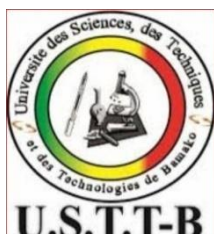


**UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES ET DES TECHNOLOGIES DE
BAMAKO (U.S.T.T.B)**

FACULTE DE MEDECINE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE (FMOS)



Mémoire de Master

**IMPACT DES POLYMORPHISMES $c.516G>T$ ET $c.785A>G$ DU *CYP 2B6* SUR
LA VARIABILITÉ DE LA CONCENTRATION PLASMATIQUE
D'ÉFAVIRENZ CHEZ LES PATIENTS ATTEINTS DU VIH AU MALI**

ANNÉE UNIVERSITAIRE

2025– 2026

présenté et soutenu publiquement le 13/07/ 2026 devant

la Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie

Par M. Oumar KASSOGUE

Pour l'obtention du Master en Génétique et Pathologie Moléculaire

JURY

Président : M. Cheick Bougadari TRAORE, Professeur
Directeur : M. Bréhima DIAKITE, Maitre de Conférences
Co-Directeur : M. Modibo DIALLO, Maitre-Assistant
Membre : M. Bourama COULIBALY, Maitre de Conférences

Dédicaces

DÉDICACE

À ma très chère mère, **Mèrabara KASSOGUÉ**, mère de famille infatigable, qui m'a appris à accepter et à aimer les autres dans leurs différences. Tu as semé en moi les valeurs de tolérance, de respect et d'amour du prochain. Pour tout ton amour, tes sacrifices et tes prières, je te dis merci du fond du cœur.

Que Dieu t'accorde une longue vie, remplie de santé, de paix et de bonheur.

Amen !

À mon très cher père, **Ebelou dit Brahima KASSOGUÉ**, chef de famille exemplaire, ce travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as consentis pour moi. Ton dévouement sans faille, ta bonté, ta rigueur, ta générosité et ton sens de l'écoute ont largement contribué à faire de moi la personne que je suis aujourd'hui. Je te suis sincèrement reconnaissant. Que le Tout-Puissant nous accorde santé, longévité et bénédictions.

Amen !

À mes frères et sœurs : **Yaya KASSOGUÉ, Aboubacar KASSOGUÉ, Moctar KASSOGUÉ, Aïssatou KASSOGUÉ, Djèneba KASSOGUÉ, Oumou KASSOGUÉ, Tandou KASSOGUÉ**, vous êtes et demeurerez mes premiers compagnons de vie. Votre présence, votre affection et votre soutien occupent une place précieuse dans mon cœur. Je prie le Tout-Puissant de renforcer davantage les liens qui nous unissent et de préserver notre fraternité.

Amen !

À ma épouse **Yaouri KASSOGUÉ**, En témoignage de mon admiration, de mon amour profond et de ma grande affection, je te prie de trouver dans cette œuvre l'expression de toute mon estime et de mon sincère attachement. Puisse Dieu nous accorde bonheur, prospérité et une vie pleine de grâce. **Amen !**

À mes amis (es) : **Daouda DJIGUIBA, Karim TRAORÉ, Adama COULIBALY, Modibo DJIGUIBA, Amadou KASSOGUÉ, Issiaka KASSOGUÉ, Makan DIALLO, Armad DEMBELE, Jérôme MOUNKORO, Slif THIAM, Daoua OUOLOGUEM, Cheickina DEMBELE**, votre bonne conduite, votre amitié et vos qualités humaines m'ont beaucoup inspiré. Merci pour votre présence et votre soutien. Que le Miséricordieux nous accorde le succès dans toutes nos entreprises et bénisse chacun de nos pas.

Amen !

Remerciements

Remerciements

Au terme de ce travail, je tiens à exprimer ma profonde gratitude à toutes les personnes et institutions qui ont contribué, de près ou de loin, à sa réalisation.

J'adresse tout d'abord mes sincères remerciements au **Directeur du CREFPAM**, pour le financement accordé à cette étude, ainsi que pour son appui constant ;

Je remercie également l'ensemble des **professeurs du Centre de Recherche et de Formation sur les Pathologies Moléculaires (CREFPAM)**, pour leur encadrement, leur disponibilité et leur accompagnement tout au long de ce parcours ;

Je tiens également à remercier chaleureusement le personnel du **CREFPAM**, dont la collaboration, le soutien et la convivialité ont grandement contribué au bon déroulement de cette aventure scientifique et humaine ;

Mes remerciements vont aussi à mes **professeurs de la FMPOS/FAPH**, qui ont guidé mes premiers pas dans le domaine scientifique grâce à la qualité de leurs enseignements et à leur soutien constant ;

À **mes mentors de l'Université de Chicago**, pour leurs conseils, leur confiance et leur accompagnement, qui ont enrichi mon parcours académique et scientifique.

J'exprime ma reconnaissance particulière à **mon directeur de thèse**,

Je tiens également à remercier les **personnels du CESAC**, pour leur aide précieuse lors du recrutement des participants, ainsi que les **participants à l'étude**, sans lesquels ce travail n'aurait pas pu être mené à bien ;

J'adresse ma profonde gratitude à **mes chers parents**, pour leur amour, leurs sacrifices et leur soutien inconditionnel ;

Mes remerciements vont également à **mes frères, à mes sœurs, à mes neveux et à toute ma famille**, qui ont toujours été pour moi une source d'inspiration, d'encouragement et de force ;

Je remercie aussi **l'Ambassade d'Allemagne** pour la bourse de soutien qui m'a été accordée ;

Je n'oublie pas d'adresser mes remerciements à **tous les étudiants de la première promotion du Master en Génétique et Pathologie Moléculaire de la FMPOS**, pour les moments de partage, d'entraide et de solidarité ;

Enfin, je rends grâce à **Dieu Tout-Puissant**, qui m'a donné la force, le courage et la persévérance nécessaires pour mener ce travail à son terme.

Liste des abréviations

Liste des abréviations

8OH-EFV: 8-hydroxyéfavirenz
ADN : Acide Désoxyribonucléique
ARN: Ribonucleic Acid
ARV : Antirétroviraux
CCR5 : Chemokine Co-Receptor 5
CD4 : Cluster of Differentiation Class 4
CESAC : Centre d'Ecoute, de Soins, d'Animation et de Conseil des personnes vivant avec le VIH
CLS: Cell Lysis Solution
CXCR4: C-X-C motif chemokine Receptor 4
CYP : Cytochrome P450
CYP2B6 : Cytochrome P450 Family 2 Subfamily B Member 6
DTG : Dolutégravir
EFV: Efavirenz
ESI+: Electrospray Positif
Gln172His: Remplacement de la Glutamine par l'Histidine en position 172
gp120 : glucoprotéine de point moléculaire 120 000 daltons
HPLC : High Performance Liquid Chromatography
INNTI: Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
INTI : Inhibiteurs Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse
Lys262Arg: Remplacement de la Lysine par l'Arginine en position 262
OMS: Organisation Mondiale de la Santé
ONUSIDA : Programme Commun des Nations Unies sur le VIH/sida
PSN: Plan Stratégique National
PVVIH: Personne Vivant avec le VIH
RBC : *Red Blood Cel*
RFLP : polymorphisme de Longueur des Fragments de Restriction
rs:reference sequence
SIDA: Syndrome d'Immunodéficience Acquise
SNPs : Polymorphismes Nucléotidiques Simples
TARc: Traitements Antirétroviraux Combinés
TDM : *Therapeutic Drug Monitoring* (suivi thérapeutique pharmacologique)
UV : Ultraviolet

Liste des tableaux

Liste des tableaux

Tableau I: Principaux polymorphismes du gène CYP2B6 (43).....	12
Tableau II : Amorces utilisées pour le génotypage des polymorphismes c.785 A>G et c.516 G>T du gènes CYP 2B6.....	22
Tableau III: Conditions d'amplification du polymorphisme c.785A>G du gènes CYP2B6 ...	23
Tableau IV: Conditions d'amplification du polymorphisme c.516G>T du gène CYP2B6	23
Tableau V : Répartition des participants selon le niveau d'instruction.....	26
Tableau VI: Répartition des caractéristiques cliniques et biologiques des participants.....	30
Tableau VII : Classification clinique des concentrations plasmatiques d'EFV	32
Tableau VIII : Variations des concentrations plasmatiques de l'EFV selon les différents modèles génétiques	33
Tableau IX : Répartition des concentrations plasmatiques d'éfavirenz en fonction des modèles génétiques.....	34

Liste des figures

Liste des figures

Figure 1: Structure de la particule virale du VIH	5
Figure 2 : Vue d'ensemble schématique du cycle de réplication du VIH-1	6
Figure 3: Cibles des médicaments antirétroviraux dans le cycle de vie du VIH	8
Figure 4 : : Mode d'action d'un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse	9
<u>Figure 5 : Structure du gène CYP2B6 localisé sur le chromosome 19.....</u>	13
<u>Figure 6: Représentation schématique du métabolisme de l'éfavirenz et de son mécanisme</u> <u>d'action contre le VIH</u>	14
Figure 7: Répartition des participants en fonction du genre	26
Figure 8 : Distribution des participants selon leur statut matrimonial	27
Figure 9 : Distribution des participants selon le régime matrimonial	28
Figure 10 : Répartition des participants selon l'observance du traitement	29
Figure 11 : Distribution du polymorphisme <i>c.516G>T</i> du gène <i>CYP2B6</i> dans la population étudiée	31
Figure 12 : Répartition du polymorphisme <i>c.A785G</i> du gène <i>CYP2B6</i> dans la population étudiée	32

Sommaire

Table des matières

Dédicaces	i
Remerciements	ii
Liste des abréviations.....	iii
Liste des tableaux	iv
Liste des figures	v
Sommaire	vi
Résumé	viii
Abstract	ix
1 Introduction	1
2 Objectif.....	3
2.1 Général	3
2.2 Objectifs spécifiques.....	3
3 Généralités	4
3.1 Historique du VIH/SIDA	4
3.2 Virologie du VIH	4
3.3 Physiopathologie de l'infection à VIH	5
3.4 Traitements antirétroviraux.....	7
3.4.1 Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse	8
3.4.2 Transition vers les schémas à base de dolutégravir (Lamivudine-Tenofovir-Dolutégravir)	10
3.5 Pharmacogénétique.....	11
3.5.1 Cytochromes P450.....	11
➤ Le gène <i>CYP2B6</i>	11
➤ Variabilité pharmacocinétique de l'EFV	13
➤ Influence du polymorphisme c.516G>T	13
➤ Influence du polymorphisme c.785A>G	13
3.6 Synthèse et justification de l'étude	16
4 Matériel et Méthodes	17
4.1 Sites d'étude	17
4.2 Type et période de l'étude	17
4.3 Recrutement des participants	17
4.3.1 Critères d'inclusion	18
4.3.2 Critères de non-inclusion	18
4.4 Taille de l'échantillon.....	18

4.5	Prélèvement sanguin	19
4.6	Extraction de l'ADN génomique.....	19
4.6.1	Principe :	19
4.7	Détermination de la qualité et de la concentration d'ADN	21
4.7.1	Évaluation de la qualité de l'ADN	21
4.7.2	Mesure de la concentration et de la pureté de l'ADN	21
4.8	Génotypage des SNPs du gène <i>CYP2B6</i>	21
4.9	Principe de la PCR RFLP	22
4.9.1	Préparation des produits de PCR.....	22
4.9.2	Préparation des mélanges de digestion enzymatique.....	23
4.9.3	Révélation des produits de digestion sur gel d'agarose	24
4.9.4	Interprétation des profils génotypiques	24
4.10	Dosage de l'EFV	24
4.10.1	Séparation chromatographique	24
4.10.2	Détection par spectrométrie de masse	25
4.10.3	Étalonnage et contrôle qualité.....	25
4.11	Saisie et analyse des données	25
5	Résultats	26
5.1	Caractéristiques sociodémographiques.....	26
5.2	Caractéristiques cliniques et biologiques des participants.....	30
5.3	Distribution génotypique et allélique du <i>CYP2B6</i> dans la population d'étude	31
5.4	Classification clinique des concentrations plasmatiques d'EFV.....	32
5.5	Variations des concentrations plasmatiques de l'EFV selon les modèles génétiques.....	33
5.6	Répartition des concentrations plasmatiques d'éfavirenz en fonction des modèles génétiques	34
6	Commentaires discussion	36
7	Recommandations	41
8	BILIOGRAPHIE.....	43
	Annexes	47
	Annexes 1 : Fiche d'exploitation	47
	Annexes 2 : Fiche de consentement	49

Résumé

Introduction : l'Éfavirenz (EFV) constitue l'un des antirétroviraux utilisés dans le traitement du VIH-1. En dépit du passage progressif vers les protocoles thérapeutiques à base de dolutégravir préconisés par l'Organisation Mondiale de la Santé, l'EFV reste encore administré. Les concentrations d'EFV sont fortement influencées par la constitution génétique de l'individu, pouvant induire une sous-exposition ou une surexposition. Certains polymorphismes du gène *CYP2B6* sont principalement impliqués dans la pharmacocinétique de l'EFV, ce qui pourrait expliquer cette variabilité interindividuelle.

Objectif : Cette étude avait pour but d'examiner l'influence des variants génétiques *c.516G>T* et *c.785A>G* du gène *CYP2B6* sur la variabilité des taux plasmatiques d'EFV chez les personnes vivant avec le VIH-1 (PVVIH) au Mali.

Méthodes : il s'agissait d'une étude observationnelle analytique et rétrospective, réalisée de novembre 2025 à avril 2026. L'étude a inclus 57 personnes vivant avec le VIH (PVVIH) recevant un traitement à base d'EFV 600 mg. Les concentrations plasmatiques d'EFV ont été mesurées par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse. Le génotypage des polymorphismes *c.516G>T* et *c.785A>G* du *CYP2B6* a été réalisé par PCR-RFLP. Les évaluations statistiques ont été réalisées en appliquant des tests non paramétriques et le χ^2 de Pearson avec un seuil statistique fixé à $p < 0,05$.

Résultats : Nous avons observé une prédominance féminine (56,1 %). La concentration plasmatique médiane d'EFV était de 928 ng/mL (17 à 6696 ng/mL). Une sous-exposition thérapeutique (< 1000 ng/mL) a été observée chez 54,4 % des participants, tandis que 8,8 % présentaient une surexposition (> 4000 ng/mL). Le génotype *GT* du polymorphisme *c.516G>T* du gène *CYP2B6* était le plus fréquent (54,5 %), alors que le génotype *AG* prédominait pour le polymorphisme *c.785A>G* (50,0 %). Une association statistiquement significative a été observée entre le polymorphisme *c.785A>G* du *CYP2B6* et les concentrations plasmatiques d'EFV ($p = 0,044$), contrairement au polymorphisme *c.516G>T* dont l'association avec les concentrations plasmatiques n'était pas significative ($p = 0,271$).

Conclusion : Notre étude a pu mettre en évidence l'effet du gène *CYP2B6* sur les niveaux plasmatiques d'EFV chez les PVVIH. Le polymorphisme *c.785A>G* se révèle être un facteur majeur de la variabilité interindividuelle de l'EFV. Ces données soutiennent la pertinence de la pharmacogénétique dans l'amélioration de la prise en charge.

Mots-clés : VIH-1 ; Éfavirenz ; *CYP2B6* ; Polymorphisme génétique ; Pharmacogénétique ; Pharmacocinétique ; Mali.

Abstract

Introduction: Efavirenz (EFV) is one of the antiretroviral drugs used to treat HIV-1. Despite the gradual shift towards dolutegravir-based treatment protocols recommended by the World Health Organization, EFV is still administered. EFV concentrations are strongly influenced by an individual's genetic makeup, potentially leading to under- or over-exposure. The *CYP2B6* gene is primarily involved in the biotransformation of EFV, which could explain this interindividual variability.

Objective: This study aimed to examine the influence of the *c.516G>T* and *c.785A>G* genetic variants of the *CYP2B6* gene on the variability of plasma EFV levels in people living with HIV-1 (PLHIV) in Mali.

Methods: This was an analytical, retrospective observational study, conducted from November 2025 to April 2026. The study included 57 people living with HIV (PLHIV) receiving EFV 600 mg treatment. Plasma EFV concentrations were measured by liquid chromatography-mass spectrometry, while genotyping for the *CYP2B6 c.516G>T* and *c.785A>G* polymorphisms was performed by PCR-RFLP. Statistical analyses were performed using non-parametric tests and Pearson's chi-squared test with a statistical threshold set at $p < 0.05$.

Results: We observed a female predominance (56.1%). The median plasma EFV concentration was 928 ng/mL (range 17–6696 ng/mL). Therapeutic underexposure (< 1000 ng/mL) was observed in 54.4% of participants, while 8.8% experienced overexposure (> 4000 ng/mL). The GT genotype of the *CYP2B6 c.516G>T* polymorphism was the most frequent (54.5%), while the AG genotype predominated for the *c.785A>G* polymorphism (50.0%). A statistically significant association was observed between the *CYP2B6 c.785A>G* polymorphism and plasma EFV concentrations ($p = 0.044$), unlike the *c.516G>T* polymorphism, for which the association was not significant ($p = 0.271$).

Conclusion: Our study has demonstrated the effect of the *CYP2B6* gene on plasma EFV levels in people living with HIV. The *c.785A>G* variant appears to be a major factor in the interindividual variability of EFV. These data support the relevance of pharmacogenetics in improving patient management.

Keywords: HIV-1, Efavirenz, *CYP2B6*, Pharmacogenetics, Pharmacokinetics, Mali.

1 Introduction

L'avènement des traitements antirétroviraux combinés (TARc) a considérablement amélioré le pronostic de l'infection par le VIH. En réduisant la morbidité et la mortalité, ces traitements ont permis de faire du VIH une affection chronique chez les patients recevant un traitement et y adhérant (1–3). À l'inverse, l'émergence de nouveaux défis liés à leur utilisation pourrait compromettre l'atteinte des objectifs fixés par les organisations internationales, telles que l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (2,4). Les difficultés susceptibles de réduire l'efficacité des traitements antirétroviraux sont particulièrement préoccupantes dans les régions à ressources limitées, notamment en Afrique subsaharienne, où se concentrent près de 70 % des cas d'infection par le VIH-1 dans le monde (2). Dans ce contexte, plusieurs initiatives ont été mises en œuvre afin d'améliorer l'accès aux traitements antirétroviraux. Au Mali, le Plan Stratégique National (PSN) de lutte contre le VIH/sida, adopté en 2018, visait notamment à renforcer la couverture thérapeutique afin d'atteindre les objectifs fixés par l'ONUSIDA (5). Cette stratégie prévoyait également l'introduction d'un nouveau schéma thérapeutique à base de dolutégravir. Néanmoins, environ 85,3 % des personnes vivant avec le VIH recevaient encore un traitement antirétroviral comportant de l'éfavirenz (EFV) (6).

L'EFV est un antirétroviral largement utilisé dans le traitement de l'infection par le VIH-1. Il appartient à la classe des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI). Son efficacité, sa longue demi-vie et la possibilité d'une prise quotidienne unique, à la dose de 600 mg, constituent des avantages susceptibles de favoriser l'observance thérapeutique. Pendant près de vingt ans, l'OMS l'a recommandé parmi les traitements de première intention contre l'infection par le VIH (3,7).

Malgré son efficacité prouvée, des échecs virologiques ont été observés chez les patients traités par l'EFV. Au Mali, leur fréquence a été estimée à 19,5 % (6). De plus, de nombreuses études ont rapporté une variabilité interindividuelle considérable de la pharmacocinétique de cette molécule (8,9). Ainsi, l'administration d'une dose fixe à tous les patients peut entraîner des différences significatives dans les concentrations plasmatiques du médicament. Des travaux antérieurs ont mis en évidence l'existence d'une relation entre les concentrations plasmatiques de l'EFV, l'efficacité du traitement et la survenue d'effets indésirables. L'intervalle thérapeutique généralement admis se situe entre 1 et 4 mg/L (10). Une concentration inférieure à 1 mg/L est associée à un risque accru d'échec virologique et de sélection de variants viraux résistants. À l'inverse, une concentration supérieure à 4 mg/L est associée à une augmentation de la fréquence des effets indésirables, notamment des troubles neuropsychiatriques tels que

l'insomnie, les vertiges et les troubles de l'humeur (11). Face aux limites observées avec les schémas thérapeutiques à base d'EFV dans plusieurs pays, notamment en Afrique subsaharienne, l'OMS a recommandé le dolutégravir comme traitement préférentiel de première intention contre le VIH (2,12,13).

La variabilité interindividuelle des concentrations plasmatiques d'EFV peut être influencée par plusieurs facteurs, tels que l'observance du traitement, le poids corporel, les interactions médicamenteuses, les comorbidités, l'origine ethnique et les polymorphismes génétiques affectant les enzymes impliquées dans le métabolisme des médicaments, en particulier celles appartenant à la superfamille des cytochromes P450 (1–3,14,15). Dans cette perspective, le suivi thérapeutique pharmacologique de l'EFV, fondé sur la mesure de ses concentrations plasmatiques, a été proposé afin d'optimiser la prise en charge des patients vivant avec le VIH-1 (3,11,16). L'EFV est principalement métabolisé dans le foie par le *CYP2B6*. Jusqu'à 70 % de la molécule seraient transformés en 8-hydroxyéfavirenz (8OH-EFV), son principal métabolite (14). Le gène *CYP2B6* est hautement polymorphe chez l'être humain, avec une centaine de variations génétiques documentées, et est associé à une variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique documentées. Ces polymorphismes génétiques, servent de déterminants majeurs pour la variabilité entre individus de la pharmacocinétique de l'EFV, et donc peuvent influencer sur son efficacité thérapeutique aussi, que son profil de sécurité (2,3,14). De nombreuses études ont notamment montré l'influence des variations du gène *CYP2B6* sur la cinétique métabolique de plusieurs antirétroviraux, en particulier celle de l'EFV (1,2,14).

Parmi les polymorphismes nucléotidiques simples, ou SNP, du gène *CYP2B6* les plus étudiés, figurent les variants *c.516G>T* **p.Gln172His** (*rs3745274*) et *c.785A>G* **p.Lys262Arg** (*rs2279343*). Ils sont respectivement localisés dans l'exon 4 et l'exon 5. Ils sont susceptibles d'altérer l'activité enzymatique (2,3,14).

Le variant *c.785A>G* (*rs2279343*) a été associé à une diminution de l'activité catalytique de l'enzyme dans certaines études (3,17–19). D'autres travaux ont cependant rapporté une augmentation de cette activité (2). Ces observations divergentes suggèrent que ce polymorphisme pourrait exercer des effets variables sur le métabolisme et les concentrations plasmatiques de l'EFV.

Chez les individus présentant un profil de métaboliseur rapide, la diminution des concentrations plasmatiques de l'EFV pourrait favoriser l'échec virologique et la sélection de variants viraux résistants. À l'inverse, les métaboliseurs lents sont davantage exposés à une accumulation du médicament et à ses effets toxiques (20). Cette toxicité peut altérer la tolérance au traitement, réduire progressivement l'observance thérapeutique et augmenter le risque de perte de suivi.

Une étude réalisée au Mali sur l'influence des variants *c.516G>T* (*rs3745274*) et *c.785A>G* (*rs2279343*) du gène *CYP2B6* sur la réponse virologique et immunologique des personnes vivant avec le VIH a montré que l'hétérozygote *AG* du variant *rs2279343* était associé à une suppression de la charge virale après six mois de traitement. Une augmentation significative du nombre de CD4+ a également été observée chez les porteurs de génotypes hétérozygotes pour les deux variants étudiés (3). Toutefois, cette première étude n'a pas examiné l'influence de ces variations génétiques sur les concentrations plasmatiques de l'EFV.

La présente étude vise donc à évaluer l'influence des polymorphismes *c.516G>T* et *c.785A>G* du gène *CYP2B6* sur les concentrations plasmatiques de l'EFV chez les personnes vivant avec le VIH-1 au Mali. Les résultats obtenus pourraient permettre de mieux comprendre les effets des profils génotypiques de métaboliseurs lents ou rapides sur la réponse thérapeutique. Ils pourraient également fournir des données utiles à la réalisation d'études cliniques consacrées à l'adaptation personnalisée de la dose d'EFV.

2 Objectif

2.1 Général

Évaluer l'influence des polymorphismes *c.516G>T* et *c.785A>G* du gène *CYP2B6* sur la variabilité des concentrations plasmatiques de l'éfavirenz chez les personnes vivant avec le VIH-1.

2.2 Objectifs spécifiques

- Décrire les caractéristiques sociodémographiques, cliniques et biologiques des participants ;
- Déterminer les fréquences alléliques et génotypiques des polymorphismes *c.516G>T* et *c.785A>G* du gène *CYP2B6* ;
- Établir la répartition des combinaisons génotypiques et des profils de métabolisation associés à ces deux polymorphismes ;
- Mesurer les concentrations plasmatiques de l'EFV dans la population étudiée ;
- Analyser l'association entre les polymorphismes étudiés, les profils génotypiques de métabolisation et les concentrations plasmatiques de l'éfavirenz.

3 Généralités

3.1 Historique du VIH/SIDA

Le Syndrome d'Immunodéficience Acquisée (SIDA) a été identifié pour la première fois en 1981 aux États-Unis chez de jeunes patients présentant des affections opportunistes atypiques, particulièrement une pneumocystose pulmonaire et un sarcome de Kaposi (21). Deux ans plus tard, en 1983, l'équipe dirigée par Luc Montagnier à l'Institut Pasteur de Paris a isolé l'agent viral responsable de cette maladie, ultérieurement désigné sous le nom de virus de l'immunodéficience humaine (VIH). Depuis son identification, l'infection par le VIH constitue un enjeu majeur de santé publique à l'échelle mondiale (21,22).

Selon les estimations de l'OMS et de l'ONUSIDA, plusieurs millions de personnes vivent toujours avec le VIH dans le monde. L'Afrique subsaharienne reste la région la plus impactée, regroupant près des deux tiers des personnes vivant avec le VIH (PVVIH). Au Mali, en dépit des stratégies nationales mises en œuvre pour lutter contre cette infection, le VIH continue de représenter un défi majeur pour le dispositif sanitaire (4).

L'instauration du traitement antirétroviral combiné (TARc), à partir de 1996, a considérablement amélioré le pronostic de l'infection par le VIH. Reposant principalement sur l'association de trois molécules antirétrovirales, ce traitement a permis de réduire de manière importante la morbidité et la mortalité liées au SIDA. Grâce à ces progrès thérapeutiques, l'infection par le VIH est désormais considérée comme une maladie chronique, et les PVVIH bénéficient d'une espérance de vie nettement améliorée (23).

3.2 Virologie du VIH

Le VIH appartient à la famille des *Retroviridae* et au genre *Lentivirus*. Il s'agit d'un rétrovirus enveloppé dont le matériel génétique est constitué de deux copies identiques d'ARN monocaténaire de polarité positive, transformées en ADN par rétrotranscription au cours du cycle viral (24). Deux principaux types de VIH sont reconnus :

- le VIH-1, responsable de la grande majorité des infections dans le monde ;
- le VIH-2, principalement observé en Afrique de l'Ouest et généralement associé à une progression plus lente de l'infection.

Sur le plan structural, le VIH comporte notamment les éléments suivants (Figure 1):

- une enveloppe lipidique renfermant les glycoprotéines virales gp120 et gp41 ;

- une enveloppe interne (capside) principalement constituée de la protéine p24 ;
- un génome viral formé de deux molécules d'ARN simple brin ;
- des enzymes essentielles à la réplication virale, en particulier la transcriptase inverse, l'intégrase (enzyme d'intégration) et la protéase (24).

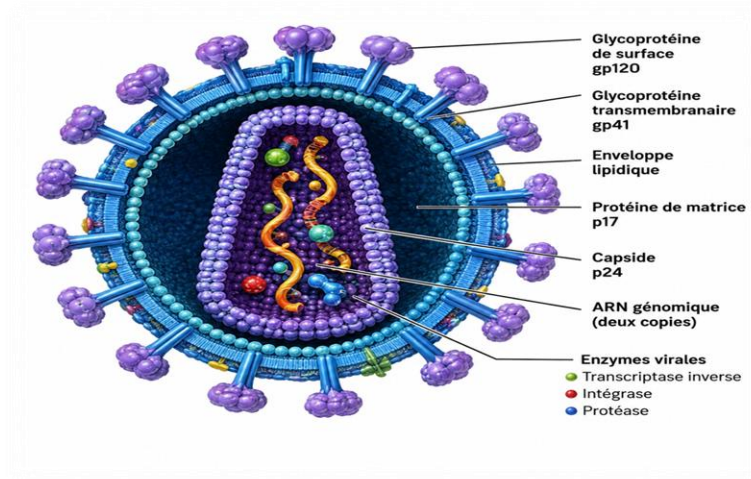


Figure 1: Structure de la particule virale du VIH (25,26).

Le cycle de réplication du VIH commence par la fixation du virus au récepteur CD4 présent à la surface des lymphocytes T auxiliaires, puis par sa liaison à l'un des corécepteurs CCR5 ou CXCR4 (Figure 2). Après la fusion des membranes virales et cellulaires, la transcriptase inverse convertit l'ARN viral en ADN. Celui-ci s'intègre ensuite au génome de la cellule hôte, permettant la synthèse et l'assemblage de nouvelles particules virales (virions) (27–29).

3.3 Physiopathologie de l'infection à VIH

Le VIH cible essentiellement les lymphocytes T CD4+, qui jouent un rôle central dans la coordination de la réponse immunitaire. L'altération et la diminution progressive de ces cellules affaiblissent les défenses de l'organisme, augmentant ainsi le risque d'infections opportunistes et de certaines affections cancéreuses. En l'absence de traitement, l'évolution naturelle de l'infection comporte généralement trois étapes :

- la primo-infection ;
- la phase chronique, souvent asymptomatique ;
- le stade du SIDA.

La primo-infection se caractérise par une réplication virale rapide, accompagnée d'une augmentation importante de la charge virale. Après cette phase initiale, le virus persiste dans

l'organisme sous forme chronique. L'immunosuppression sévère résulte de la diminution progressive du nombre de lymphocytes CD4 en l'absence de traitement (30,31). La quantification de la charge virale et la détermination du taux de lymphocytes T CD4 constituent un élément essentiel du suivi biologique des personnes vivant avec le VIH.

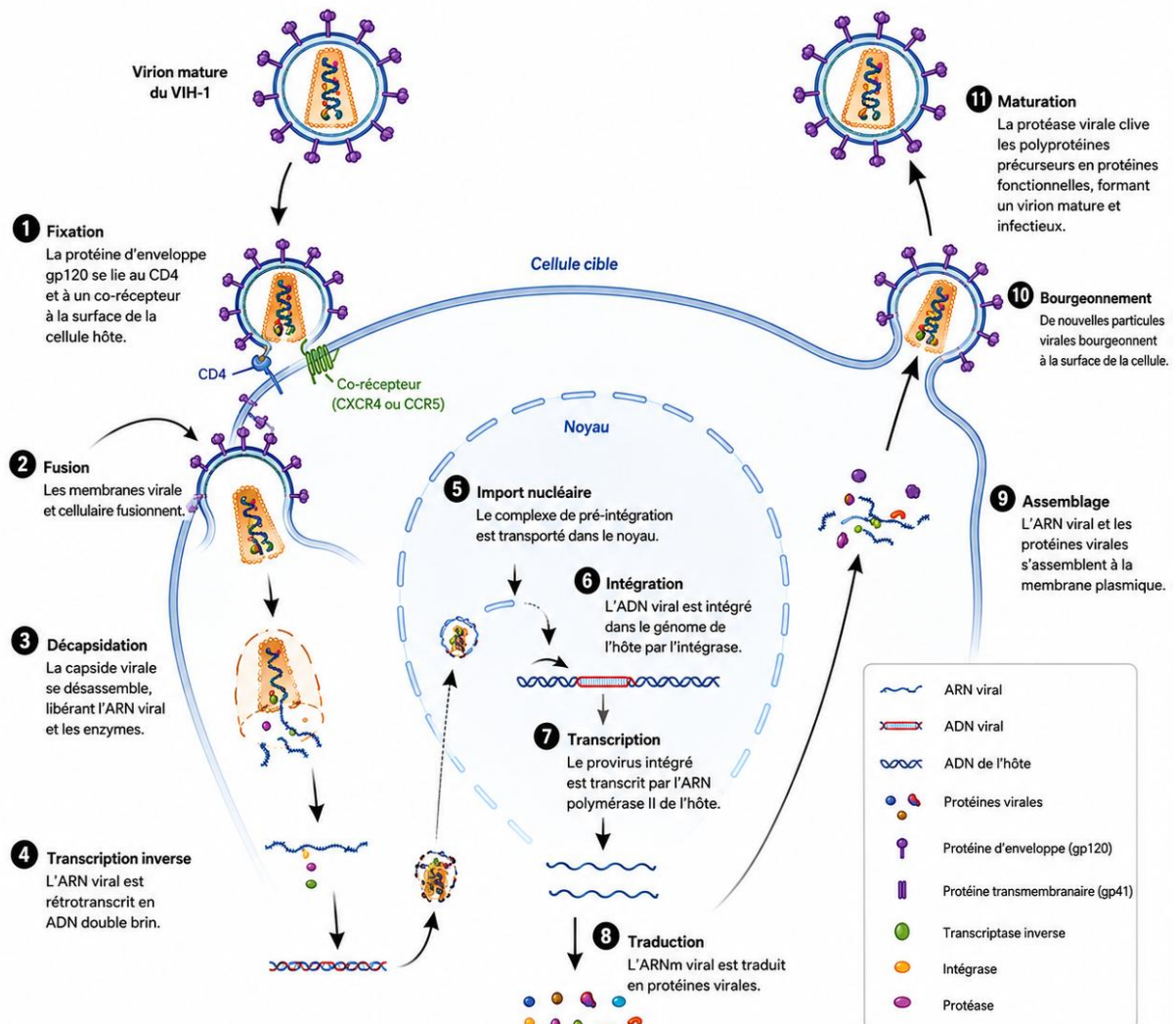


Figure 2 : Vue d'ensemble schématique du cycle de réplication du VIH-1 (29).

Diagnostic biologique du VIH

Le dépistage du VIH repose principalement sur des méthodes sérologiques et moléculaires. En pratique, la première étape diagnostique consiste en un test sérologique ; ces tests détectent les anticorps spécifiques dirigés contre le VIH et, dans le cas des tests de quatrième génération, l'antigène viral p24. La détection simultanée des anticorps anti-VIH et de l'antigène p24 accélère le diagnostic en réduisant la période de latence sérologique (32). Dans les pays en voie

de développement, on fait souvent usage des tests rapides de diagnostic en raison de leur commodité et de leur rapidité, voire d'une rapidité excessive. La charge virale du VIH correspond à la quantité d'ARN viral présente dans le plasma (33). Il s'agit d'un marqueur essentiel pour évaluer l'efficacité du traitement et la rapidité de réplication du virus. Par ailleurs, le comptage des lymphocytes CD4 permet d'évaluer l'état immunitaire du patient et son risque d'infections opportunistes (33).

3.4 Traitements antirétroviraux

Les antirétroviraux (ARV) sont des médicaments capables d'inhiber différentes étapes du cycle de réplication du VIH. L'objectif principal du traitement antirétroviral est d'obtenir une suppression durable de la réplication virale afin d'améliorer la survie et la qualité de vie des patients. Les principales classes d'antirétroviraux comprennent (34) :

- Les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) ;
- Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) ;
- Les inhibiteurs de protéase ;
- Les inhibiteurs intégrase ;
- Les inhibiteurs d'entrée.

La thérapie antirétrovirale combinée repose généralement sur l'association de trois molécules afin de limiter l'apparition de résistances virales (**Figure 3**) (35,36).

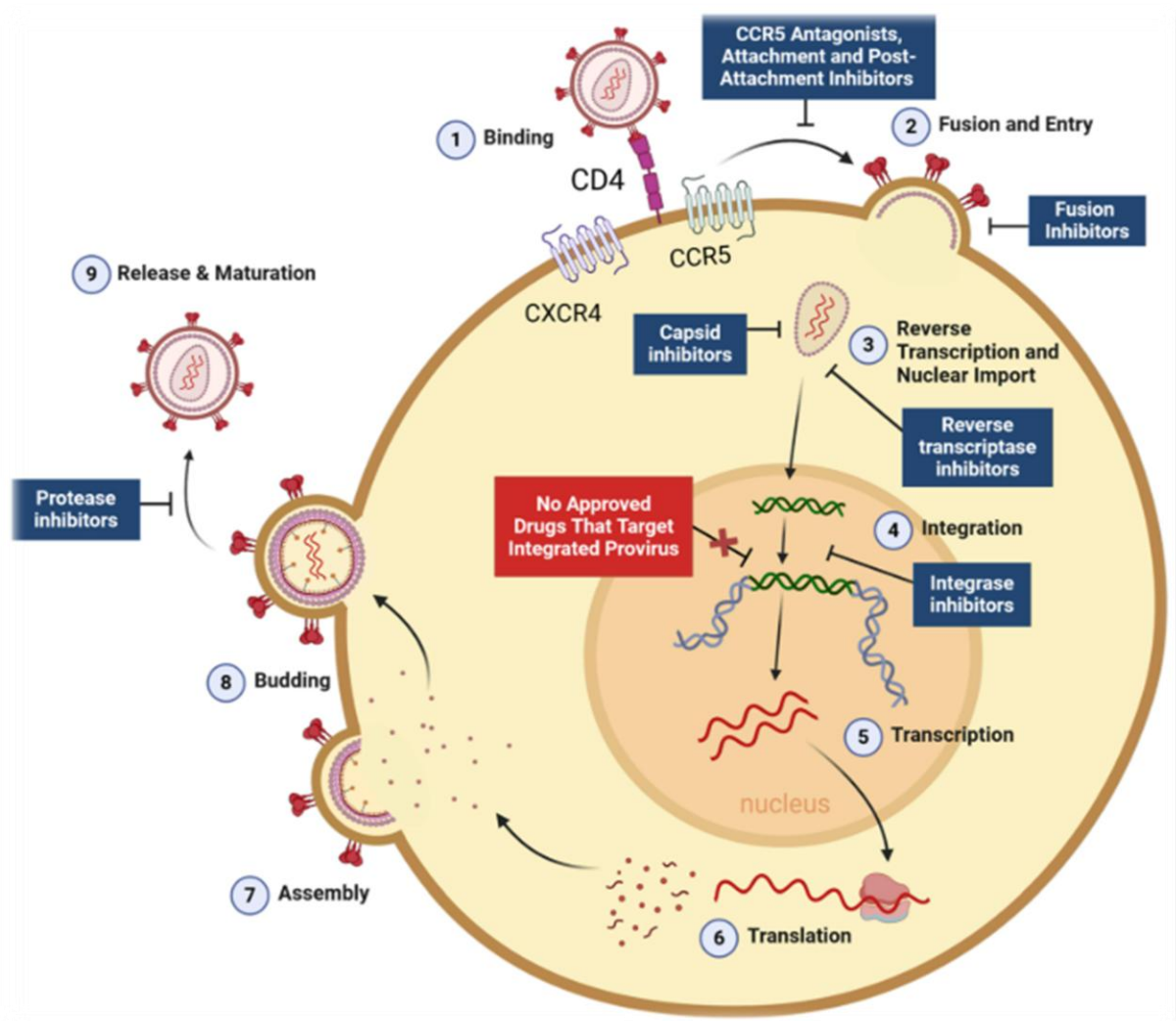


Figure 3: Cibles des médicaments antirétroviraux dans le cycle de vie du VIH (31).

3.4.1 Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse

Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) agissent en se fixant directement sur la transcriptase inverse du VIH, inhibant ainsi la synthèse de l'ADN viral (37,38).

Parmi les principaux INNTI figurent :

- L'éfavirenz ;
- La névirapine ;
- L'étravirine ;
- La rilpivirine.

Pendant de nombreuses années, l'éfavirenz a constitué l'un des traitements de première ligne les plus utilisés dans les pays africains (39).

- L'éfavirenz

L'éfavirenz (EFV) est un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse largement utilisé dans le traitement de l'infection à VIH-1. Il possède une longue demi-vie permettant une administration quotidienne unique.

➤ Mécanisme d'action

L'EFV inhibe la transcriptase inverse du VIH-1 en se liant à un site allostérique de l'enzyme. Cette fixation modifie la structure enzymatique et empêche la synthèse de l'ADN viral (**Figure 4**).

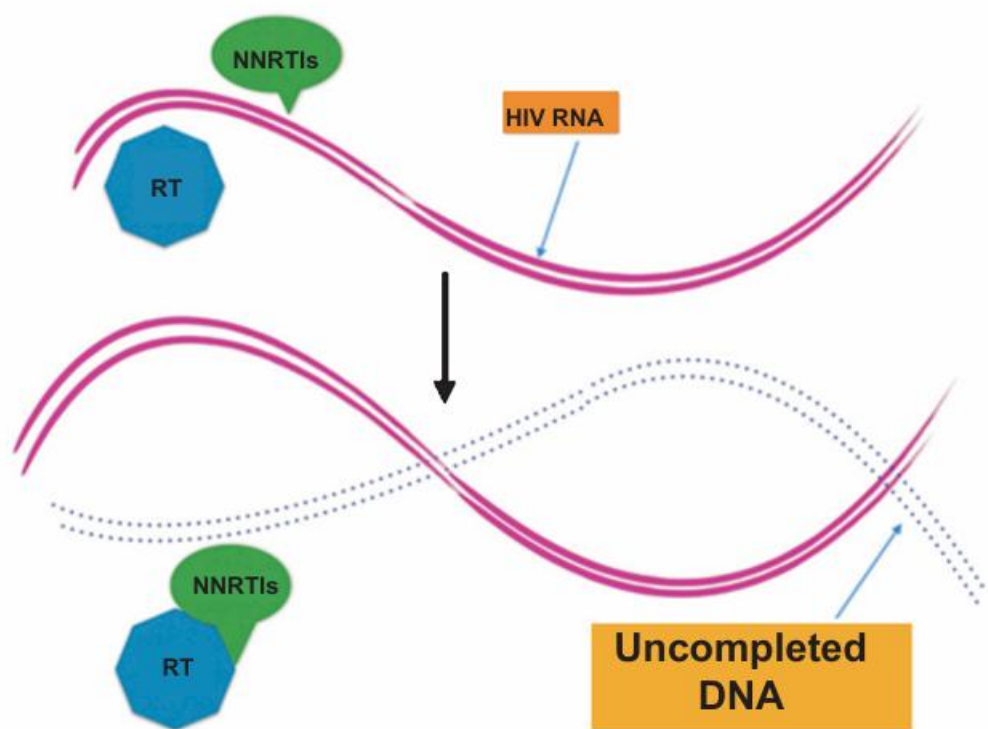


Figure 5 : Mode d'action d'un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (40).

➤ **Pharmacocinétique de l'EFV**

Après administration orale, l'EFV est rapidement absorbé et fortement lié aux protéines plasmatiques. Il présente une bonne diffusion tissulaire, notamment au niveau du système nerveux central.

L'EFV est principalement métabolisé dans le foie par le cytochrome P450, particulièrement l'enzyme CYP2B6. Son principal métabolite est le l'8-hydroxyéfavirenz (14,18).

➤ **Effets indésirables de l'EFV**

Les effets secondaires les plus fréquemment rapportés avec l'EFV sont :

- Les vertiges ;
- L'insomnie ;
- Les cauchemars ;
- Les troubles de l'humeur ;
- Les hallucinations ;
- Les atteintes hépatiques.

La toxicité neuropsychiatrique constitue l'un des principaux facteurs limitant l'utilisation de cette molécule (14).

➤ **Fenêtre thérapeutique**

La concentration plasmatique thérapeutique de l'EFV est généralement comprise entre 1000 et 4000 ng/mL (14,18).

- Des concentrations inférieures à 1000 ng/mL sont associées à un risque d'échec thérapeutique ;
- Des concentrations supérieures à 4000 ng/mL augmentent le risque de toxicité.

3.4.2 Transition vers les schémas à base de dolutégravir (Lamivudine-Tenofovir-Dolutégravir)

En raison des limites associées à l'EFV, notamment la faible barrière génétique à la résistance et les effets secondaires neuropsychiatriques, l'OMS a progressivement recommandé l'utilisation des schémas thérapeutiques à base de dolutégravir (DTG) (39).

Le DTG présente plusieurs avantages :

- Meilleure efficacité virologique ;
- Suppression virale plus rapide ;
- Meilleure tolérance globale ;
- Barrière génétique élevée à la résistance.

Cependant, l'EFV demeure encore utilisé dans plusieurs pays africains, notamment chez les patients déjà stabilisés sous traitement ou dans certains contextes de ressources limitées (39).

3.5 Pharmacogénétique

La pharmacogénétique étudie l'influence des variations génétiques sur la réponse individuelle aux médicaments. Cette discipline vise à comprendre pourquoi certains patients répondent différemment à un même traitement. Les variations génétiques peuvent modifier l'absorption des médicaments, leur distribution, leur métabolisme et leur élimination (3,41). La pharmacogénétique constitue l'un des fondements de la médecine personnalisée.

3.5.1 Cytochromes P450

Les cytochromes P450 constituent une superfamille d'enzymes impliquées dans la phase I du métabolisme de nombreux médicaments. Ces enzymes sont principalement localisées dans le foie et participent aux réactions d'oxydation permettant la biotransformation des substances médicamenteuses et de beaucoup d'autres composés exogènes et endogènes (41). Leur nom provient de leur localisation cellulaire et de leur capacité à absorber la lumière à une longueur d'onde de 450 nm lorsqu'ils sont liés au monoxyde de carbone à l'état réduit (41).

Cette superfamille enzymatique est organisée en plusieurs familles et sous-familles selon leur degré d'homologie génétique, telles que CYP1, CYP2 et CYP3. Chez l'Homme, les cytochromes P450 regroupent 18 familles, 41 sous-familles codantes et environ 57 gènes impliqués dans le métabolisme des xénobiotiques et de nombreuses substances physiologiques (Alzahrani et Rajendran, 2020). Parmi les principaux cytochromes impliqués dans le métabolisme des antirétroviraux figurent :

- CYP3A4;
- CYP2D6;
- CYP2C19;
- **CYP2B6.**

➤ Le gène *CYP2B6*

Le gène *CYP2B6* (Cytochrome P450 Family 2 Subfamily B Member 6) est localisé sur le chromosome 19. Il code pour une enzyme hépatique jouant un rôle majeur dans le métabolisme de plusieurs médicaments, notamment l'éfavirenz (42). Le gène *CYP2B6* est caractérisé par une forte polymorphie génétique. Plus d'une centaine de variants génétiques ont été décrits (43). Les polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs) du *CYP2B6* peuvent modifier l'activité

enzymatique et influencer les concentrations plasmatiques des médicaments. Parmi les variants les plus étudiés figurent : *c.516G>T*, *c.785A>G* et *c.983T>C* (**Tableau I**).

Le polymorphisme *c.516G>T* entraîne une substitution de glutamine par histidine au niveau de l'enzyme, tandis que le polymorphisme *c.785A>G* entraîne une substitution lysine-arginine. Ces variants peuvent être regroupés sous forme d'haplotypes (44).

Tableau I: Principaux polymorphismes du gène *CYP2B6* (43)

Gène	Composition principale des SNP	Changement en acide aminé	Effet fonctionnel
<i>CYP2B6*4</i>	<i>785A>G (rs2279343)</i>	K262R	Activité normale ou augmentée
<i>CYP2B6*5</i>	<i>1459C>T (rs3211371)</i>	R487C	Activité réduite
<i>CYP2B6*9</i>	<i>516G>T</i> uniquement	Q172H	Activité réduite
<i>CYP2B6*18</i>	<i>983T>C (rs28399499)</i>	I328T	Fonction sévèrement réduite

Les fréquences de ces polymorphismes sont particulièrement élevées dans les populations africaines (43).

➤ Structure du ***CYP2B6***

Le gène *CYP2B6* est localisé sur le chromosome 19 (**Figure 5**), au sein du cluster des gènes de la sous-famille CYP2, à proximité du pseudogène *CYP2B7* avec lequel il partage une forte homologie de séquence (45). Ce gène mesure environ 28 kb et comprend 9 exons ainsi que 8 introns.

L'enzyme *CYP2B6* est principalement exprimée dans le foie, mais également dans d'autres tissus tels que la muqueuse nasale, la trachée, les poumons et le cerveau. Elle intervient dans le métabolisme de nombreux xénobiotiques et médicaments thérapeutiques, notamment le bupropion, le cyclophosphamide, l'éfavirenz et la névirapine (46).

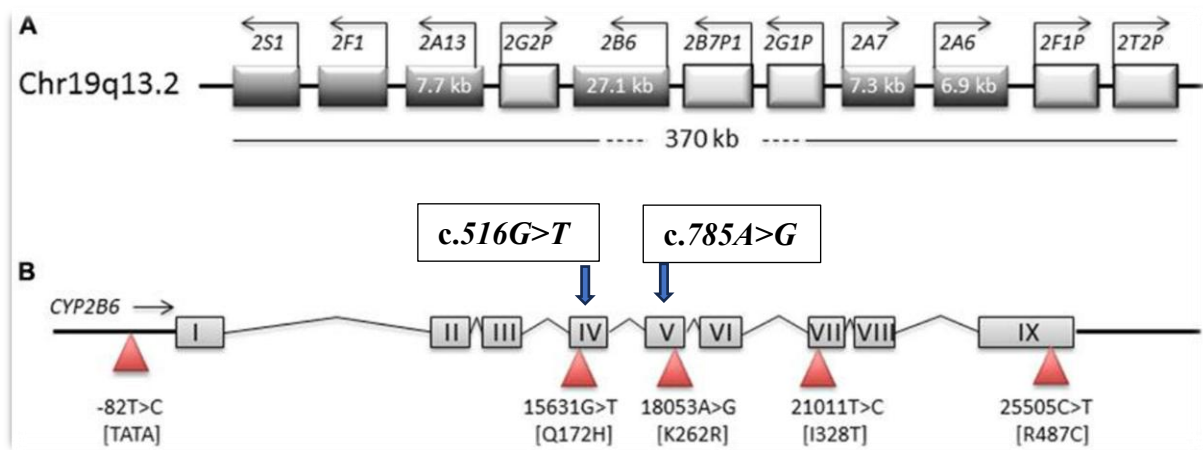


Figure 6 : Structure du gène *CYP2B6* localisé sur le chromosome 19

(<https://ghr.nlm.nih.gov/gene/CYP2B6>).

➤ Variabilité pharmacocinétique de l'EFV

L'EFV présente une importante variabilité interindividuelle de ses concentrations plasmatiques. Cette variabilité peut être influencée par plusieurs facteurs tels que les polymorphismes génétiques, l'âge, le poids, le sexe, l'observance thérapeutique, les interactions médicamenteuses, mais aussi les comorbidités (47,48).

➤ Influence du polymorphisme *c.516G>T*

Le polymorphisme *CYP2B6 c.516G>T* est associé à une diminution de l'activité enzymatique du *CYP2B6*. Les individus porteurs du génotype *TT* présentent généralement des concentrations plasmatiques plus élevées d'EFV comparativement aux individus *GG*. Cette accumulation d'EFV peut favoriser la survenue d'effets secondaires neuropsychiatriques (44).

➤ Influence du polymorphisme *c.785A>G*

Le polymorphisme *c.785A>G* affecte également le métabolisme de l'EFV (**Figure 6**). Des études ont rapporté une baisse de l'activité enzymatique chez les patients porteurs homozygotes du variant *c.785A>G* alors que d'autres suggèrent l'effet inverse. Ces résultats, qui vont à l'encontre les uns des autres, témoignent de la complexité des voies pharmacogénétiques concernées (49).

➤ Polymorphismes et conséquences cliniques

Les polymorphismes du *CYP2B6* peuvent avoir plusieurs implications cliniques :

- échec virologique ;

- développement de résistance virale ;
- toxicité neuropsychiatrique ;
- mauvaise observance thérapeutique.

Les métaboliseurs lents ont un risque plus élevé de surexposition à l'EFV, alors que les métaboliseurs ultrarapides peuvent présenter des concentrations insuffisantes (7).

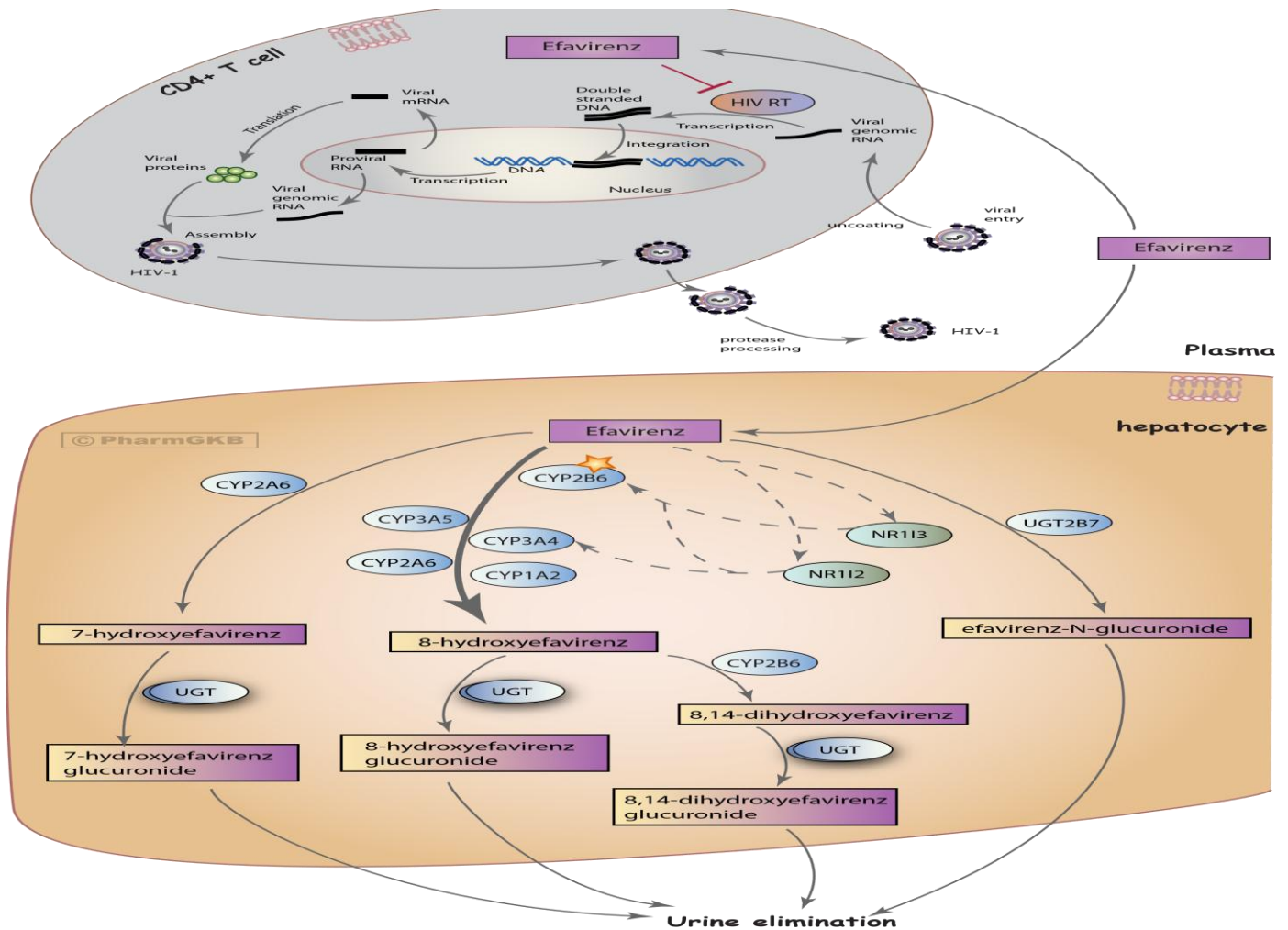


Figure 7: Représentation schématique du métabolisme de l'Éfavirenz et de son mécanisme d'action contre le VIH (<https://www.pharmgkb.org/pathway/PA166123135>).

➤ **Intérêt clinique de la détermination du génotype *CYP2B6***

Le génotypage des polymorphismes du *CYP2B6* permettrait d'adapter les traitements antirétroviraux en fonction du profil génotypique de chaque PVVIH. Chez les patients métaboliseurs lents, une réduction de la dose pourrait permettre de limiter les effets toxiques sans compromettre l'efficacité virologique (3,46,50).

L'enzyme *CYP2B6* intervient dans le métabolisme de plusieurs molécules :

- L'efavirenz ;
- La névirapine ;
- La methadone ;
- Certains anticancéreux.

➤ **Méthodes de génotypage des polymorphismes nucléotidiques simples du gène *CYP2B6***

Il existe plusieurs techniques de génotypage des polymorphismes nucléotidiques simples (SNPs) du gène *CYP2B6*. Parmi elles, les plus utilisées comprennent la PCR-RFLP (*Restriction Fragment Length Polymorphism*), la discrimination allélique par PCR en temps réel et le séquençage (44,51).

Une étude comparative de ces trois techniques dans la détection du polymorphisme c.516G>T du gène *CYP2B6* a mis en évidence une concordance de 100% entre elles, confirmant ainsi leur fiabilité et leur reproductibilité. Cependant, leur coût variait : le séquençage était la méthode la plus coûteuse, suivi de la PCR en temps réel, tandis que la PCR-RFLP représentait la technique la plus économique (52).

Récemment, les avancées dans le développement de technologies plus sophistiquées, telles que la spectrométrie de masse MALDI-TOF/MS, ont été reconnues pour leur haute sensibilité, leur haut débit et leur efficacité dans le dépistage rapide des SNPs et l'identification de nouveaux polymorphismes génétiques (53).

➤ **Importance du suivi thérapeutique pharmacologique (TDM) dans le traitement à base d'efavirenz (EFV)**

Le suivi thérapeutique pharmacologique (TDM) consiste à mesurer les concentrations des médicaments dans le sang afin d'adapter les doses thérapeutiques. Cette approche permet d'optimiser et d'individualiser les traitements médicamenteux chez les patients (54).

Dans la prise en charge du VIH, le TDM contribue à optimiser l'efficacité des antirétroviraux tout en réduisant leurs effets indésirables. L'éfavirenz (EFV) est particulièrement adapté au TDM en raison de la relation entre ses concentrations plasmatiques, son efficacité thérapeutique et sa toxicité (54).

Les polymorphismes du gène *CYP2B6* peuvent ralentir le métabolisme de l'EFV et provoquer des concentrations plasmatiques élevées associées à une toxicité neurologique accrue. Chez certains porteurs du variant *CYP2B6*6*, une réduction de la dose d'EFV de 600 mg à 200 mg a permis de maintenir des concentrations thérapeutiques normales et de limiter les effets neuropsychologiques(14,46).

Des concentrations plasmatiques d'EFV supérieures à 4000 µg/L augmentent le risque d'effets secondaires du système nerveux central, tandis que des concentrations inférieures à 1000 µg/L favorisent le risque d'échec thérapeutique et de résistance médicamenteuse (46). Plusieurs techniques analytiques sont utilisées pour le dosage de l'EFV, notamment la HPLC, la RP-HPLC, la LC-MS/MS, la HPTLC et l'électrophorèse capillaire (1,8,55,56).

Cependant, ces méthodes nécessitent des équipements coûteux, une préparation complexe des échantillons et un personnel hautement qualifié, limitant leur utilisation dans les pays à ressources limitées (57).

Des méthodes alternatives, comme les immuno-dosages automatisés ainsi que l'utilisation de gouttes de sang séché, ont été développées pour simplifier la quantification de l'EFV et améliorer l'accessibilité du suivi thérapeutique (54).

3.6 Synthèse et justification de l'étude

Malgré l'introduction progressive des traitements ARV à base de dolutégravir, l'EFV demeure largement utilisé dans plusieurs pays africains. Son utilisation présente toutefois une difficulté majeure, liée à la forte variabilité des concentrations plasmatiques observée d'un patient à l'autre. Les polymorphismes du gène *CYP2B6*, notamment *c.516G>T* et *c.785A>G*, pourraient jouer un rôle déterminant dans cette variabilité pharmacocinétique. Or, les données relatives à leur influence sur l'exposition plasmatique à l'EFV restent limitées en Afrique, particulièrement au Mali. La présente étude vise donc à évaluer l'effet de ces variants génétiques sur les concentrations plasmatiques de l'EFV chez les PVVIH-1 au Mali. Les résultats obtenus pourraient contribuer, à terme, au développement d'une prise en charge thérapeutique plus personnalisée et mieux adaptée aux caractéristiques des patients.

4 Matériel et Méthodes

Cette étude a été initiée dans le cadre du projet pharmacogénétique des ARV financé par l'Union Européenne à travers le programme *Traning Mobility Action 2016, Career Development Fellowship*. Le protocole a été approuvé par le comité d'éthique de la Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie/Faculté de Pharmacie de Bamako, sous la référence N°2018/113/CE/FMPOS. L'étude a été réalisée conformément aux principes de la déclaration d'Helsinki et aux lignes directrices de l'Union Européenne relatives aux bonnes pratiques cliniques.

4.1 Sites d'étude

L'étude s'est déroulée dans les structures suivantes :

- le Service des maladies infectieuses et tropicales du Centre hospitalier universitaire (CHU) du Point G, à Bamako, ainsi que le Centre d'écoute, de soins, d'animation et de conseil des personnes vivant avec le VIH (CESAC) de Bamako, pour le recrutement et le suivi des participants ;
- le Centre de Recherche et de Formations sur les Pathologies Moléculaires, pour l'extraction de l'ADN et le géotypage des échantillons ;
- le Laboratoire de Pharmacocinétique et de Pharmacogénétique de l'Université de Turin et le Laboratoire de biologie moléculaire de l'Hôpital Amedeo di Savoia, ASLTO2, Turin en Italie, pour la mesure des concentrations de l'éfavirenz.

4.2 Type et période de l'étude

Il s'agit d'une étude observationnelle, analytique et rétrospective, réalisée à partir de données antérieurement recueillies et d'échantillons biologiques. Elle visait à évaluer l'influence des polymorphismes du gène *CYP2B6* sur la variabilité des concentrations plasmatiques de l'éfavirenz chez les personnes vivant avec le VIH-1 au Mali. L'étude s'est déroulée de novembre 2025 à avril 2026.

4.3 Recrutement des participants

Avant leur inclusion dans le projet initial, les participants avaient reçu des explications complètes et détaillées sur les objectifs, les procédures, les bénéfices attendus et les contraintes de l'étude. Ils avaient ensuite été invités à signer librement un formulaire de consentement éclairé. Il leur avait été précisé que leur refus de participer n'aurait aucune conséquence sur la qualité de leur prise en charge médicale. Les données sociodémographiques, cliniques et biologiques avaient été recueillies à partir des dossiers médicaux et des fiches de suivi. Des

prélèvements sanguins avaient également été effectués pour les analyses pharmacocinétiques et pharmacologiques.

4.3.1 Critères d'inclusion

Ont été incluses dans l'étude les personnes répondant aux critères suivants :

- être infecté par le VIH1 ;
- être âgé de 18 à 75 ans ;
- recevoir depuis au moins six mois un traitement associant l'EFV à 600 mg, le ténofovir à 300 mg et la lamivudine à 300 mg ;
- avoir fourni un consentement libre et éclairé pour participer à l'étude ;
- avoir accepté de fournir les échantillons biologiques requis ;
- avoir autorisé l'utilisation ultérieure des échantillons biologiques dans le cadre de la recherche.

4.3.2 Critères de non-inclusion

N'ont pas été incluses dans l'étude les personnes présentant au moins l'une des caractéristiques suivantes :

- refus de participer à l'étude ou de signer le formulaire de consentement éclairé ;
- infection par le VIH-2 ;
- co-infection par le VIH-1 et le VIH-2 ;
- co-infection tuberculose ;
- âge inférieur à 18 ans ou supérieur à 75 ans ;
- prise d'un médicament autre que les antirétroviraux et susceptible d'interagir avec leur métabolisme, notamment un traitement antipaludique au cours de la semaine précédant le prélèvement ;
- présence d'une maladie rénale ou hépatique chronique ;
- consommation chronique ou excessive d'alcool ;
- présence d'une affection médicale ou toute autre circonstance susceptible, selon l'avis du médecin investigateur, de compromettre la participation à l'étude ou l'interprétation des résultats.

4.4 Taille de l'échantillon

Nous avons mené une étude pilote avec l'échantillon de convenance. Nous n'avons pas calculé la taille de l'échantillon au préalable. Nous avons déterminé la taille de l'échantillon selon les ressources financières disponibles, selon la disponibilité des données et des échantillons biologiques conservés. En tout, l'étude a inclus 57 personnes vivant avec le VIH.

4.5 Prélèvement sanguin

Après l'obtention du consentement éclairé, deux prélèvements de 5 ml de sang veineux ont été réalisés chez chaque participant dans deux tubes distincts : un tube contenant de l'EDTA et un tube hépariné. Le prélèvement sur tube hépariné a été effectué entre 9 à 17 heures après la dernière prise du traitement ARV afin de mesurer la concentration plasmatique de l'éfavirenz. Le sang prélevé dans le tube EDTA a été conservé à -20 °C jusqu'à l'extraction d'ADN et à la réalisation des analyses génétiques.

Le prélèvement recueilli sur tube hépariné a été centrifugé à 3 000 tr/min à 4 °C, pendant 10 minutes. Après centrifugation, 100 µl de plasma ont été déposés sur un filtre en fibres de verre fourni par Laboratori Biomicon S.r.l. (Italie), afin de préparer des tâches de plasma séché, ou *dried plasma spots* (DPS). Les DPS ont été séchés à température ambiante pendant 10 minutes, puis placés à 58 °C pendant 30 minutes afin d'assurer l'inactivation du VIH et de compléter le séchage.

Les échantillons ont été acheminés vers le Laboratoire de pharmacocinétique et de pharmacogénétique de l'Université de Turin et le Laboratoire de biologie moléculaire de l'Hôpital Amedeo di Savoia, ASL TO2, à Turin, en Italie. À leur réception, ils ont été conservés à -20 °C jusqu'à leur analyse, réalisée dans un délai maximal de trois mois après le prélèvement. Pour l'extraction de l'éfavirenz à partir du plasma, une méthode de précipitation des protéines a été utilisée selon les étapes suivantes :

- transférer 100 µL de plasma dans un microtube ;
- ajouter du standard interne ;
- ajouter 300 µL d'acétonitrile ;
- homogénéiser au vortex ;
- centrifuger à 12 000 x g pendant 10 minutes ;
- récupérer le surnageant destiné au dosage de l'EFV.

4.6 Extraction de l'ADN génomique

Le kit d'extraction *Puregene Qiagen* a été utilisé pour extraire l'ADN génomique à partir des leucocytes.

4.6.1 Principe :

Après la décongélation des prélèvements, les globules rouges ont été lysés afin d'obtenir un culot enrichi en leucocytes. Ces derniers ont ensuite été soumis à une lyse cellulaire, suivie d'une élimination des protéines et des constituants indésirables. L'ADN a été précipité à

l'isopropanol, lavé avec de l'éthanol à 70 %, remis en solution dans un tampon d'hydratation, puis conservé à basse température jusqu'à la réalisation des analyses moléculaires.

Protocole d'extraction

a. Lyse des globules rouges (GR)

- Décongeler 3 ml de sang total.
- Ajouter la solution de lyse des GR (*Red Blood Cell Lysis Solution, RBC*) jusqu'à l'obtention d'un volume total de 12 ml. Cette solution hypotonique contenait, pour un litre, 10 ml de Tris-HCl à 1M, pH 8,6, 5 ml de MgCl₂ à 1M et 3 ml de NaCl à 3M.
- Homogénéiser le mélange par dix retournements successifs du tube.
- Laisser agir la solution pendant 5 min à température ambiante.
- Centrifuger à 2000 xg pendant 2 min.
- Eliminer le surnageant en conservant le culot leucocytaire ainsi qu'environ 200 ul de liquide résiduel.

b. Lyse des leucocytes (globules blancs) et élimination des protéines

- Ajouter 3 ml de solution de lyse cellulaire (*Cell Lysis Solution, CLS*) contenant du Tris à 1 M, de l'EDTA à 0,5 M et du NaCl à 5 M.
- Homogénéiser vigoureusement au vortex pendant 20 secondes
- Centrifuger à 200 x g pendant 20 secondes.
- Homogénéiser de nouveau au vortex pendant 20 secondes.
- Centrifuger 2 000 x g pendant 5 min ;
- Transférer soigneusement le surnageant dans un nouveau tube Falcon de 15 ml contenant 3 ml d'isopropanol préalablement refroidi, sans entraîner le culot protéique.
- Mélanger par 50 retournements successifs du tube jusqu'à l'apparition de l'ADN sous forme de filaments blanchâtres (méduse) ;
- Centrifuger à 2000 x g pendant 2 min, afin de faire précipiter l'ADN sous forme d'un culot blanc ;
- Éliminer délicatement le surnageant sans perdre le culot d'ADN
- Ajouter 3 ml d'éthanol à 70 %, puis inverser le tube plusieurs fois afin de laver le culot d'ADN.
- Centrifuger à 2000g tour pendant 1 min.
- Éliminer soigneusement le surnageant, puis laisser sécher le culot à l'air libre pendant 5 à 10 min ;
- Ajouter 300 µl de solution d'hydratation de l'ADN (*ADN Hydration Solution*) et s'assurez que la méduse est bien au fond ;

- Incuber au bain-marie à 65 °C pendant une heure afin de faciliter la dissolution de l'ADN.
- Laisser l'ADN se dissoudre à température ambiante pendant une nuit, avec agitation douce.
- Centrifuger brièvement les échantillons, puis les transférer dans les cryotubes.
- Conserver l'ADN à -20 °C pour une utilisation ultérieure ou à +4 °C pour une utilisation à court terme.

4.7 Détermination de la qualité et de la concentration d'ADN

4.7.1 Évaluation de la qualité de l'ADN

L'intégrité de l'ADN extrait a été évaluée par électrophorèse sur gel d'agarose à 2 %. Pour chaque échantillon, 3 à 5 µl de solution d'ADN ont été déposés dans un puits du gel. La migration électrophorétique a été réalisée sous une tension de 100 volts pendant 20 min. Cette analyse a permis de vérifier la présence de l'ADN et de rechercher une éventuelle dégradation survenue au cours de l'extraction ou de la conservation.

4.7.2 Mesure de la concentration et de la pureté de l'ADN

- La concentration de l'ADN extrait a été déterminée par spectrophotométrie, en mesurant l'absorbance à 260 nm des solutions diluées au 1/50, sachant qu'1 unité de densité optique (DO) correspond à 50 ng/ml d'ADN. Le rendement a été calculé en réalisant le rapport entre la quantité d'ADN obtenue et le volume initial de sang total utilisé.
- La pureté de l'ADN a été évaluée à partir du rapport des absorbances mesurées à 260 et 280 nm. Un rapport A_{260}/A_{280} compris entre 1,8 et 2,0 était considéré comme compatible avec un ADN de bonne pureté. Dans les conditions normales, ce rapport se situe entre 1,8 et 2, un rapport de DO 260/280 inférieur à 1,8 est en faveur d'une contamination par les protéines.

4.8 Génotypage des SNPs du gène *CYP2B6*

Le génotypage des polymorphismes *c.785 A>G* et *c.516 G>T* du gène *CYP2B6* a été effectué par la technique PCR-RFLP, en suivant le protocole décrit par Amaldo et al., en 2023 (58). Les séquences des amorces employées et les tailles attendues des produits d'amplification (amplicons) sont indiquées dans le tableau II.

Tableau II : Amorces utilisées pour le génotypage des polymorphismes *c.785 A>G* et *c.516 G>T* du gène *CYP 2B6*

Gènes	Amorces	Tm	Amplicon size (pb)	Références
<i>CYP2B6 c.785A>G</i>	F- 5'-GACAGAAGGATGAGGGAGGAA-3' R- 5'-CTCCCTCTGTCTTTTCATTCTGT-3'	60	640	(59)
<i>CYP2B6 c.516G>T</i>	5'- CTGTGTCCTTGACCTGCTGC -3' 5'- TCCAGGAGCAGAATAGACATGAAG - 3'		578	(60)

4.9 Principe de la PCR RFLP

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) est une technique de biologie moléculaire permettant d'amplifier *in vitro* une région spécifique de l'ADN à partir d'une faible quantité de matériel génétique. Elle repose sur l'utilisation de deux amorces synthétiques, généralement constituées de 18 à 25 nucléotides, qui délimitent la séquence à amplifier. La synthèse des nouveaux fragments d'ADN est assurée par la Taq polymérase, une enzyme thermostable initialement isolée de la bactérie *Thermus aquaticus*.

4.9.1 Préparation des produits de PCR

L'amplification des deux polymorphismes a été réalisée dans un volume réactionnel total de 25 µl. Le mélange de PCR comprenait :

- 100 ng d'ADN génomique ;
- du tampon (*Buffer*) *Invitrogen* 10X à une concentration finale de 1X ;
- 1,5 mM de MgCl₂ ;
- 0,2 mM de chaque dNTP ;
- 10 pM de chaque amorce ;
- 0,2 U de Taq polymérase *Invitrogen* ;
- de l'eau ultrapure en quantité suffisante pour obtenir un volume final de 25 µl.

➤ Conditions d'amplification

Les réactions de PCR ont été effectuées à l'aide d'un thermocycleur *PTC-200 Peltier Thermal Cycler*. Les programmes d'amplification appliqués aux deux polymorphismes sont présentés dans les tableaux III et IV.

Tableau III: Conditions d'amplification du polymorphisme *c.785A>G* du gène *CYP2B6*

Nombre de Cycle	Température	Temps
<i>1 Cycle</i>	94°C	5 min
<i>35 Cycles</i>	94°C	1 min
	61°C	1 min
	72°C	1 min
<i>1 Cycle</i>	72°C	7 min
	4°C	+∞

Tableau IV: Conditions d'amplification du polymorphisme *c.516G>T* du gène *CYP2B6*

Nombre de Cycle	Température	Temps
<i>1 Cycle</i>	95°C	7 min
<i>35 Cycles</i>	95°C	1 min
	58°C	1 min
	72°C	1 min
<i>1 Cycle</i>	72°C	8 min
	4°C	+∞

4.9.2 Préparation des mélanges de digestion enzymatique

Les produits d'amplification de 640 et 578 pb ont été digérés respectivement par les enzymes de restriction *StyI* et *BsrI*.

Pour la digestion par *StyI*, le mélange réactionnel était composé de :

- 10 µl de produit de PCR ;
- 2 µl de tampon B 10X ;
- 0,3 µl d'enzyme *StyI* à 1 U/µl ;
- 17,7 µl d'eau ultrapure.

Le volume final de 30 µl a été incubé au bain-marie à 37 °C pendant 4 heures.

Pour la digestion par *BsrI*, le mélange réactionnel comprenait :

- 10 µl de produit de PCR ;
- 2 µl de tampon B 10X ;
- 0,3 µl d'enzyme *BsrI* à 1 U/µl ;
- 17,7 µl d'eau ultrapure.

Après ajustement du volume final à 30 µl avec de l'eau ultrapure, le mélange a été incubé au bain-marie à 65 °C pendant 4 heures.

4.9.3 Révélation des produits de digestion sur gel d'agarose

Nos produits de PCR digérés ont été déposés dans les puits d'un gel d'agarose à 2,5 %. Le gel a ensuite été placé dans une cuve d'électrophorèse et soumis à une tension électrique de 120 volts. La migration a duré 60 mn pour le polymorphisme *c.785A>G* et 50 mn pour le polymorphisme *c.516G>T*. Après migration, les fragments d'ADN ont été visualisés sous lumière ultraviolette (UV) à l'aide d'un transilluminateur. La coloration a été réalisée avec du GelRed, un agent intercalant fluorescent permettant de révéler les bandes d'ADN et d'identifier les différents profils génotypiques.

4.9.4 Interprétation des profils génotypiques

1. Profils du polymorphisme *c.785A>G*

L'interprétation des profils de digestion a été réalisée en fonction du nombre et de la taille des fragments observés :

- le génotype homozygote sauvage *AA* était caractérisé par trois fragments de 297, 171 et 116 pb ;
- le génotype hétérozygote *AG* présentait quatre fragments de 468, 297, 171 et 116 pb ;
- le génotype homozygote muté *GG* était identifié par deux fragments de 468 et 116 pb.

2. Profils du polymorphisme *c.516G>T*

Les profils génotypiques du polymorphisme *c.516G>T* ont été déterminés comme suit :

- le génotype homozygote sauvage *GG* était caractérisé par deux fragments de 518 et 60 pb ;
- le génotype hétérozygote *GT* présentait trois fragments de 578, 518, et 60 pb ;
- le génotype homozygote muté *TT* était identifié par d'un fragment de 578 pb.

4.10 Dosage de l'EFV

Le dosage de l'EFV a été effectué par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse.

4.10.1 Séparation chromatographique

Elle a été réalisée sur une colonne en phase inverse de type C18. La phase mobile était constituée des solutions suivantes :

- phase mobile A : eau contenant 0,1 % d'acide formique ;
- phase mobile B : acétonitrile contenant 0,1 % d'acide formique.

Les composés ont été séparés au moyen d'une élution en gradient. Le débit de la phase mobile était d'environ 0,3 ml/min et le volume d'injection variait de 5 à 10 µl.

4.10.2 Détection par spectrométrie de masse

La détection de l'EFV a été effectuée par spectrométrie de masse en mode *électrospray* positif (ESI+). Un standard interne a été utilisé afin de corriger les éventuelles variations liées à la préparation des échantillons et à la réponse instrumentale. La concentration d'EFV a ensuite été déterminée à partir du rapport entre le signal de l'analyte et celui du standard interne.

4.10.3 Étalonnage et contrôle qualité

La courbe d'étalonnage a été établie à partir de solutions standards contenant des concentrations connues d'EFV. Des échantillons de contrôle qualité, correspondant à trois niveaux de concentration (bas, moyen et élevé), ont été analysés au cours de chaque série afin de vérifier la fiabilité et la reproductibilité des résultats.

4.11 Saisie et analyse des données

Les données recueillies sur les feuilles de laboratoire ont été saisies dans Microsoft Excel 2007, puis analysées à l'aide du logiciel SPSS, version 20.0. Les variables qualitatives ont été décrites par leurs effectifs et leurs fréquences, exprimées en pourcentage. Les variables quantitatives continues ont été résumées par leur médiane. Le test du χ^2 de Pearson a été appliqué afin d'étudier l'association entre les profils génotypiques et les différentes classes de concentration plasmatique de l'EFV. Les tests non paramétriques de Kruskal-Wallis et de Mann-Whitney ont été utilisés pour comparer les concentrations plasmatiques médianes de l'EFV selon les modèles génétiques. Le seuil de significativité statistique de $p < 0,05$ a été retenu. Les représentations graphiques ont été produites avec le logiciel Rstudio, tandis que la rédaction et la mise en forme du document ont été réalisées dans Microsoft Word 2007. Les concentrations plasmatiques d'EFV ont été déterminées à partir du rapport entre l'aire du pic chromatographique de l'EFV et celle du standard interne. Les valeurs ont été obtenues au moyen d'un modèle de régression linéaire pondérée, puis réparties en trois catégories :

- concentration < 1000 ng/ml : niveau sous-thérapeutique ;
- concentration comprise entre 1000 et 4000 ng/ml : niveau thérapeutique ;
- concentration > 4000 ng/ml : niveau associé à un risque de toxicité.

5 Résultats

La concentration plasmatique de l'éfavirenz a été mesurée chez 57 patients. Le génotypage a été réalisé avec succès chez 55 participants pour le polymorphisme *c.516G>T* et chez 52 participants pour le polymorphisme *c.516G>T*.

5.1 Caractéristiques sociodémographiques

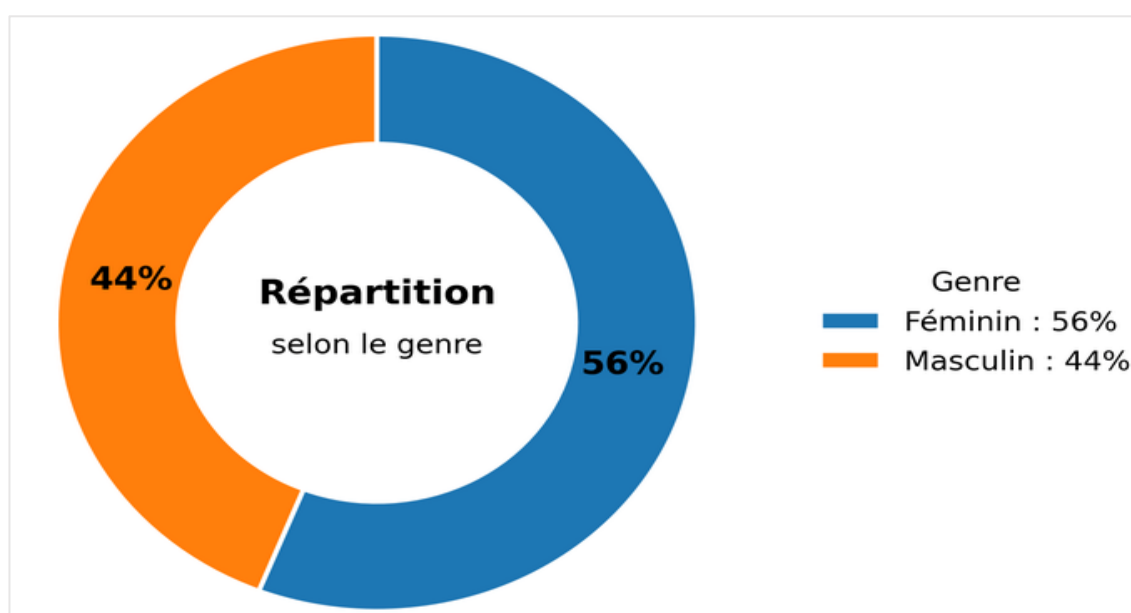


Figure 8: Répartition des participants en fonction du genre

Parmi les 57 participants inclus dans l'étude, 56 % étaient de sexe féminin, contre 44 % de sexe masculin.

Tableau V : Répartition des participants selon le niveau d'instruction

Niveau d'instruction	N	Pourcentage%
Non scolarisé	24	42,10 %
Primaire	16	28,10 %
Secondaire	10	17,50 %
Supérieur	7	12,30 %
Total	57	100

Les participants non scolarisés constituaient la catégorie la plus représentée, avec 42,10 % de l'effectif. Ils étaient suivis par ceux ayant atteint le niveau primaire, qui représentaient 28,1 %

des participants. Les niveaux secondaire et supérieur concernaient respectivement 17,5 % et 12,3 % de l'échantillon.

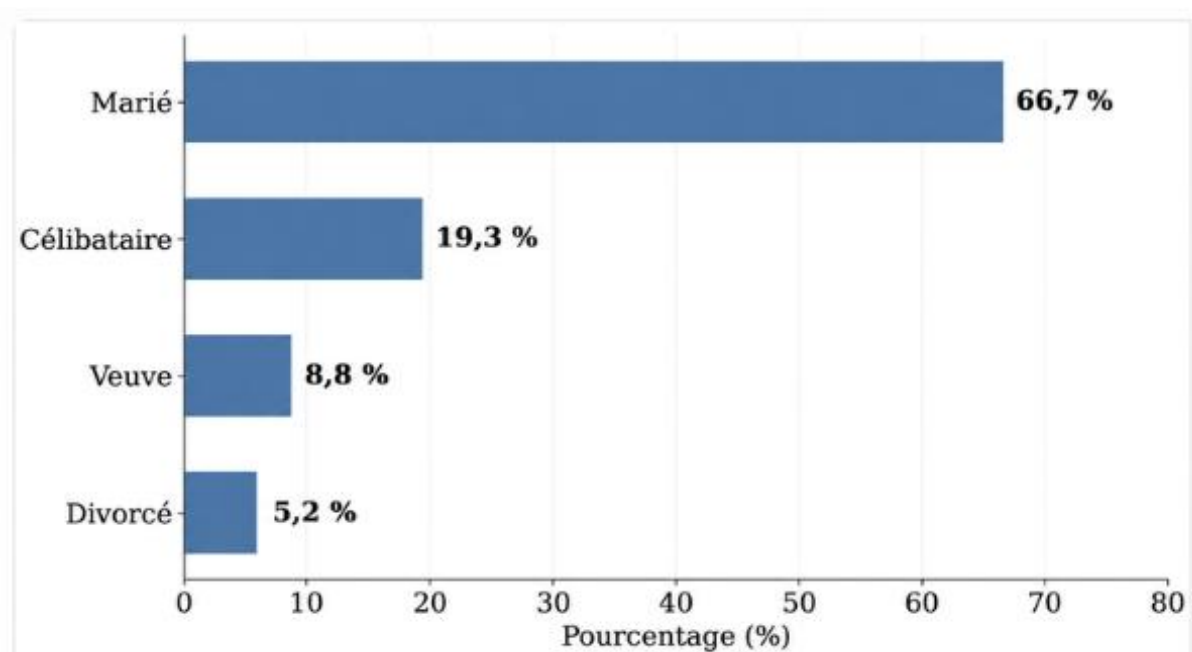


Figure 9 : Distribution des participants selon leur statut matrimonial

Les personnes mariées constituaient la catégorie matrimoniale la plus représentée dans l'échantillon, avec 66,7 % des participants.

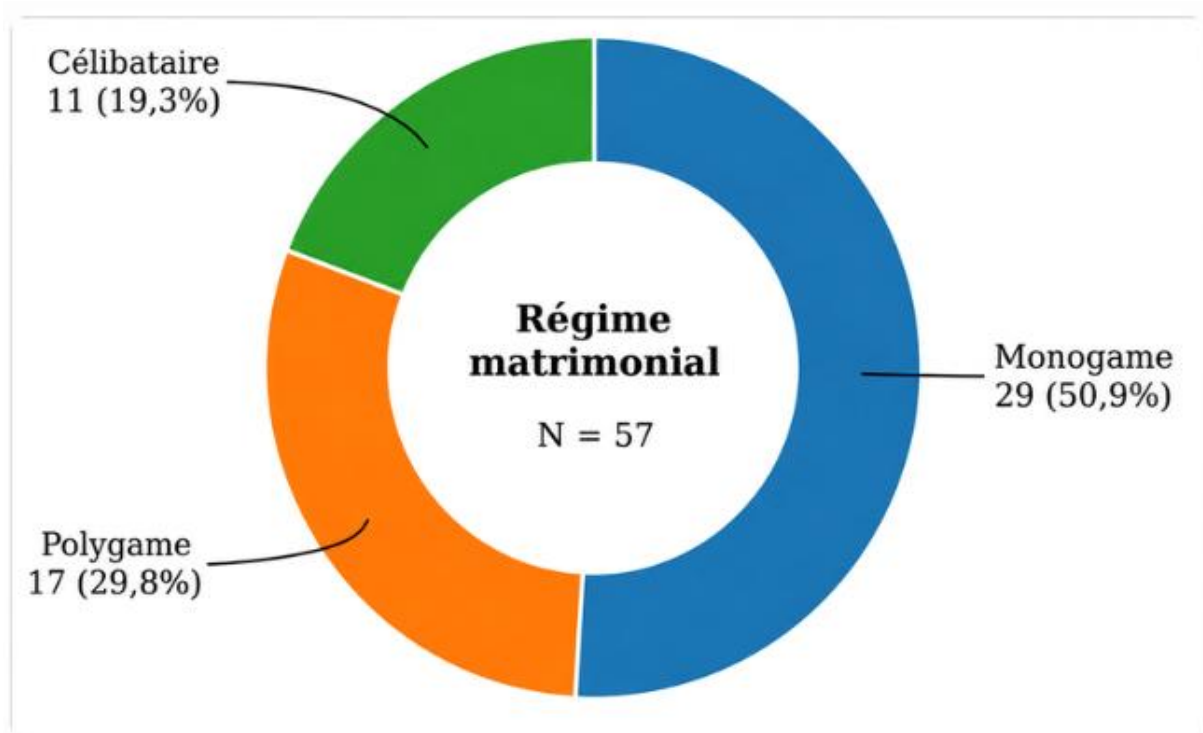


Figure 10 : *Distribution des participants selon le régime matrimonial*

Parmi les 57 participants, 29 vivaient dans un régime monogamique, soit 50,9 % de l'échantillon. Le régime polygamique concernait 17 participants (29,8 %), tandis que 11 participants étaient célibataires (19,3 %). La monogamie constituait ainsi la situation la plus fréquemment observée.

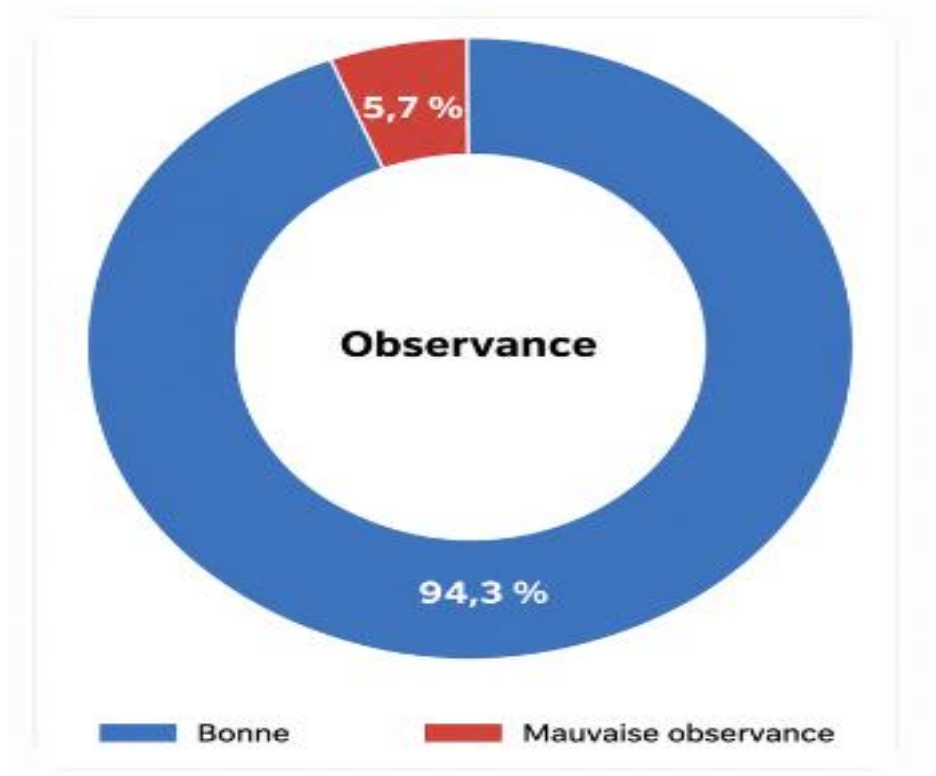


Figure 11 : Répartition des participants selon l'observance du traitement

La Figure 10 met en évidence une forte adhésion au traitement. En effet, 94,3 % des participants ont correctement suivi les recommandations de leur médecin. En revanche, 5,7 % présentaient une mauvaise observance thérapeutique.

5.2 Caractéristiques cliniques et biologiques des participants

Tableau VI: Répartition des caractéristiques cliniques et biologiques des participants

Variables	N	Médiane (IIQ)	Min	Max
Âge (ans)	57	38,0 (30,0–45,0)	18	71
Poids (kg)	57	65,0 (57,0–75,0)	32	120
CD4 (cellules/mm³)	57	428,0 (249,0–588,0)	31	1263
Charge virale (copies/mL)	57	50 (50–250,0)	50	216978
Concentration EFV (ng/mL)	57	928,0 (60,0–1607,0)	17	6696

IIQ = intervalley interquartile

Les 57 participants avaient un âge médian de 38 ans (IIQ : 30-45), avec des âges compris entre 18 et 71 ans. Leur poids médian était de 65 kg (IIQ : 57-75). Le nombre médian de lymphocytes CD4 s'élevait à 428 cellules/mm³ (IIQ : 249-588). La charge virale médiane était de 50 copies/mL (IIQ : 50-250), tandis que la concentration plasmatique médiane d'EFV atteignait 928,0 ng/mL (IIQ : 60-1607).

5.3 Distribution génotypique et allélique du *CYP2B6* dans la population d'étude

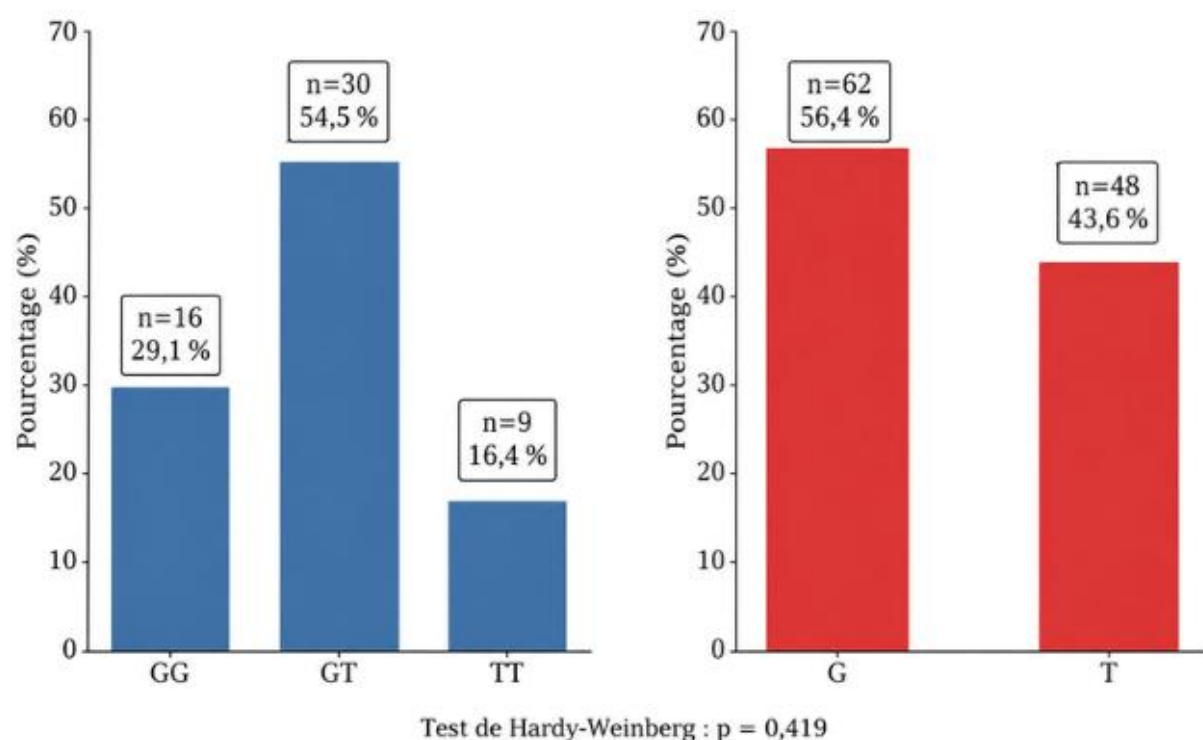


Figure 12 : Distribution du polymorphisme c.516G>T du gène *CYP2B6* dans la population étudiée

Comme l'illustre la figure 11, le génotype hétérozygote *GT* était le plus fréquent (54,5 %), devant le génotype sauvage *GG* (29,1 %) et le génotype mutant *TT* (16,4 %). L'allèle G était majoritaire (56,4 % ; 62 copies), tandis que l'allèle variant T représentait 43,6 % (48 copies). Les fréquences génotypiques observées étaient conformes à l'équilibre de Hardy-Weinberg (p = 0,419).

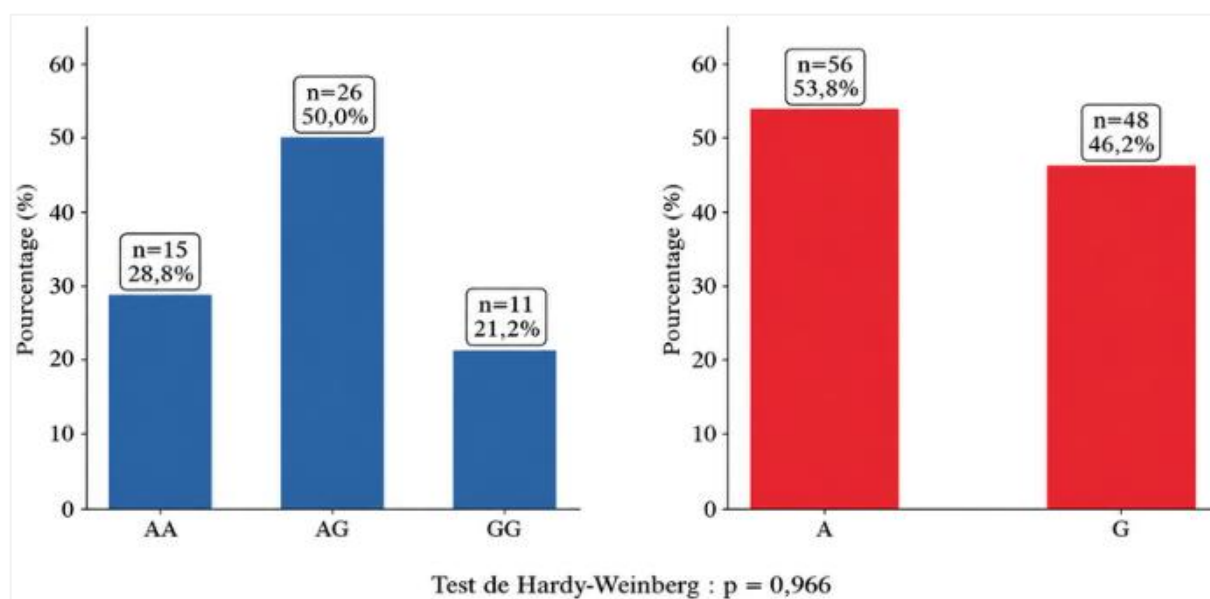


Figure 13 : Répartition du polymorphisme c.A785G du gène CYP2B6 dans la population étudiée

Le polymorphisme *c.785A>G* du *CYP2B6* a montré une prédominance du génotype *AG*, observé chez 50 % des participants ($n = 36$). Les génotypes *AA* et *GG* représentaient respectivement 28,8 % ($n = 15$) et 21,2 % ($n = 11$) de l'effectif. L'analyse des fréquences alléliques a révélé une légère prédominance de l'allèle *A* (53,8 %) par rapport à l'allèle *G* (46,2 %). Par ailleurs, la distribution génotypique était conforme à l'équilibre de Hardy-Weinberg ($p = 0,966$).

5.4 Classification clinique des concentrations plasmatiques d'EFV

Tableau VII : Classification clinique des concentrations plasmatiques d'EFV

Concentrations d'EFV	Conséquence	N	%
< 1000 ng/mL	Sous-exposition	29	54,4 %
1000–4000 ng/mL	Zone thérapeutique	21	36,8 %
> 4000 ng/mL	Surexposition	5	8,8 %

La répartition des concentrations plasmatiques d'efavirenz (EFV) par catégories thérapeutiques a montré, que 54,4 % des participants avaient une sous-exposition (< 1000 ng/mL), alors que 36,8 % présentaient des valeurs dans la plage thérapeutique souhaitée (1000–4000 ng/mL). En revanche, une surexposition (> 4000 ng/mL) a été notée chez 8,8 % des patients. Cela pourrait être relié à un risque plus élevé d'effets indésirables, qui sont dose-dépendants pour l'EFV.

5.5 Variations des concentrations plasmatiques de l'EFV selon les modèles génétiques

Tableau VIII : Variations des concentrations plasmatiques de l'EFV selon les différents modèles génétiques

Modèles	N	Médiane (IIQ)	KW/MU	P
<i>c.516G>T^a</i> (N = 55)			2,608	0,271
<i>GG</i>	16	875,5 (29 - 1120)		
<i>GT</i>	30	1011 (108 - 1619)		
<i>TT</i>	9	1318 (101 - 4238)		
<i>c.785A>G^a</i> (N = 52)			6,245	0,044
<i>AA</i>	15	124 (29 - 1111)		
<i>AG</i>	26	1216 (532,25 - 1663)		
<i>GG</i>	11	1004 (703 - 4031)		
<i>c.516G>T^b</i> (N = 55)			233	0,142
<i>GG</i>	16	875,5 (29 - 1120)		
<i>GT+TT</i>	39	1138,0 (124 - 1779)		
<i>c.516G>T^c</i> (N = 55)			160	0,289
<i>GG+GT</i>	46	918 (56 - 1141,25)		
<i>TT</i>	9	1318 (101 - 4238,50)		
<i>c.785A>G^b</i> (N = 52)			156	0,014
<i>AA</i>	15	124 (29 - 1111)		
<i>AG+GG</i>	37	1138 (625 - 1799,50)		
<i>c.785A>G^c</i> (N = 52)			171	0,221
<i>AA+AG</i>	41	884 (52 - 1373)		
<i>GG</i>	11	1004 (703 - 4031)		

a = Modèle co-dominant ; b = modèle dominant ; c = modèle récessif ; K-W = test de Kruskal-Wallis ; M-U = test de Mann-Whitney ; IIQ = intervalle interquartile.

Pour le polymorphisme *c.516G>T* du *CYP2B6*, les concentrations plasmatiques médianes d'EFV augmentaient graduellement selon le nombre de génotypes variants : 875,5 pour le génotype *GG*, 1011 pour le *GT* et 1318 pour *TT*. Toutefois, les différences observées entre ces trois génotypes n'étaient pas statistiquement significatives ($p = 0,271$). De même, aucune association significative n'a été mise en évidence dans les modèles, dominant ($p = 0,142$) et récessif ($p = 0,289$). En revanche, les concentrations plasmatiques d'EFV différaient significativement selon les génotypes du polymorphisme *CYP2B6 c.785A>G* dans le modèle codominant ($p = 0,044$). Cette association demeurerait significative dans le modèle dominant : les porteurs d'au moins un allèle *G* (*AG* + *GG*) présentaient une concentration médiane plus élevée que les sujets de génotype *AA*, soit respectivement 1 138 et 124 ($p = 0,014$). Dans le

modèle récessif, aucune différence statistiquement significative n'a été retrouvée entre les groupes *AA + AG* et *GG* ($p = 0,221$).

5.6 Répartition des concentrations plasmatiques d'éfavirenz en fonction des modèles génétiques

Tableau IX : Répartition des concentrations plasmatiques d'éfavirenz en fonction des modèles génétiques

Modèles	EFV < 1000	EFV 1000-4000	EFV > 4000	Test exact de Fisher	p
<i>c.516G>T^a</i>				6,76	0,11
<i>GG</i>	10 (62,5 %)	5 (31,3 %)	1 (6,2 %)		
<i>GT</i>	15 (50,0 %)	14 (46,7 %)	1 (3,3 %)		
<i>TT</i>	4 (44,4 %)	2 (22,2 %)	3 (33,4 %)		
<i>c.785A>G^a</i>				10,38	0,02
<i>AA</i>	11 (73,3 %)	3 (20,0 %)	1 (6,7 %)		
<i>AG</i>	12 (46,2 %)	14 (53,8 %)	0 (0,0 %)		
<i>GG</i>	5 (45,4 %)	3 (27,3 %)	3 (27,3 %)		
<i>c.516G>T^b</i>				0,83	0,74
<i>GG</i>	10 (62,5 %)	5 (31,3 %)	1 (6,2 %)		
<i>GT+TT</i>	19 (51,2 %)	16 (39,0 %)	4 (9,8 %)		
<i>c.516G>T^c</i>				5,98	0,048
<i>GG+GT</i>	25 (56,2 %)	19 (39,6 %)	2 (4,2 %)		
<i>TT</i>	4 (44,4 %)	2 (22,3 %)	3 (33,3 %)		
<i>c.785A>G^b</i>				3,38	0,19
<i>AA</i>	11 (73,3 %)	3 (20,0 %)	1 (6,7 %)		
<i>AG+GG</i>	17 (45,9 %)	17 (45,9 %)	3 (8,2 %)		
<i>c.785A>G^c</i>				5,95	0,053
<i>AA+AG</i>	23 (56,1 %)	17 (41,5 %)	1 (2,4 %)		
<i>GG</i>	5 (45,4 %)	3 (27,3 %)	3 (27,3 %)		

a = co-dominant, b = dominant, c = récessif

La répartition des concentrations plasmatiques d'EFV variait selon certains modèles génétiques du gène *CYP2B6*. Pour le polymorphisme *c.516G>T*, les sujets homozygotes *TT* présentaient la proportion la plus importante de surexposition à l'EFV (> 4000 ng/ml), soit 33,3 %, contre 6,2 % chez les sujets *GG* et 3,3 % chez les sujets *GT*. L'association n'était toutefois pas statistiquement significative dans le modèle codominant ($p = 0,11$). En revanche, une association à la limite du seuil de significativité était observée dans le modèle récessif ($p = 0,048$), tandis que le modèle dominant n'était pas significatif ($p = 0,74$).

Pour le polymorphisme *c.785A>G* du *CYP2B6*, une association statistiquement significative était notée dans le modèle codominant ($p = 0,02$). Les sujets *GG* présentaient la proportion la plus élevée de surexposition, soit 27,3 %, contre 6,7 % chez les *AA* et 0 % chez les *AG*. Le modèle dominant n'était pas significatif ($p = 0,19$), tandis que le modèle récessif montrait une tendance à l'association sans atteindre le seuil conventionnel de significativité ($p = 0,053$).

6 Commentaires discussion

Cette étude avait pour objectif principal d'évaluer l'effet polymorphismes des *c.516G>T* et *c.785A>G* du gène *CYP2B6* sur la variabilité des concentrations plasmatiques de l'EFV chez les personnes vivant avec le VIH (PVVIH) à Bamako. Les résultats obtenus ont révélé une variabilité interindividuelle importante des concentrations plasmatiques d'EFV et ont indiqué que le polymorphisme *c.785A>G* du *CYP2B6* pourrait contribuer de manière significative à cette variabilité.

Caractéristiques sociodémographiques et cliniques des participants

La population étudiée était majoritairement féminine, les femmes représentant 56 % de l'échantillon. Cette prédominance rejoint les observations de plusieurs études menées en Afrique subsaharienne auprès des PVVIH, dans lesquelles les femmes constituent une part importante des cohortes suivies au sein des structures de prise en charge antirétrovirale (3,61). Cette représentation pourrait notamment s'expliquer par une fréquentation plus régulière des services de santé par les femmes, ainsi que par la mise en œuvre des programmes de prévention de la transmission mère-enfant. Ces dispositifs favorisent le dépistage précoce du VIH et l'intégration des femmes dans le parcours de soins (62,63). La majorité des participants étaient non scolarisés (42,1 %) et mariés (66,7 %). Ces caractéristiques reflètent en partie le contexte sociodémographique de la population malienne. Elles pourraient également influencer la compréhension des recommandations médicales et le respect des prescriptions thérapeutiques. Toutefois, malgré la proportion élevée de participants non scolarisés, l'observance thérapeutique a été jugée satisfaisante chez 94,7 % d'entre eux. La faible charge virale médiane observée dans cette étude, soit 50 copies/ml, est compatible avec une bonne efficacité virologique globale de la prise en charge. Ce niveau élevé d'observance pourrait être favorisé par l'accompagnement régulier des PVVIH par l'équipe soignante, notamment à travers les activités de conseil, d'éducation thérapeutique et de soutien à la prise du traitement. Nos observations diffèrent néanmoins de celles d'une étude menée en Grande-Bretagne, qui associait l'absence d'études universitaires à une moins bonne observance thérapeutique chez les PVVIH (64).

L'âge médian des participants était de 38 ans, avec un intervalle interquartile de 30 à 45 ans. Cette valeur est comparable à celle rapportée dans plusieurs cohortes africaines de PVVIH recevant un traitement comprenant de l'EFV (14,61). Le nombre médian de lymphocytes T CD4 était de 428 cellules/mm³, indiquant une restauration immunitaire globalement satisfaisante chez la majorité des participants. Des résultats comparables ont également été décrits dans plusieurs études consacrées aux PVVIH sous traitement antirétroviral (47,65,66).

Variabilité interindividuelle des concentrations plasmatiques d'éfavirenz

L'un des résultats de cette étude concerne l'importance de la variabilité interindividuelle des concentrations plasmatiques d'EFV relevées chez les PVVIH. La concentration médiane était de 928 ng/ml, avec des valeurs comprises entre 17 et 6696 ng/ml. Une telle dispersion a également été rapportée en Haïti (67) et en Ouganda (68). Elle constitue une caractéristique bien documentée de la pharmacocinétique de l'EFV (7,14,65,69).

L'EFV dispose d'une marge thérapeutique relativement étroite. Une concentration plasmatique insuffisante peut compromettre l'efficacité du traitement et favoriser l'apparition de résistances virales. À l'inverse, une concentration excessive est susceptible d'augmenter le risque d'effets indésirables, notamment neuropsychiatriques et hépatiques. Dans la majorité des études pharmacocinétiques, l'intervalle thérapeutique de référence se situe entre 1000 et 4000 ng/ml (8,47,66).

Dans la présente étude, 54,4 % des PVVIH présentaient une concentration inférieure à 1000 ng/ml, ce qui suggère une sous-exposition à l'EFV. Toutefois, 8,8 % des PVVIH avaient une concentration supérieure à 4000 ng/ml, indiquant une surexposition potentiellement associée à un risque accru d'intolérance et de toxicité. Ces résultats concordent avec ceux de plusieurs études africaines ayant mis en évidence une forte variabilité interindividuelle de l'exposition plasmatique à l'EFV chez les PVVIH (65).

Plusieurs facteurs pourraient expliquer cette variabilité. Elle peut notamment être liée aux polymorphismes génétiques touchant les enzymes impliquées dans le métabolisme de l'EFV, en particulier le *CYP2B6*. D'autres déterminants peuvent également intervenir, tels que l'âge, le sexe, le poids corporel, l'état nutritionnel, les interactions médicamenteuses, les comorbidités et l'observance thérapeutique (47,69).

Distribution génotypique des polymorphismes *c.516G>T* et *c.785A>G* du *CYP2B6*

L'étude du polymorphisme *c.516G>T* a montré que le génotype hétérozygote *GT* était le plus fréquent chez les PVVIH, avec une proportion de 54,5 %. Les génotypes *GG* et *TT* représentaient respectivement 29,1 % et 16,4 % des participants. Sur le plan allélique, les fréquences observées étaient de 56,4 % pour l'allèle *G* et 43,6 % pour l'allèle *T*. Concernant le polymorphisme *c.785A>G*, le génotype *AG* prédominait également (50,0 %), suivi des génotypes *AA* (28,8 %) et *GG* (21,2 %).

Pour les deux polymorphismes étudiés, les distributions génotypiques étaient conformes à l'équilibre de Hardy-Weinberg. Cette concordance suggère l'absence de biais significatif dans le recrutement des PVVIH et d'erreurs systématiques de génotypage. Dans l'ensemble, nos

résultats rejoignent ceux rapportés dans plusieurs cohortes africaines (10,61,65,70), au sein desquelles les variants génétiques du *CYP2B6* sont généralement plus fréquents que dans les populations d'ascendance européenne ou asiatique. Des travaux antérieurs ont notamment révélé que les allèles *CYP2B6 c.516T* et *785G* présentent des fréquences relativement élevées dans les populations africaines, ce qui pourrait contribuer à une variabilité interindividuelle plus importante de la pharmacocinétique de l'EFV (50,71).

De nombreuses études menées dans différents groupes ethniques ont également mis en évidence une association étroite entre les variants du *CYP2B6* et les concentrations plasmatiques de l'EFV (1,10,72–74). Dans le même sens, Bushyakanist et al. ont identifié les polymorphismes de ce gène comme des déterminants génétiques essentiels de l'exposition plasmatique à l'EFV (75).

Influence du polymorphisme *c.516G>T* du *CYP2B6* sur les concentrations plasmatiques d'éfavirenz

Dans notre étude, la concentration plasmatique médiane d'EFV augmentait graduellement selon le génotype du polymorphisme *c.516G>T*. Elle passait de 875,5 ng/mL chez les porteurs du génotype *GG* à 1318 ng/mL chez les porteurs du génotype *TT*. Cette variation n'était toutefois pas statistiquement significative dans le modèle codominant ($p = 0,271$). En dépit de cette absence de significativité, la tendance observée reste biologiquement plausible au regard du rôle reconnu de ce polymorphisme dans la pharmacocinétique de l'EFV (14).

L'allèle *516T* est associé à une réduction de l'activité catalytique du *CYP2B6*, causant une baisse du métabolisme de l'EFV et, par conséquent, une augmentation de ses concentrations plasmatiques. Plusieurs études ont mis en évidence une association entre le génotype *TT* et des concentrations élevées d'EFV (1,61). Otieno et al. ont notamment révélé que les porteurs du génotype *TT* affichaient des concentrations plasmatiques significativement supérieures à celles observées chez les porteurs des génotypes *GG* ou *GT* (65). Des résultats comparables ont également été constatés dans des populations d'Afrique subsaharienne et d'Asie (71).

L'absence de significativité statistique dans notre étude pourrait s'expliquer par la taille relativement limitée de l'échantillon, en particulier par le faible nombre de participants porteurs du génotype *TT* ($n = 9$), diminuant ainsi la puissance statistique des analyses. Cependant, l'analyse selon des catégories thérapeutiques a révélé que les porteurs du génotype *TT* présentaient la proportion la plus élevée de surexposition à l'EFV (> 4000 ng/mL). Une association statistiquement significative a d'ailleurs été observée dans le modèle récessif ($p = 0,048$). Dans l'ensemble, ces résultats suggèrent que le polymorphisme *c.516G>T* du *CYP2B6*,

en particulier le génotype *TT*, pourrait favoriser l'accumulation plasmatique de l'EFV chez certaines PVVIH, augmenter ainsi le risque d'effets indésirables.

Influence du polymorphisme *c.785A>G* du *CYP2B6* sur les concentrations plasmatiques d'éfavirenz

Notre étude a mis en évidence une association statistiquement significative entre le polymorphisme *c.785A>G* du gène *CYP2B6* et les concentrations plasmatiques d'EFV ($p = 0,044$). Les sujets porteurs des génotypes *AG* et *GG* présentaient des concentrations plasmatiques supérieures à celles observées chez les individus de génotype *AA*. Cette association demeurerait significative dans le modèle dominant (*AG + GG versus AA* ; $p = 0,014$). Une relation statistiquement significative a également été constatée entre les génotypes du polymorphisme *c.785A>G* et les différentes catégories de concentrations thérapeutiques de l'EFV ($p = 0,02$). Ces résultats suggèrent que ce variant génétique contribue à la variabilité interindividuelle de la pharmacocinétique de l'EFV chez les PVVIH.

Le variant *c.785A>G* est souvent analysé conjointement avec le polymorphisme *c.516G>T* dans le cadre des haplotypes du *CYP2B6*, en particulier l'allèle *CYP2B6*6*. Cet haplotype est associé à une baisse de l'activité enzymatique du *CYP2B6*, entraînant une diminution de la clairance de l'EFV et, par conséquent, une augmentation de son exposition plasmatique (47,68,76,77).

Plusieurs travaux ont montré que les combinaisons de variants du *CYP2B6* influencent considérablement l'exposition systémique à l'EFV (76,78). Les porteurs d'allèles associés à une activité enzymatique réduite présentent généralement des concentrations plasmatiques d'EFV plus élevées, susceptibles d'accroître le risque d'effets indésirables, en particulier de manifestations neuropsychiatriques (79).

Intérêt pharmacogénétique et implications cliniques

Les résultats de cette étude présentent un intérêt majeur pour la pharmacogénétique et la pratique clinique fondée sur les données probantes. L'identification des polymorphismes associés à une augmentation des concentrations plasmatiques d'EFV pourrait contribuer à personnaliser les schémas thérapeutiques et à réduire le risque d'effets indésirables.

L'OMS a progressivement préconisé le passage aux traitements ARV à base de dolutégravir (39). Cependant, l'EFV demeure largement utilisé dans plusieurs pays africains, notamment dans certaines situations particulières. Dans ce contexte, le repérage des patients exposés à un risque de sous-exposition ou de surexposition à l'EFV pourrait favoriser une meilleure réponse thérapeutique et contribuer à l'amélioration de la qualité de vie des PVVIH. Plusieurs auteurs

ont souligné la pertinence du génotypage du *CYP2B6* avant l'instauration d'un traitement par l'EFV, afin de permettre une adaptation posologique, en particulier chez les métaboliseurs lents. Mukonzo et al. ont notamment suggéré une diminution de la dose chez certaines PVVIH porteuses de variants du *CYP2B6*. Cette approche permettrait de limiter la toxicité tout en garantissant une efficacité virologique adéquate (68).

Dans les pays à ressources limitées, comme le Mali, l'intégration des tests pharmacogénétiques dans la prise en charge thérapeutique demeure difficile en raison de contraintes techniques, financières et organisationnelles. Toutefois, les progrès des technologies de biologie moléculaire, associés à la diminution progressive du coût du génotypage, pourraient favoriser, à l'avenir, l'intégration de la médecine personnalisée dans la prise en charge des PVVIH.

Forces et limites de l'étude

Cette étude présente plusieurs atouts. À notre connaissance, elle figure parmi les rares travaux de pharmacogénétique consacrés à l'influence des polymorphismes du gène *CYP2B6* sur les concentrations plasmatiques d'éfavirenz. L'association du dosage plasmatique du médicament à la caractérisation moléculaire des génotypes constitue également un avantage méthodologique considérable.

Certaines limites doivent toutefois être soulignées. La taille relativement faible de l'échantillon a pu réduire la puissance statistique des analyses réalisées. De plus, bien que le gène *CYP2B6* présente de nombreux polymorphismes, seuls deux d'entre eux ont été étudiés dans le cadre de ce travail. Certains facteurs environnementaux susceptibles de modifier les concentrations plasmatiques de l'EFV n'ont pas non plus été pris en compte (71).

Par ailleurs, l'absence d'une évaluation approfondie des effets indésirables neuropsychiatriques associés à l'EFV ne permet pas d'établir un lien clinique direct entre ces manifestations et les concentrations plasmatiques observées.

Conclusion

Les résultats de cette étude mettent en évidence l'influence des polymorphismes du gène *CYP2B6* sur les concentrations plasmatiques de l'EFV chez les PVVIH au Mali. Le variant *785A>G* apparaît notamment comme l'un des facteurs susceptibles d'expliquer la variabilité interindividuelle observée dans l'exposition à ce médicament. Ces données soulignent l'intérêt d'intégrer les analyses pharmacogénétiques dans la prise en charge personnalisée des PVVIH, afin d'optimiser l'efficacité et la tolérance du traitement et, ainsi, de contribuer à l'amélioration de leur qualité de vie.

7 Recommandations

À la lumière des résultats de cette étude, nous formulons les recommandations suivantes :

➤ Aux autorités sanitaires :

- Renforcer progressivement le suivi thérapeutique pharmacologique de l'EFV en intégrant son dosage plasmatique à la surveillance biologique des patients présentant une réponse virologique insuffisante, une mauvaise tolérance au traitement ou des signes cliniques évocateurs d'effets indésirables.
- Cette démarche contribuerait à améliorer l'efficacité du traitement antirétroviral, à limiter le risque d'échec virologique et à prévenir plus efficacement la toxicité médicamenteuse.
- Envisager l'introduction progressive de la pharmacogénétique dans les stratégies nationales de prise en charge afin de favoriser une médecine personnalisée, efficace et rationnelle.

➤ Aux chercheurs :

Poursuivre les investigations dans ce domaine en menant des études multicentriques sur des échantillons de plus grande taille, afin de valider les associations mises en évidence et de mieux déterminer leur pertinence clinique. Les travaux futurs gagneraient également à établir un lien plus étroit entre les données pharmacocinétiques et les paramètres cliniques, notamment grâce à une évaluation rigoureuse et standardisée des effets indésirables liés à l'EFV, en particulier les troubles neuropsychiatriques. Enfin, il serait pertinent d'élargir les investigations à d'autres polymorphismes intervenant dans le métabolisme de cette molécule et d'analyser les haplotypes complets du gène *CYP2B6*, afin de mieux cerner les mécanismes à l'origine de la variabilité interindividuelle de la réponse au traitement.

➤ Aux professionnels de santé :

Il est recommandé de renforcer la surveillance clinique et biologique des patients traités par l'EFV. Le dosage plasmatique de cette molécule, associé à la prise en compte des caractéristiques pharmacogénétiques, pourrait permettre d'ajuster plus rapidement et plus précisément le traitement au profil individuel de chaque patient.

➤ Aux patients eux-mêmes :

Les patients doivent respecter le rendez-vous de suivi médical et informer rapidement les professionnels de santé de tout effet indésirable observé pendant le traitement. Leur participation active au parcours de soins constitue un levier essentiel pour améliorer les résultats thérapeutiques. À plus long terme, leur adhésion aux approches de médecine personnalisée, notamment aux analyses pharmacogénétiques, pourrait contribuer à une individualisation plus efficace des schémas thérapeutiques.

En définitive, l'application coordonnée de ces recommandations pourrait améliorer la sécurité, l'efficacité et la pertinence de l'utilisation de l'EFV dans la prise en charge du VIH. Elle favoriserait progressivement l'émergence d'une stratégie thérapeutique personnalisée, adaptée aux caractéristiques biologiques et cliniques des PVVIH au Mali.

8 BIBLIOGRAPHIE

1. Blievernicht J, Rotger M, Tegude H, Colombo S, Cavassini M, Furrer H, et al. Predictive Value of Known and Novel Alleles of CYP2B6 for Efavirenz Plasma Concentrations in HIV-infected Individuals. *Clin Pharmacol Ther.* 2007;81(4):557–66.
2. Tawe L, Thami PK, Seatla KK, Moyo S, Martinelli A, Novitsky V, et al. Association of CYP2B6 Genetic Variation with Efavirenz and Nevirapine Drug Resistance in HIV-1 Patients from Botswana. *Pharmgenomics Pers Med.* 2021;14:335–47.
3. Kassogue Y, Diakite B, Maiga M, Kassogue O. Europe PMC Funders Group Influence of CYP2B6 and CYP3A4 polymorphisms on the virologic and immunological responses of patients treated with efavirenz containing regimen. *Pharmacogenet Genomics.* 2022;32(6):219–25.
4. Organization WH. Hiv drug resistance report 2019. 2019.
5. Rapports d ' avancement nationaux - Mali. 2020;
6. Cheickna K, Maiga AI, Minta DK, Diallo S. Article Original L ' Échec Virologique Sous Traitement Antirétroviral à Sikasso (Mali) : Prévalence , Dynamique Temporelle et Impact des Schémas Thérapeutiques Virological Failure in HIV Patients on Antiretroviral Therapy in Sikasso (Mali) : Temporal T. *Heal Res Afr.* 2025;3(May):7–11.
7. Ukasem CS, Hamnanphon MC, Oomdee NK, Uangpetch AP, Anton SS, Antararoungtong TJ, et al. Regular Article High Plasma Efavirenz Concentration and CYP2B6 Polymorphisms in Thai HIV-1 Infections. *Drug Metab Pharmacokinet.* 2013;28(5):391–7.
8. Marzolini C, Telenti A, Decosterd LA, Greub G. Efavirenz plasma levels can predict treatment failure and central nervous system side effects in HIV-1-infected patients. *AIDS* 2001,. 2001;15(1):71–5.
9. Regazzi MB, Villani P, Maserati R, Cocchi L, Giacchino R, Burroni D, et al. Pharmacokinetic variability and strategy for therapeutic drug monitoring of saquinavir (SQV) in HIV-1 infected individuals. *J Clin Pharmacol.* 1999;47:379–82.
10. Manosuthi W, Sukasem C, Lueangniyomkul A, Mankatitham W, Thongyen S. Impact of Pharmacogenetic Markers of CYP2B6 , Clinical Factors , and Drug-Drug Interaction on Efavirenz Concentrations in HIV /. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(2):1019–24.
11. Mukonzo JK, Owen JS, Ogwal-okeng J, Kuteesa RB, Nanzigu S, Sewankambo N, et al. Pharmacogenetic-Based Efavirenz Dose Modification : Suggestions for an African Population and the Different. *journal.pone.* 2014;9(1):1–8.
12. Hiv S, As S. HIV Drug Resistance Fact Sheet Key facts Pretreatment HIV drug resistance Acquired HIV drug resistance : Pre-exposure prophylaxis for HIV prevention Many people living in situations considered high risk for exposure to HIV take medicines daily to reduce t. 2020 p. 17–9.
13. Guideline N, Drugs A, Infection PHI V. Ministry of Health, Cook Islands. 2017;
14. Bordin N, Helena A, Schalkwyk K Van, Thomas D, Joseph B, Paul T, et al. Large variability in plasma efavirenz concentration in Papua New Guinea HIV / AIDS patients associated with high frequency of CYP2B6 516T allele. *Clin Transl Sci.* 2021;14:2521–31.
15. Desta Z, El-boraie A, Gong L, Somogyi AA, Lauschke VM, Dandara C, et al. PharmVar GeneFocus: CYP2B6. *Clin Pharmacol Ther.* 2022;110(1):82–97.
16. Mhandire D, Lacerda M, Castel S, Mhandire K, Wiesner L, Stray-pedersen B, et al. Effects of CYP2B6 and CYP1A2 Genetic Variation and Pharmacodynamics as Measured by CD4 Cell. *A J Integr Biol.* 2015;19(9):553–62.
17. Almeida TB De, Costa M, Mendes V, Francisco J, Rafael F, Ferry DA, et al. Drug

- metabolism and transport gene polymorphisms and efavirenz adverse effects in Brazilian HIV-positive individuals. *J Antimicrob Chemother* 2018; 2018;73:2460–7.
18. Meng X, Yin K, Wang J, Dong P, Liu L, Shen Y. Effect of CYP2B6 Gene Polymorphisms on Efavirenz Plasma Concentrations in Chinese Patients with HIV Infection. *journal.pone*. 2015;1–13.
 19. Luetkemeyer AF, Rosenkranz SL, Lu D, Grinsztejn B, Sanchez J, Ssemmanda M, et al. Combined Effect of CYP2B6 and NAT2 Genotype on Plasma Efavirenz Exposure During Rifampin-based Antituberculosis Therapy in the STRIDE Study. *CID*. 2015;60:1860–3.
 20. Russo G, Paganotti GM, Soeria-atmadja S, Haverkamp M, Ramogola-masire D, Vullo V, et al. Pharmacogenetics of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) in resource-limited settings: influence on antiretroviral therapy response and concomitant anti-tubercular, antimalarial and contraceptive treatments. *Infection, Genetics and Evo. MEEGID*. 2015;37:192–207.
 21. Selik RM. Acquired Immune Deficiency Syndrome in the United States: The First 1,000 Cases. *J Infect Dis*. 1983;148(2):339–45.
 22. Guétard D, Alizon M. Isolation of a T lymphotropic virus from a patient at risk of Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* (80-). 2008;220(139):868–71.
 23. Coiras M, Martínez JM. Review Past and future of HIV infection . A document based on expert opinion. *Offial J Spanish Soc Chemother*. 2022;35(2):131–56.
 24. Murgatroyd C, Pirrie L, Tran F, Smith TK, Westwood NJ, Adamson S. Structure-Activity Relationships of the Human Immunodeficiency. *J Virol*. 2016;90(18):8181–97.
 25. Niaid ID. National Institute of Allergy and Infectious Diseases NIAID FOR 2018 NIAID STRATEGIC PLAN VACCINE. 2018;
 26. Rossi E, Meuser ME, Cunanan CJ. Structure , Function , and Interactions of the HIV-1 Capsid Protein. *Jour Life*. 2021;11(100):1–25.
 27. Failing Y, Therapy A. HHS Public Access. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;35(7):777–81.
 28. Lin NH, Kuritzkes DR. Tropism Testing in the Clinical Management of HIV-1 Infection. *Curr Opin HIV AIDS*. 2010;4(6):481–7.
 29. Engelman A CP. The structural biology of HIV-1: mechanistic and therapeutic insights. *Rev Microbiol*. 2013;10(4):279–90.
 30. Puronen CE, Ford ES, Uldrick TS. Immunotherapy in People With HIV and Cancer. *Front Immunol*. 2019;10:1–10.
 31. Palmisano L, Vella S. A brief history of antiretroviral therapy of HIV infection : success and challenges. *New Challanges Transl Med*. 2011;47(1):44–8.
 32. Lewis JM, Macpherson P, Adams ER, Ochodo E, Sands A, Taegtmeier M. Field accuracy of fourth-generation rapid diagnostic tests for acute HIV-1 : a systematic review. *AIDS*. 2015;29:2465–71.
 33. Afzal M, Agarwal S, Elshaikh RH, Babker AMA, Awad E, Osman I, et al. Innovative Diagnostic Approaches and Challenges in the Management of HIV : Bridging Basic Science and Clinical Practice. 2025;1–16.
 34. Id DW, Mubiru F, Kambugu A, Fehr J, Kiragga A, Braun A Von, et al. Ten years of antiretroviral therapy : Incidences , patterns and risk factors of opportunistic infections in an urban Ugandan cohort. *journal.pone*. 2018;(1):1–16.
 35. Robbins TW, James M, Owen AM, Sahakian BJ, Lawrence AD, Mcinnes L, et al. A study of performance on tests from the CANTAB battery sensitive to frontal lobe dysfunction in a large sample of normal volunteers : Implications for theories of executive functioning and cognitive aging. *J Int Neuropsychol Soc*. 1998;4:474–90.

36. Tozzi V. *Antiviral Research*. 2010;85:190–200.
37. Cihlar T, Fordyce M. ScienceDirect Current status and prospects of HIV treatment. *Curr Opin Virol*. 2016;18:50–6.
38. Maggiolo F, Diseases I, Riuniti O, Barozzi L. Efavirenz : a decade of clinical experience in the treatment of HIV. *J Antimicrob Chemother*. 2009;64(September):910–28.
39. Approach PH, On CG. Guidelines hiv prevention, testing, treatment, service delivery and monitoring: 2021.
40. Dalal B, Shankarkumar A, Ghosh K. Individualization of antiretroviral therapy - Pharmacogenomic aspect. *Indian J Med Res*. 2015;142:663–74.
41. Guengerich FP, States U. HHS Public Access. *ACS Catal*. 2019;8(12):10964–76.
42. Zanger UM, Klein K. Pharmacogenetics of cytochrome P450 2B6 (CYP2B6): advances on polymorphisms , mechanisms , and clinical relevance. *Front Genet*. 2013;4:1–12.
43. Zhou Y, Lauschke VM. Worldwide Distribution of Cytochrome P450 Alleles : A Meta-analysis of Population-scale Sequencing Projects. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;102(4):688–700.
44. Desta Z, Gammal RS, Gong L, Whirl-carrillo M, Gaur AH, Sukasem C, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guideline for CYP2B6 and Containing Antiretroviral Therapy. *Clin Pharmacol Ther*. 2019;106(4):2–9.
45. Zanger UM, Schwab M. Pharmacology & Therapeutics Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism : Regulation of gene expression , enzyme activities , and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013;138(1):103–41.
46. Hedrich WD, Hassan HE, Wang H. Insights into CYP2B6-mediated drug – drug interactions. *Acta Pharm Sin B*. 2016;6(5):413–25.
47. Chala A, Ngaimisi E, Jemal K, Ahmed H, Tadesse BT, Eticha T, et al. Genetic and non- - genetic factors influencing efavirenz population pharmacokinetics among human infected children in Ethiopia. *CPT Pharmacometrics Syst Pharmacol*. 2023;12:783–94.
48. Michaud V, Bar-magen T, Turgeon J, Flockhart D, Desta Z, Wainberg MA. The Dual Role of Pharmacogenetics in HIV Treatment : Mutations and Polymorphisms Regulating Antiretroviral Drug Resistance and Disposition. *Am Soc Pharmacol Exp Ther*. 2012;64(3):803–33.
49. Leger P, Chirwa S, Turner M, Richardson DM, Baker P, Leonard M, et al. Pharmacogenetics of Efavirenz Discontinuation for Reported Central Nervous System Symptoms Appears to Differ by Race. *Pharmacogenet Genomics*. 2017;26(10):473–80.
50. Oluka MN, Okalebo FA, Guantai AN, McClelland RS, Graham SM. Cytochrome P450 2B6 genetic variants are associated with plasma nevirapine levels and clinical response in HIV-1 infected Kenyan women : a prospective cohort study. *AIDS Res Ther*. 2015;12:1–9.
51. Mardis ER. The impact of next-generation sequencing technology on genetics. *Trends Genet*. 2008;24(3):133–41.
52. Dhoro M, Nhachi C, Masimirembwa C. Technological and cost comparison of cytochrome P450 2B6 (516G > T) genotyping methods in routine clinical practice. *Afr J Biotechnol*. 2013;12(19):2706–10.
53. Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, Schwab M. Functional pharmacogenetics / genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal Bioanal Chem*. 2008;392:1093–108.
54. Abdissa A, Wiesner L, Mcilleron H, Friis H. Short report Evaluation of an immunoassay for determination of plasma efavirenz concentrations in resource-limited settings. *J Int AIDS Soc* 2014,. 2014;17:1–5.

55. Haas DW, Ribaud HJ, Kim RB, Wilkinson GR, Gulick RM, Clifford DB, et al. Pharmacogenetics of efavirenz and central nervous system side effects : an Adult AIDS Clinical Trials Group study. *AIDS*. 2004;18(18):2391–400.
56. Panchagiri S, Begum A, Valupadas C, Ciddi V. Quantitative Bio-Analysis of Tenofovir Disoproxil Fumarate , Lamivudine and Efavirenz Simultaneously in Human Plasma Using Reverse-Phase Liquid Chromatography. *Acta Sci Pharm Sci*. 2018;2(10):17–27.
57. Loescher CM, Morton DW, Razic S, Agatonovic-kustrin S. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis High performance thin layer chromatography (HPTLC) and high performance liquid chromatography (HPLC) for the qualitative and quantitative analysis of *Calendula officinalis* — Advantages and limitations. *J Pharm Biomed Anal*. 2014;98:52–9.
58. Paulo A, T RE, Quinhones M, S PN, S AR. Frequencies of Cytochrome P450 2B6 and 2C8 Allelic Variants in the Mozambican Population. *Malays J Med Sci*. 2013;20(12):13–23.
59. Labib RM, Abdelrahim MEA, Elnadi E, Hesham RM. CYP2B6 rs2279343 Is Associated with Improved Survival of Pediatric Rhabdomyosarcoma Treated with Cyclophosphamide. *PLoS One*. 2016;11(7):1–12.
60. Essa ES, Alhassanin SA, Radwan WM, Hagag MG. Evaluation of CYP2B6 G15631T polymorphism as a risk factor for development of chronic myeloid leukemia. *Clin Lymphoma*. 2019;19:926–9.
61. Isaac AO, Wetkos DD, Oche AO, Godwin I, Phyllis K, John AC. Prevalence of Cytochrome P450 2B6 Single Nucleotide Polymorphism in an HIV-Positive Cohort in Jos, Nigeria: Implication for HIV Therapy. *Niger J Clin Pr*. 2021;23(12):1736–43.
62. Weiss SM, Peltzer K, Shikwane ME, Cook R, Jones DL, Sciences B, et al. Improving PMTCT Uptake in Rural South Africa. *J Int Assoc Provid AIDS Care*. 2016;13(3):269–76.
63. Al-ameen UO. Impact of Antiretroviral Therapy for the Prevention of Mother-to-Child Transmission of HIV on New HIV Infections among Children in Nigeria : A Longitudinal Study; 2010–2023. 2025;1–12.
64. Burch LS, Smith CJ, Anderson J, Sherr L, Rodger AJ, Connell RO, et al. Socioeconomic status and treatment outcomes for individuals with HIV on antiretroviral treatment in the UK : cross-sectional and longitudinal analyses. *Lancet Public Heal*. 2016;1(1):e26–36.
65. Otieno M, Id N, Oluoka M, Kwena ZA, Bulimo D, Okalebo FA. Effects of cytochrome P450 2B6 and constitutive androstane receptor genetic variation on Efavirenz plasma concentrations among HIV patients in Kenya. *Plos un*. 2022;27(3):1–14.
66. Calcagno A, Motta I, Milia MG, Rostagno R, Simiele M, Libanore V, et al. Dried plasma / blood spots for monitoring antiretroviral treatment efficacy and pharmacokinetics : a cross-sectional study in rural Burundi. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;79(5):801–8.
67. Leger P, Dillingham R, Beauharnais CA, Kashuba ADM, Rezk NL, Fitzgerald DW, et al. NIH Public Access. *J Infect Dis*. 2009;200(6):955–64.
68. Mukonzo JK, Okwera A, Nakasujja N, Luzze H, Sebuwufu D, Ogwal-okeng J, et al. Influence of efavirenz pharmacokinetics and pharmacogenetics on neuropsychological disorders in Ugandan HIV-positive patients with or without tuberculosis : a prospective cohort study. *Mal Infect BMC*. 2013;13(1):261.
69. Gunda DW, Kasang C, Kidenya BR, Kabangila R, Mshana SE, Kidola J, et al. Plasma Concentrations of Efavirenz and Nevirapine among HIV-Infected Patients with Immunological Failure Attending a Tertiary Hospital in North-Western Tanzania. *PLoS One*. 2013;8(9):3–9.

70. A. Matimba, M N. Oluka, B U. Ebeshi JS et al. Establishment of a biobank and pharmacogenetics database of African populations. *Eur J Hum Genet.* 2008;16:780–3.
71. Ngaimisi E, Habtewold A, Minzi O, Makonnen E, Mugusi S, Mugusi F, et al. Importance of Ethnicity , CYP2B6 and ABCB1 Genotype for Efavirenz Pharmacokinetics and Treatment Outcomes : A Parallel-Group Prospective Cohort Study in Two Sub-Saharan Africa Populations. *PLOS ONE* |. 2013;8(7):e67946.
72. Rajman I, Knapp L, Morgan T, Masimirembwa C. EBioMedicine African Genetic Diversity : Implications for Cytochrome P450-mediated Drug Metabolism and Drug Development. *EBioMedicine.* 2017;17:67–74.
73. Birbal S. ADVERSE DRUG REACTIONS ASSOCIATED WITH ANTIRETROVIRAL THERAPY IN SOUTH AFRICA BY Date submitted : January 2016. *African J AIDS Res.* 2016;15(3):243–8.
74. Langmia IM, Just KS, Yamoune S, Brockmöller J. CYP2B6 Functional Variability in Drug Metabolism and Exposure Across Populations — Implication for Drug Safety , Dosing , and Individualized Therapy. *Front Genet.* 2021;12:1–21.
75. Bushyakanist A, Puangpetch A, Sukasem C. The use of pharmacogenetics in clinical practice for the treatment of individuals with HIV infection in Thailand The use of pharmacogenetics in clinical practice for the treatment of individuals with HIV infection in Thailand. *Pharmgenomics Pers Med.* 2015;7066:1178–7066.
76. Sa A, Cabrera S, Santos D, Valverde MP, Fuertes A, Domínguez-gil A, et al. Population Pharmacokinetic/Pharmacogenetic Model for Optimization of Efavirenz Therapy in Caucasian HIV-Infected Patients. *ANTIMICROBAGENTS CHEMOTHER.* 2011;55(11):5314–24.
77. Gounden V, Niekerk C Van, Snyman T, George JA. Presence of the CYP2B6 516G > T polymorphism , increased plasma Efavirenz concentrations and early neuropsychiatric side effects in South African HIV-infected patients. *AIDS Res Ther.* 2010;7(1):32.
78. kwara A, Lartey M, Sagoe KW, Kenu E CM. CYP2B6, CYP2A6 and UGT2B7 genetic polymorphisms are predictors of efavirenz mid-dose concentration in HIV-infected patients. *AIDS.* 2010;23(16):2101–6.
79. osgood III HD, Cawthon R, He X, Chanock S LQ. Genetic variation in telomere maintenance genes, telomere length, and lung cancer susceptibility. *j.lungcan.* 2010;66(2):157–61.

Annexes

Annexes 1

:

Fiche

d'exploitation

FICHE D'EXPLOITATION SPATOMA TMA2016CDF-1566

Date de recrutement :

Service :

Numéro de dossier :/...../..... (1^{er} espace correspond aux initiales du participant (Nom et Prénom), le 2^{ème} au numéro de série du participant et le 3^{ème} aux initiales du service de recrutement).

Nom du recruteur:.....

Renseignements personnels

Nom:.....

Prénom:.....

Date de naissance :...../...../.....

Sexe:...../..... 1. Féminin 2. Masculin

Adresse:.....

Profession:.....

Téléphone:.....

Origine ethnique:.....

Statut matrimonial:...../..... 1. Célibataire 2. Marié 3. Divorcé 4. Veuf(e) 5. Autres

Régime matrimonial :...../..... 1. Monogame 2. Polygame

Niveau d'instruction :...../..... 1. Non scolarisé 2. Primaire 3. Secondaire 4. Professionnel 5. Supérieur.

Renseignements cliniques et biologiques à JO

Poids :.....kg

Taux de CD4 :.....cellules/mm³

Charge virale :.....copies/ml

Glycémie à jeun :.....g/l

Transaminases :.....UI/l

Clairance de la créatinine :.....mg/l

Globules blancs :.....C/ml

Plaquettes :.....C/ml

Hémoglobine :.....g/dl

Lymphocytes :.....C/ml

Schéma thérapeutique :...../..... 1. TDR+3TC+NVP 2. TDR+3TC+EFV

Renseignements cliniques et biologiques à J15

Effets secondaires des ARV :...../..... 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Observation d'infection opportuniste:...../..... 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Poids :.....kg

Observance du traitement :...../..... 1. Bonne 2. Mauvaise si mauvaise donner une explication :

Maintien du protocole thérapeutique:...../..... 1. Oui 2. Non si non préciser :

Le motif :

Le nouveau schéma thérapeutique.....

Renseignements cliniques et biologiques au M1

Effets secondaires des ARV :...../..... 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Observation d'infection opportuniste:...../..... 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Poids :.....kg

Observance du traitement :...../..... 1. Bonne 2. Mauvaise si mauvaise donner une explication :

Maintien du protocole thérapeutique:...../..... 1. Oui 2. Non si non préciser :

Le motif :

Le nouveau schéma thérapeutique.....

Renseignements cliniques et biologiques au M3

Effets secondaires des ARV :...../___/ 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Observation d'infection opportuniste:...../___/ 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Poids :.....kg

Observance du traitement :...../___/ 1. Bonne 2. Mauvaise si mauvaise donner une

explication :

Concentration plasmatique de l'ARV :.....mg/l

Maintien du protocole thérapeutique:...../___/ 1. Oui 2. Non si non préciser :

Le motif :

Le nouveau schéma thérapeutique.....

Renseignements cliniques et biologiques au M6

Effets secondaires des ARV :...../___/ 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Observation d'infection opportuniste:...../___/ 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Poids :.....kg

Observance du traitement :...../___/ 1. Bonne 2. Mauvaise si mauvaise donner une

explication :

Taux de CD4 :.....cellules/mm³

Charge virale :.....copies/ml

Maintien du protocole thérapeutique:...../___/ 1. Oui 2. Non si non préciser :

Le motif :

Le nouveau schéma thérapeutique.....

Renseignements cliniques et biologiques au M12

Effets secondaires des ARV :...../___/ 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Observation d'infection opportuniste:...../___/ 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Poids :.....kg

Observance du traitement :...../___/ 1. Bonne 2. Mauvaise si mauvaise donner une

explication :

Taux de CD4 :.....cellules/mm³

Charge virale :.....copies/ml

Maintien du protocole thérapeutique:...../___/ 1. Oui 2. Non si non préciser :

Le motif :

Le nouveau schéma thérapeutique.....

Renseignements cliniques et biologiques au M18

Effets secondaires des ARV :...../___/ 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Observation d'infection opportuniste:...../___/ 1. Oui 2. Non si oui préciser le

type

Poids :.....kg

Observance du traitement :...../___/ 1. Bonne 2. Mauvaise si mauvaise donner une

explication :

Taux de CD4 :.....cellules/mm³

Charge virale :.....copies/ml

Maintien du protocole thérapeutique:...../___/ 1. Oui 2. Non si non préciser :

Le motif :

Le nouveau schéma thérapeutique.....

Annexes 2 : Fiche de consentement

CONSENTEMENT ECLAIRE POUR PARTICIPER A L'ETUDE PHARMACOGENETIQUE

Je, soussigné(e), M./Mme.....confirme que :

- J'ai reçu une explication détaillée sur le projet d'étude intitulé « Etude de la pharmacogénétique des antirétroviraux au Mali, Afrique de l'Ouest » envisagé par le Dr..... comme indiqué dans la fiche d'information datée.
- J'ai eu l'opportunité de poser des questions sur le projet et sur ma participation.
- J'accepte volontairement de participer au projet.
- Je comprends que ma participation exige :
 - Un prélèvement sanguin
 - Un questionnaire à remplir
- Je comprends que je peux me retirer à tout moment sans donner de raisons et que je ne serai pas pénalisé pour mon retrait et je ne serai pas interrogé sur les raisons pour lesquelles je me suis retiré.
- Je déclare avoir été pleinement informé de la nature des études à effectuer sur mon sang.
- J'autorise la collecte, la saisie et le traitement des données contenues dans mes dossiers médicaux dans le strict respect du secret médical.
- L'utilisation des données de la recherche à travers les publications, le partage et l'archivage m'a été bien expliquée.
- Je comprends que les autres chercheurs n'auront accès à ces données que s'ils acceptent de préserver la confidentialité des données et s'ils acceptent les termes que j'ai spécifiés dans ce formulaire.
- J'ai reçu un duplicata signé de ce formulaire de consentement que je garderai.
- J'accepte volontairement de participer à cette étude en signant ce consentement en tant que :

A. TEMOIN (PERSONNE EN BONNE SANTE)

B. PATIENT

.....		/...../.....
Nom du participant	Signature	Date
.....		/...../.....
Nom de l'investigateur	Signature	Date