Kit R-gene HSV-1, HSV-2, VZV, Argène®).

Résultats

Sur les 53 patients ayants acceptés de participer à l'étude 18 prélèvements étaient Buccales, 26 Génitales et 5 périnéaux, 84,9% avaient un âge compris entre 30 et 62ans et la plupart était des femmes avec un taux de 66%. Le taux d'ulcérations génitales était de 54,7%, 9,4% pour celles périnéal et celui des ulcérations buccales était de 34,8%. La prévalence des HSV était de 58,48% réparti comme suit : 30,2% pour HSV2 ; 15,1% pour HSV1 et 9,4% pour la coïnfection HSV1/HSV2). Parmi les ulcérations buccales 31,6% étaient dus à HSV1 et 15,8%

à HSV2 et nous n'avons pas eu de coïnfection HSV1-HSV2, par contre dans les ulcérations génitales 3,4% était dû à HSV1, 48,3% pour HSV2 et 17,2% pour la coïnfection.

Conclusion

La prévalence de HSV est élevée chez les PVVIH, surtout dans la population sexuellement active. Malgré la chimiothérapie antivirale, l'infection à HSV reste un problème de santé publique préoccupant, particulièrement l'herpès génital, du fait de sa contribution sans nul doute à l'augmentation du risque de transmission du VIH et des autres IST.

Mots clés : *HSV-1, HSV-2*, VIH, Coïnfection, ulcération

FICHE SIGNALETIQUE

Name : DIENG Ville de sountenance : Bamako/Mali

Surname : Amadou Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Pharmacie

Nationality : Malienne

Section : Pharmacie

Titre

prevalence of HSV in oral and genital ulcerations among people living with hiv / aids and monitored in the CESAC of Bamako and in the department of infectious and tropical diseases of the UHC of point g

Introduction / Objectives

HSV2 infection is the most common cause of genital ulcer disease in the world and could also be a cofactor of HIV transmission, as people infected with HSV-2 are two to three times more likely to acquire HIV. HIV and co-infection of both viruses leads to elevated plasma viral load and genital carriage, and therefore probably increased transmission. The purpose of this study was to determine the prevalence of HSV in oral and genital ulcers in PLWHA followed at CESAC of Bamako and at the Point G Infectious and Tropical Diseases Department.

Methodology

This was a prospective descriptive study conducted in 53 PLWHAs followed at CESAC in Bamako and in the Infectious and Tropical Diseases Department of the Point G UHC from January 2018 to August 2018. Samples were taken by swabbing ulcerative lesions with sigma-virocult® and transported to INRSP. Extraction of the DNA was done with mini kit 250 (Qiagen). The real-time rtPCR technique on Roche LightCycler 480 (LC-480) was used for the simultaneous detection of HSV-1 and HSV. -2 (R-gene kit HSV-1, HSV-2, VZV, Argene®).

Results

Of the 53 patients who accepted to participate in the study, 18 samples were oral, 26 Genitals and 5 perineal, 84.9% were between 30 and 62 years old and most were women with a rate of 66%. The rate of genital ulcers was 54.7%, 9.4% for the perineal ulcers and the one for oral ulcers was 34.8%. The prevalence of HSV was 58.48% distributed as follows: 30.2% for HSV2; 15.1% for HSV1 and 9.4% for HSV1 / HSV2 coinfection). Of the oral ulcerations 31.6% were due to HSV1 and 15.8% to HSV2 and we did not have HSV1-HSV2 coinfection,

in contrast in genital ulcers 3.4% was due to HSV1, 48.3 % for HSV2 and 17.2% for co-infection.

Conclusion

The prevalence of HSV is high among PHAs, especially in the sexually active population. Despite antiviral chemotherapy, HSV infection remains a serious public health problem, particularly genital herpes, because of its undoubted contribution to increasing the risk of transmission of HIV and other STIs.

Key words: HSV-1, HSV-2, HIV, Coinfection, ulceration

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 couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque. »

Je le jure