

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

République du MALI

Un Peuple-Un But-Une Foi



U.S.T.T.B

**UNIVERSITE DES SCIENCES, DES TECHNIQUES
ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO**



Faculté de Pharmacie

ANNEE UNIVERSITAIRE 2018-2019

THESE

N° ____/

***PREVALENCE DES ECHECS VIROLOGIQUES
CHEZ LES ADOLESCENTS INFECTES PAR LE
VIH-1 ET SOUS TRAITEMENT ARV***

Présentée et soutenue publiquement le/...../2019

Devant la Faculté de Pharmacie par

Mme. Fatoumata AYA

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

JURY

Président : Pr. Mariam SYLLA

Membre : Dr Donato KOYALTA

Co directeur: Dr Almoustapha Issiaka MAÏGA

Directeur : Pr. Daouda Kassoum MINTA

***Prévalence des échecs virologiques
chez les adolescents infectés par le
VIH-1 et sous traitement ARV***

DEDICACES

ET

REMERCIEMENTS

DEDICACES

Je dédie humblement ce travail à :

A celui qui m'a toujours encouragé et soutenu : mon très cher papa **Feu Aliou Aya**.

A celle qui s'est toujours dévouée et sacrifiée pour moi : ma très chère maman **Oumou Djeme**.

A mon papa : FEU ALIOU AYA

Ce travail est le fruit de tes encouragements et soutiens. Tu m'as toujours guidé dans le bon sens. Infatigable travailleur au service de la famille, ta patience et ton dévouement pour la famille constituent un exemple pour tous. Tu as cédé à beaucoup de mes caprices et tu m'as toujours conseillé que seul le travail paie en me montrant le droit chemin, celui de la réussite qui ne se gagne qu'à la sueur de son front. Merci papa, tu as toujours aimé avoir un docteur, tes vœux ont été exaucés.

Que ton âme repose en paix

A toi, tous mes remerciements.

A ma maman : OUMOU DJEME

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

Mon mari : MATIA TAMBOURA

Je suis parvenu à cette étape grâce à toi. Mon cher mari, cela ne surprend guère ceux qui ont eu le privilège de te côtoyer. Ton amour du travail bien fait, ton humanisme, ta discrétion enviable et ta modestie illustrent tes qualités d'homme de science. Je te remercie pour tes encouragements, tes conseils, ta bienveillance et ta disponibilité. Que Dieu te donne la santé et longue vie à toi.

A mes frères: Hamidou Morba Aya et Soumaila Aya

Les mots me manquent pour exprimer toute ma reconnaissance. Vos soutiens et vos conseils ont été déterminants dans ma vie. Vous êtes plus que des frères pour moi. Votre attention à mon égard et vos soucis permanents pour ma réussite ne me sont

jamais passés inaperçus. Je vous serez toujours reconnaissant. Je vous porte dans mon cœur, que Dieu vous donne santé et longévité.

A mes deux enfants : AstanTamboura et MouhammadTamboura

Mes amours, vous m'avez donné le courage de continuer. Vous êtes ma force, mon bonheur, ma vie, maman vous adore. Je vous dédie ce travail.

REMERCIEMENTS

A Allah et son prophète Mohamed (PSL)

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

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

Au Dr **Almoustapha I Maïga**

A mes parents : Aliou Aya et OumouDjeme

A mon mari : MatiaTamboura : mon confident, Tu m'as toujours soutenu, accompagné dans tous mes projets. Merci pour ta disponibilité.

A mes tontons : Amadou Aya, Hamidou Morba, Pr AtimeDjimdé, Dr Seydou Sow, AmadounBoré, Hama Djeme.

A mes tantes : Mariam Ongoiba, SoyeNabo, BintaDjeme, Lala Cissé, Fatoumata Sacko, MaimounaDjeme, HalimatouDjeme

A mes frères : Hamidou Morba Aya, Soumaila Aya, Mamoudou Aya

A mes cousins et cousines :Aminata Ganamé, Aminata Morba, Aliou Aya Morba, Issa Morba, Sory Ibrahim Morba, AbdramaneMorba, Mariam Aya, DjenebaMorba.

A mes beaux-parents : Feu Mamadou Tamboura et AstanFomba

A mes beaux-frères et belles-sœurs :FousseyniMorba, Moussa Tamboura, Maimouna Traoré, Didia, Adjara, AouaTamboura, AdamaTamboura, Fatoumata Tamboura, SafiatouTamboura, YaraTamboura, OulematouTamboura.

A mes amies : MaimounaKomou, Aissata Ba, TeninSirantou Tangara, Amina Maïga , Fatoumata Doucouré

A mes camarades du CHU- Gabriel Touré

A mes aînés du CHU- Gabriel Touré : Dr Namory Camara

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

Merci également à M. Youssouf TOURE, Amadou KEITA, Mme COULIBALY, Mme KONE, Mme DIARRA, Mme KONE Ina, Mme SIDIBE, Kadi, Adama, DIARRA, Abraham POUDIOUGOU, Vous m'aviez initié, et vous m'aviez donné le goût de la recherche. Recevez par cette thèse l'expression de mes sentiments les plus distingués.

A tous mes camarades de la promotion "Pr. **BoukassoumHaidara**".

A toutes les personnes vivant avec le VIH

A tous ceux dont j'ai omis le nom ici

Je vous remercie pour votre soutien et vos conseils.

HOMMAGES

AUX

MEMBRES DU JURY

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY

Professeur Mariam SYLLA

- **Professeur agrégé en Pédiatrie,**
- **Première femme professeur pédiatre au Mali**
- **Chef de l'unité de réanimation et de néonatalogie du département de pédiatrie du CHU Gabriel TOURE.**
- **Responsable du CEP des enfants séropositifs du département de Pédiatrie du CHU Gabriel TOURE**

Honorable maître,

Les mots nous manquent pour exprimer avec exactitude notre profonde admiration et notre profond respect. Malgré vos multiples sollicitations, vous avez accepté de diriger ce travail.

Praticienne infatigable, votre immense expérience, vos qualités humaines font de vous un maître de science émérite et exemplaire.

Votre simplicité, votre générosité, et votre dévouement sans limite à l'égard des enfants sont des qualités que nous nous efforcerons d'approcher.

Veillez agréer, honorable maître, l'assurance de notre profonde reconnaissance, admiration et gratitude.

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Docteur Donato KOYALTA

- **Maitre-assistant CAMES**
- **Bureau pays ONUSIDA MALI**

Cher maître

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

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

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

A NOTRE MAITRE ET JUGE

Docteur Samba Adama SANGARE

- **Pharmacien, Microbiologiste**
- **PhD en bactériologie-virologie**
- **Maître Assistant en bactériologie-virologie à la Faculté de Pharmacie**

Cher Maître,

Nous vous remercions infiniment de nous avoir accordé une partie de votre temps pour juger ce travail malgré vos différentes activités. Nous vous serons reconnaissants de votre simplicité et de votre souci constant de la bonne formation des étudiants maliens. Nous garderons de vous le souvenir d'un excellent Maître.

A NOTRE MAITRE ET CODIRECTEUR DE THESE

Docteur Almoustapha Issiaka MAIGA

- **Pharmacien et Ph D en virologie à l'Université Pierre et Marie Curie (UPMC), Paris 6,**
- **Responsable de l'unité d'épidémiologie moléculaire de résistance du VIH aux ARV à SEREFO,**
- **Chef de service du Laboratoire d'Analyses Médicales du CHU Gabriel TOURE.**
- **Chef du Département de Biologie Médicale, CHU Gabriel Touré**
- **Vice-président du comité scientifique national du VIH.**
- **Chargé de Recherche à la Faculté de Pharmacie, USTTB.**

Cher Maître,

Chercheur infatigable,

Ce travail est le fruit de votre volonté, de votre disponibilité et surtout de votre savoir-faire. Vos qualités d'homme scientifique ne souffrent d'aucune contestation et votre générosité font de vous un Maître de référence.

Nous sommes aujourd'hui comblés d'une immense joie d'être votre disciple.

Trouvez dans ce travail toute notre reconnaissance et notre fidèle attachement.

Que Dieu vous protège. Amen.

A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Daouda Kassoum MINTA

- **Professeur Titulaire des Universités,**
- **Agrégé des Maladies Infectieuses et Tropicales,**
- **Vice-président de la Société africaine de Pathologie Infectieuse,**
- **Président du Comité scientifique de lutte contre le Sida au Mali,**
- **Enseignant des maladies infectieuses, de Parasitologie et de thérapeutique FMOS,**
- **Directeur du centre d'excellence VIH adulte.**

Cher maître,

Nous avons été très impressionnés par la simplicité avec laquelle vous avez accepté de vous avoir pour directeur de thèse. Votre rigueur pour le travail bien fait, votre disponibilité et votre souci pour la formation de vos élèves font de vous un maître exemplaire. Trouvez, cher maître, l'expression de notre profonde gratitude et sincère respect.

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNc: ADN complémentaire

AES : Accident d'exposition au sang

AIDS : "AcquiredImmunoDeficiency Syndrome"

ARN: Acide Ribonucléique

ARV: Antirétroviraux

bDNA: branchedDesoxynucleic Acid

CCR5: CC ChemeokineReceptor 5

CD: Cluster of Differentiation

CDC: Centers of Disease Control and prevention

CESAC: Centre d'Ecoute, de Soins, d'Animation et de Conseils

CHU-GT: Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré

CRF: Circulating Recombinant Form

CSref: Centre de santé de référence

Ct: Cycle threshold

CV: Charge Virale

CXCR4: CXC ChemokineReceptor 4

EDS: Enquête démographique et de santé

EDTA: Ethylène Diamine Tétra Acétique

ELISA: Enzyme LinkedImmunsorbentAssay

Env: Enveloppe

ESTHER: Ensemble pour une Solidarité Thérapeutique Hospitalière en Réseau

Fret: Fluorescence resonance energy transfert

FTC: Emtricitabine

Gag: Group antigen

gp: Glycoprotéine

GRID: "Gay-Related immune Disorder "

IF: Inhibiteur de fusion

Ig: Immunoglobuline

IMAARV: Initiative Malienne d' Accès aux Antirétroviraux

INNTI: Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

INTI: inhibiteur Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

IP: Inhibiteur de la protéase

IST: Infection Sexuellement Transmissible

LEMP: Leucoencéphalopathie Multifocale progressive

LTR: Long Terminal Repeat

NASB: Nucleic Acid SequenceBased Amplification

OMS: Organisation mondiale de la Santé

ONUSIDA: Organisation des Nations-Unis contre le SIDA

PCR : " Polymérase Chain Réaction "

pol: Polymerase

PTME : Prévention de la transmission Mère-Enfant

PvVIH: Personnes vivant avec le Virus de l'Immunodéficience humaine

RT-PCR: Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

rTth: enzyme Thermusthermophilus

SIV: SimianImmunodeficiency Virus

Sida : Syndrome d'immunodéficience acquis

Taq: Thermusaquaticus

TAR : Traitement antirétroviral

TDR : Test de Diagnostic Rapide

UFRs: " Unique Recombinant Forms "

VHB : Virus de l'Hépatite B

VIH : Virus de l'immunodéficience Humaine

WB : Western Blot

ABREVIATION DES ARV

ABC : Abacavir

APV: Amprénavir

ATV: Atazanavir

AZT: Zidovudine

ddl: Didanosine

DRV: Darunavir

DTG :Dolutégravir

d4T: Stavudine

EFV: Efavirenz

FTC : Emtricitabine

ETV: Etravirine

EVG : Elvitégravir

IDV : Indinavir

LPV: Lopinavir

NVP: Névirapine

RGV : Raltégravir

/r: boosté par le ritonavir

SQV: Saquinavir

TDF: Ténofovir

TPV: Tipranavir

3TC: Lamivudine

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES

1. INTRODUCTION.....	25
2. OBJECTIFS.....	29
2.1. OBJECTIF GENERAL.....	29
2.2.OBJECTIFS SPECIFIQUES.....	29
3. GENERALITES.....	31
3.1. HISTORIQUE.....	31
3.2. CARACTERES DU VIRUS.....	34
3.2.1. Structure physico-chimique	34
3.3.1.1. Structure.....	34
3.3.1.2. Stabilité physico-chimique.....	35
3.2.2. Cycle de multiplication	35
3.2.3. Cellules cibles et Réservoir viral.....	37
3.2.4. Variabilité génétique des VIH.....	38
3.3. POUVOIR PATHOGENE.....	39
3.3.1. Infection humaine.....	39
3.3.2. Pouvoir pathogène expérimental.....	42
3.3.3. Répartition géographique.....	42
3.4. EPIDEMIOLOGIE.....	43
3.4.1. Données sur l'épidémie.....	43
3.4.2. Mode de Transmission.....	44
3.5. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE.....	45
3.5.1. Dépistage et confirmation.....	45
3.5.1.1. Test de dépistage.....	45
3.5.1.2. Test de confirmation.....	46
3.5.2. Recherche d'une antigénémie.....	46
3.5.3 Isolement du virus	46
3.5.4. Diagnostic moléculaire.....	47
3.5.5. Diagnostic virologique de l'infection à VIH chez le nouveau-né et le nourrisson.....	47
3.6. TRAITEMENT DES PERSONNES INFECTEES PAR LE VIH.....	48
3.6.1. Définition des ARV.....	48
3.6.2. Objectifs du traitement antirétroviral	48

3.6.3. Quand débiter un traitement ARV :(selon les recommandations 2013 de OMS).....	48
3.6.3.1. Chez l'adulte et l'adolescent.....	48
3.6.3.2. Chez la femme enceinte et la femme allaitante au sein.....	49
3.6.3.3. Chez l'enfant.....	49
3.6.4. Le choix des molécules.....	50
3.6.5. Schémas thérapeutiques.....	52
3.7. La résistance aux Antirétroviraux.....	53
3.7.1. Définition.....	53
3.7.2. Mécanisme d'apparition des mutations de résistance.....	53
3.7.3. Mécanisme de la résistance aux antirétroviraux.....	54
3.7.3.1. Les analogues nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI).....	54
3.7.3.2. Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI).....	56
3.7.3.3. Inhibiteurs de protéase (IP).....	57
3.7.3.4. Les inhibiteurs d'entrée.....	57
3.7.3.5. La résistance aux inhibiteurs d'intégrase.....	58
3.8. Echec thérapeutique.....	59
3.8.1. Echec clinique.....	59
3.8.2. Echec immunologique.....	59
3.8.3. Echec virologique.....	59
3.9. Observance (selon Mémento Thérapeutique du VIH/SIDA en Afrique. 2009 : 2ième Edition p41).....	60
3.9.1 Définition.....	60
3.9.2 Mesure de l'observance.....	60
4. METHODOLOGIE.....	63
4.1. Lieu et cadre de l'étude.....	63
4.2. Type et durée de l'étude.....	63
4.3. Population d'étude.....	63
4.4. Critères d'inclusion.....	63
4.5. Critères de non inclusion.....	64
4.6. Techniques utilisées.....	64
4.6.1. Technique Abbott HIV-1 RealTime™.....	64
4.6.1.1. Principe.....	64

4.6.1.2 Organisation du local de la charge virale.....	65
4.6.1. 3. Réactifs et matériels.....	65
4.6.1.4. Procédure de prélèvement de sang pour la charge virale.....	69
4.6.1.5 Procédure de la technique.....	69
4.7. Collecte des données.....	78
4.8. Supports des données.....	78
4.9. Analyses des données	78
4.10. Aspect éthique.....	78
5. RESULTATS.....	79
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....	93
7. CONCLUSION.....	99
8. RECOMMANDATIONS.....	101
9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	103

LISTES DES FIGURES ET TABLEAUX

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure du VIH.....	35
Figure 2 : Processus d'attachement du VIH.....	36
Figure 3 : Cycle de multiplication du VIH.....	37
Figure 4 : Arbre phylogénétique du VIH et SIV.....	39
Figure 5 : Courbe de calibration du dosage.....	76
Figure 6 : Répartition des patients selon le sexe.....	81

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition des patients l'âge.....	80
Tableaux 2 : Répartition des patients selon la résidence.....	82
Tableau 3 : Répartition en fonction du schéma de traitement ARV.....	83
Tableau 4 : Répartition en fonction du taux de lymphocyte CD4 a 6mois de traitement ARV.....	84
Tableau 5 : Répartition en fonction du taux de lymphocyte CD4 a 12mois de traitement ARV.....	85
Tableau 6 : Répartition en fonction de la charge virale à 6mois de traitement ARV.....	86
Tableau 7 : Répartition en fonction de la charge virale à 12mois de traitement ARV.....	87
Tableau 8 : Répartition des patients selon la charge virale.....	88
Tableau 9 : Croisement entre la charge virale détectable > 1000 copies/ml et le taux de lymphocyte CD4+ a 6 mois.....	89
Tableau 10 : Croisement entre la charge virale détectable > 1000 copies/ml et le taux de lymphocyte CD4+ a 12 mois.....	90

Tableau 11 : Croisement entre la charge virale détectable > 1000 copies/ml et le traitement ARV a 6 mois.....	91
Tableau 12 : Croisement entre la charge virale détectable > 1000 copies/ml et le traitement ARV a 12 mois.....	92

INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

Les virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) appartiennent à la famille des Retroviridae, définie principalement par son mode de réplication : le génome, constitué d'ARN, est transcrit en ADN grâce à la transcriptase inverse (TI) d'origine virale. [9] Le VIH responsable du syndrome d'immunodéficience acquis plus connu sous son acronyme SIDA qui est un ensemble de symptômes consécutifs à la destruction de plusieurs cellules du système immunitaire rendant l'organisme vulnérable à des multiples infections opportunistes, reste un problème majeur de santé publique dans le monde particulièrement en Afrique subsaharienne. En effet, en 1983 Luc Montagnier, Jean-Claude Chermann et Françoise Barré-Sinoussi du département de rétrovirologie de l'Institut Pasteur de Paris ont isolé le VIH-1. [51]

L'infection à VIH est un problème de santé publique d'envergure mondiale. Selon l'OMS (17 juillet 2019) avec plus de 35 millions de morts à ce jour, le VIH continue de représenter un problème mondial majeur de santé publique. En 2017, 940 000 personnes sont décédées d'une ou des causes liées au VIH dans le monde. En fin 2017, on comptait dans le monde environ 36,9 millions de personnes vivant avec le VIH, dont 1,8 millions d'enfants. La région africaine de l'OMS, où 25,7 millions de personnes vivaient avec le VIH en 2017, est la plus touchée. Elle concentre également plus des deux-tiers des nouvelles infections par ce virus survenant dans le monde. Entre 2000 et 2017, le nombre de nouvelles infections a chuté de 36% et celui des décès liés au VIH a baissé de 38% avec 11,4 millions de vies sauvées grâce au TAR sur la même période. [49]

Selon l'ONUSIDA (chiffres 2018), 37,9 millions de personnes dans le monde étaient séropositives dont 1,7 million sont des enfants, et 23,3 millions de personnes avaient accès à un traitement antirétroviral soit une augmentation de 7,7 millions en 2010, et 1,7 million de personnes ont été contaminées par le VIH, et 770 000 personnes sont décédées des suites d'une maladie liée au sida. Pourtant, il y a eu près de 160 000 nouvelles contaminations chez les enfants dans le monde, loin de l'objectif mondial consistant à faire passer le nombre de nouvelles contaminations à VIH chez les enfants sous la barre des 40 000 avant 2018. S'il existe encore de grandes disparités entre les jeunes femmes et les jeunes hommes (adolescents) les jeunes femmes étant 60% plus susceptibles d'être contaminées par le VIH que les jeunes hommes du même âge, des progrès ont permis de réduire les nouvelles contaminations chez les

jeunes femmes. A l'échelle mondiale, les nouvelles contaminations chez les jeunes femmes ont été réduites de 25% entre 2010 et 2018. Il reste toutefois inacceptable que chaque semaine, 6200 adolescentes soient contaminées par le VIH. [43]

A l'instar des autres pays du monde, le Mali est aussi confronté à la problématique de l'infection à VIH, selon l'Enquête démographique et de santé 5^e édition au Mali (EDSM V), la prévalence nationale est estimée à 1,1% en 2013, soit 0,8% sont les adolescents infectés par le VIH. En 2016, près de 100 000 personnes vivaient avec le VIH au Mali, soit 1,1% de la population. [16]

Pour la prise en charge des enfants et adolescents infectés par le VIH, l'objectif général du traitement chez l'enfant est le même que chez l'adulte : la réduction durable de la charge virale au-dessous des seuils de détection, seul garant de l'absence de sélection de mutation de résistance et d'une efficacité virologique, immunologique et clinique à long terme. Malgré les difficultés à faire accepter à un enfant une multi thérapie antirétrovirale sur une longue durée et les quelques divergences entre les différentes recommandations internationales, la baisse de la mortalité et de la morbidité de l'infection est majeure. L'observance est problématique chez la plupart des adolescents atteints du VIH. Comme nous l'avons vu, les nouvelles thérapeutiques sont très efficaces, mais l'observance est un paramètre essentiel de leur succès. Les problèmes souvent évoqués concernent les modalités très concrètes du traitement, tels que le gout des médicaments, les horaires de prises, le nombre de prises par jour, le nombre de comprimés par jour. Le vécu quotidien du traitement et sa pénibilité sont des éléments déterminant l'observance. La mauvaise observance entraîne des résistances des antirétroviraux, pouvant aboutir à une dégradation de l'immunité progressive et joue ainsi sur le pronostic futur. La sexualité est au cœur préoccupations adolescentes. Cela est d'autant plus préoccupant chez les adolescents atteints du VIH. Malgré la connaissance du risque de la non-protection lors des rapports sexuels, ces adolescents utilisent peu le préservatif. Ces rapports non protégés sont une prise de risque pour leur partenaire (risque de transmission) et pour eux-mêmes, s'exposant alors à une possible surinfection.

Très peu de données sont disponibles sur le suivi virologique chez les adolescents en Afrique, C'est pour cette raison que nous nous proposons de mener cette étude dont l'objectif principal était d'estimer la prévalence des échecs virologiques dans la

plus grande et vieille cohorte sur un nombre d'adolescents sous traitement ARV à la
pédiatrie CHU – Gabriel Touré.

OBJECTIFS

2. OBJECTIFS

2.1. OBJECTIF GENERAL :

Etudier les échecs virologiques chez les adolescents infectés par le VIH-1, sous ARV au CHU Gabriel Touré.

2.2. OBJECTIFS SPECIFIQUES :

- Estimer la prévalence de l'échec virologique chez les adolescents infectés par le VIH-1, sous traitement ARV au CHU Gabriel Touré.
- Décrire le profil sociodémographique des adolescents suivis au CHU Gabriel Touré.
- Identifier les schémas thérapeutiques utilisés dans le traitement ARV chez les adolescents.
- Déterminer le profil immunologique et virologique des patients.

GENERALITES

3. GENERALITES :

3.1. HISTORIQUE :

A l'heure actuelle, les origines du VIH restent encore obscures. La transmission à l'homme d'un SimianImmunodeficiency Virus (SIV) au début du XXème siècle serait à l'origine du VIH. En effet, des virus apparentés au VIH, appelés SIV, ont été détectés chez plus de trente Espèces de singes en Afrique (singes verts, mangabés, mandrills, babouins, chimpanzés, gorilles.... [17]

□□ Les premières traces médicales du VIH/SIDA :

C'est le 5 juin 1981 qu'apparaît la première trace médicale du Sida. Cinq cas graves de pneumocystose sont rapportées par le CDC (« *Center for Disease Control and prévention* ») d'Atlanta dans l'article du "*Mortality and Morbidity Weekly Report*" intitulé : « *Pneumocystis Pneumonia-LosAngeles* ». Cet article décrit cinq cas rares de pneumonie à *Pneumocystis jiroveci* d'octobre 1980 à mai 1981 dans trois hôpitaux de Los Angeles. Les cinq patients sont jeunes, homosexuels et souffrent aussi de candidoses. Ces cas de pneumocystose sont extrêmement rares et ne touchent habituellement que des personnes immunodéprimées suite à une chimiothérapie.

[60] Le 4 juillet 1981, un nouvel article est publié dans le "*Mortality and Morbidity Weekly Report*" : « *Kaposi sarcome and pneumocystis among homosexualmen* » à propos de 26 cas de cancer de kaposi (une forme de cancer rare rencontré habituellement chez des sujets âgés) diagnostiqués chez des jeunes homosexuels.

[60]

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

A ce moment, le poppers (drogue très en vogue dans la communauté "gay") est évoqué comme cause de cette nouvelle affection. [60] Au début de l'année 1982, des cas semblables sont décrits dans d'autres pays du monde et le "*New England Journal of Médecine*" mentionne 159 cas dont des hétérosexuels et des usagers de drogues.

L'hypothèse avancée pour expliquer la cause de cette maladie est l'épuisement immunitaire et on suppose alors que cette immunosuppression est due à l'association d'une infection virale et de drogues. [60] Une nouvelle maladie liée à un

déficit de l'immunité est soupçonnée. Cette affection nouvelle est identifiée par son premier acronyme : «Gay-Related Immune Disorder» (GRID).

En avril 1982, il a été signalé le premier cas d'hémophile affecté par cette maladie.

En mai, le CDC renomme le GRID : «Acquired Immuno Deficiency Syndrome» (AIDS), nouveau nom, plus neutre, qui ne porte pas la qualification «gay». [60]

En 1982, les médecins sont confrontés à des cas similaires au sein des Communautés haïtiennes, chez des hémophiles et des transfusés, chez des toxicomanes utilisateurs de drogues par voie injectable, et chez un nouveau-né transfusé. [60]

Un épidémiologiste américain mentionne alors cette maladie comme « la maladie des 4 H » pour caractériser les 4 communautés à risque de cette affection : les homosexuels, les héroïnomanes, les haïtiens et les hémophiles. [60] Dès la fin de 1982, on constate des cas de transmission materno-fœtale et néonatale. [60]

Ces nouveaux cas, et l'identification dans certaines situations d'un patient responsable d'une contamination, ont permis de confirmer l'origine infectieuse de la maladie et de préciser ses modes de transmission (le sang et les relations sexuelles). [55]

En 1983, des cas de Sida sont répertoriés dans 33 pays. La plupart des cas se situent aux Etats-Unis et en Europe mais le problème du Sida africain apparaît avec les premiers cas identifiés de malades zairois. [38]

□□1983-1986 : une recherche scientifique dynamique :

En 1983, Montagnier Luc, Chermann Jean-Claude et Barré-Sinoussi Françoise de l'Institut Pasteur de Paris isolent une particule virale dans les lymphocytes ganglionnaires d'un patient homosexuel présentant des adénopathies persistantes généralisées. Ils baptisent le virus : "Lymphadenopathy Associated Virus" (LAV). [60]

Cette même année, une étude sur des sérums provenant de patients américains et français entreprise en collaboration entre le CDC d'Atlanta et l'Institut Pasteur a permis de renforcer l'hypothèse du lien entre le virus et le Sida en montrant la présence d'anticorps chez les malades. [30] En 1984, le Professeur Gallo et son équipe du "*National Cancer Institute*" de Bethesda parviennent à isoler le virus qu'ils nomment "Human T-cell Lymphotropic Virus" Type III (HTLV III). [2] Une polémique débute alors sur la paternité de la découverte du virus par les américains ou les français. Un terme sera mis à cette polémique par le séquençage des deux virus,

prouvant que tous deux sont issus d'une seule et même souche et que les deux appellations désignent donc le même virus. En 2008, Luc Montagnier et Françoise Barre-Sinoussi obtiendront, le prix Nobel de médecine pour leur découverte du VIH clôturant définitivement cette polémique sur la paternité de la découverte du virus.

En 1985, la commercialisation d'un test de dépistage du VIH commence. Ce test permet de détecter dans le sang les anticorps anti-VIH produits par l'organisme. En France, à partir d'août 1985, il est mis en place un dépistage systématique lors des dons de sang. [31]

En 1986, la communauté scientifique renomme le virus *VIH* ou "*HumanImmunodeficiency Virus*" (HIV) en désignation anglaise. [2]

Un second VIH est isolé chez des sujets originaires d'Afrique de l'ouest en 1986. Il fut appelé VIH-2 et le premier découvert est alors appelé le VIH-1. [2] En octobre 1987, l'assemblée générale des nations unies vote une résolution appelant les nations à soutenir la stratégie de prévention du Sida définie par l'Organisation mondiale de la Santé (OMS). [55]

□1987-2010 : Un arsenal thérapeutique et des campagnes de

Prévention :

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

En France, la publicité sur les préservatifs est enfin autorisée, la vente libre de seringue et d'aiguille est autorisée dans les pharmacies, et les premiers dépistages anonymes et gratuits sont organisés par Médecin du Monde. [60]

De 1990 à 1995, c'est la période des bithérapies. En effet, de nouvelles molécules antirétrovirales (la zalcitabine, la didanosine) sont mises à disposition et on se rend compte que l'efficacité des monothérapies successives est très vite limitée par le développement de résistances du virus à ces molécules. [32]

L'évaluation des bithérapies montre qu'elles ont une efficacité supérieure aux monothérapies (du moins transitoirement) et on assiste à l'amorce d'une réduction de la mortalité. [32]

En 1995, en France, des campagnes de distributions gratuites de seringues et d'aiguilles sont mises en place. On commence également une politique de

substitution des drogues avec la mise sur le marché de la méthadone, la même année. Ces mesures visent à réduire le nombre des contaminations chez les usagers de drogues par voie intraveineuse (IV). [60]

A partir de 1996, c'est l'ère des trithérapies, une révolution hautement capitale dans l'histoire de la maladie. En effet, une nouvelle classe d'antirétroviraux fait son apparition : les inhibiteurs de protéase (IP). Les trithérapies sont des associations de 3 molécules, généralement de 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) et d'un IP.

Ces trithérapies limitent durablement la réplication du virus et permettent un rétablissement partiel du système immunitaire, réduisant ainsi l'apparition de maladies opportunistes. [60]

On assiste donc à une diminution importante de la morbidité et de la mortalité de cette maladie dans les pays industrialisés et on passe d'une maladie aiguë à une maladie chronique (les trithérapies ne guérissent pas l'infection mais permettent dans de nombreux cas de vivre avec cette maladie). [60]

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

- Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) à partir de 1998,
- Les inhibiteurs de fusion (IF) à partir de 2003,
- Les inhibiteurs d'intégrase et les antagonistes du co-récepteur CCR5 en 2007.

Les nouvelles molécules des trois premières classes thérapeutiques arrivées sur le marché ont des formes galéniques simplifiées ou combinées, une meilleure tolérance et entraînent moins de résistances. [32]

3.2. CARACTERES DU VIRUS :

3.2.1. Structure physico-chimique

3.2.1.1. Structure:

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

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

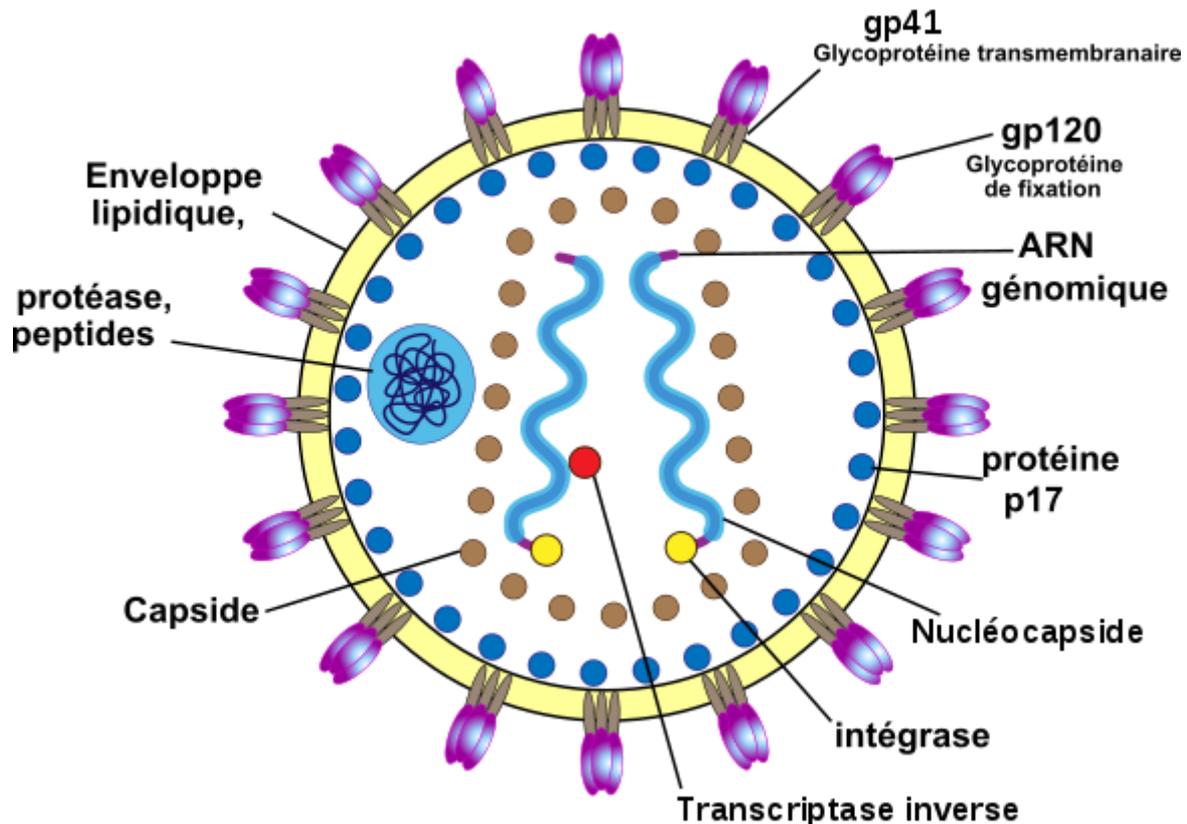


Figure 1 : Structure du VIH. [65]

3.2.1.2. Stabilité physico-chimique :

Le VIH étant un virus enveloppé, il est sensible aux solvants des lipides et aux détergents. Il ne résiste pas à la chaleur puisqu'il est inactivé à 56°C pendant 30 minutes et également par traitement pendant 5 minutes à l'hypochlorite de sodium à 0,2%, l'éthanol à 70 %, le glutaraldéhyde à 0,2 %.[7]

3.2.2. Cycle de multiplication :

Cibles des molécules antirétrovirales, les principales étapes du cycle répliatif du VIH sont communes aux Rétrovirus. Le virus entre en contact avec le récepteur CD4 via sa glycoprotéine gp120, qui va subir certaines modifications lui permettant de se fixer à un corécepteur (CCR5 ou CXCR4). Cette fixation dévoile la gp41, permettant ainsi la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire. Jusqu'à une époque récente, il avait été admis que la transcription inverse de l'ARN viral n'avait lieu

qu'après la décapsidation. Or, de récentes études ont montré que cette étape pouvait avoir lieu également dans la capsid, présente dans le cytoplasme. [3] L'ARN génomique y est ainsi rétro transcrit en ADN par la TI. L'ADN migre ensuite dans le noyau sous forme de complexe de pré-intégration pour être intégré dans le génome de la cellule hôte sous forme provirale grâce à l'intégrase. L'ADN proviral reste ensuite soit à l'état latent, soit est transcrit en ARN par la machinerie cellulaire. Les ARN produits sont destinés à plusieurs étapes : certains serviront de matériel génétique pour les nouveaux virions, d'autres seront traduits en polyprotéines, en ayant subi une étape d'épissage au préalable ou non. Les polyprotéines produites vont subir certaines modifications ; la gp160 est clivée par une protéase cellulaire en gp120 et gp41, protéines qui vont ensuite migrer vers la membrane cellulaire. Les précurseurs gags et gag-pol vont ensuite être clivés par la protéase virale, qui se sera auto-clivée de gag-pol au préalable. Tous ces éléments vont ensuite se rapprocher de la membrane cellulaire pour être empaquetés. Le virion ainsi formé, après bourgeonnement, entre dans un processus de maturation grâce à la protéase pour aboutir à un virus mature dont la capsid est définitivement assemblée. [13]

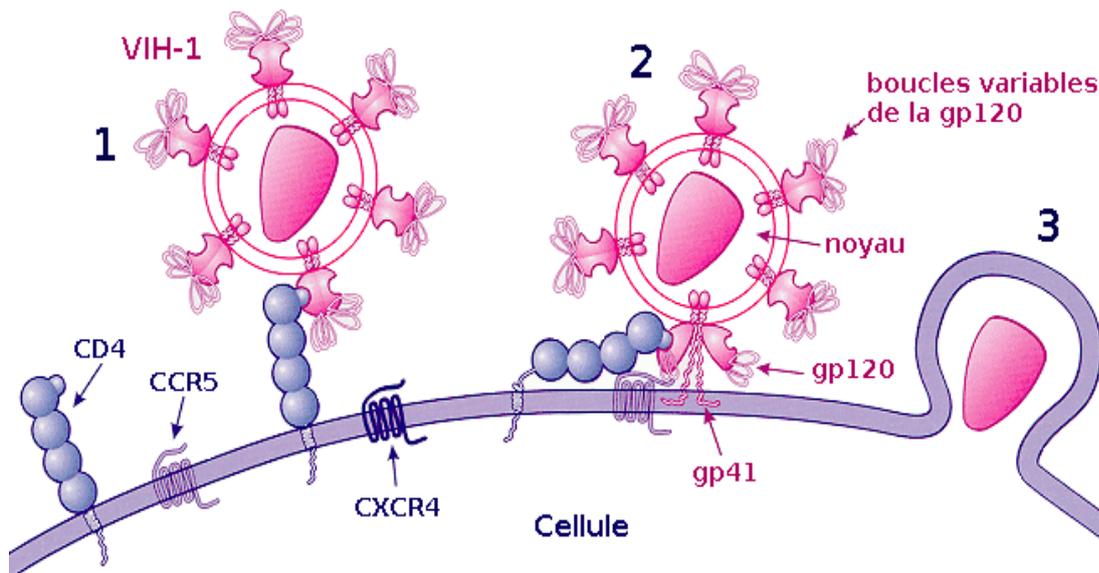


Figure 2 : Processus d'attachement du VIH. [66]

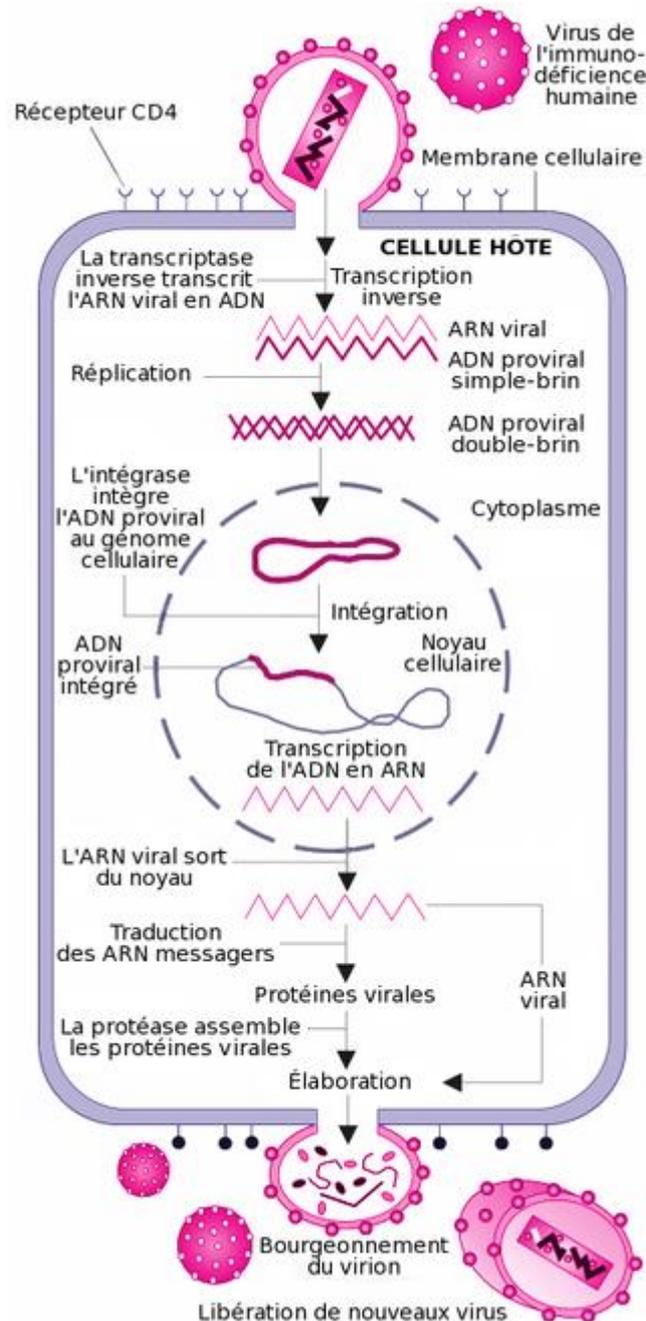


Figure 3 : Cycle de réplication du VIH. [65]

3.2.3. Cellules cibles et Réservoir viral :

Les cellules sensibles à l'infection par le VIH expriment le récepteur CD4 à la surface de leur membrane. Ce récepteur, découvert en 1984, se n'avère ne pas être suffisant pour permettre l'entrée du virus. Dix ans plus tard, les récepteurs aux chimiokines, CXCR4 et CCR5, ont été désignés comme co-récepteurs indispensables à l'entrée du VIH-1 dans sa cellule cible. Parmi les cellules cibles, on retrouve principalement les lymphocytes T CD4 auxiliaires, mais également les cellules présentatrices

d'antigènes, telles que les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules de Langerhans et les cellules microgliales du cerveau. La majorité des infections (99%) a lieu dans les cellules lymphocytaires activées CD4+ des organes lymphoïdes, réservoir principal du virus. En effet, il semble que le processus de pathogénicité du VIH soit initié précocement dans les organes lymphoïdes. De plus, une des particularités du VIH est de persister sous forme d'ADN proviral dans les cellules T4 mémoires. Certaines d'entre elles entrent en phase quiescente après infection et intégration du provirus ; la réplication cellulaire, donc celle du provirus, est inhibée par un certain nombre de facteurs cellulaires, résultant en un ADN proviral silencieux dans la cellule, et ce jusqu'à plusieurs mois. Ce n'est que lors d'une stimulation immunitaire que les réplifications cellulaire et virale reprennent, aboutissant ainsi à la production de virions capables d'infecter de nouvelles cellules. [35]

3.2.4. Variabilité génétique des VIH :

Sur la base des distances génétiques entre les VIH-1 retrouvés chez les patients, une classification des VIH-1 en quatre groupes distincts, appelés, M (« Main »), O (« Outlier »), N (« non-M, non O ») et P a été établie. Le groupe P est un nouveau variant VIH-1 identifié récemment chez une femme Camerounaise.

Le groupe M (Majoritaire), regroupe 11 sous-types (A1, A2, B, C, D, F1, F2, G, H, J et K) dont le sous type majoritaire est le C qui représente plus de 50% des infections dans le monde. La répartition géographique de ces sous-types est variable <http://www.hiv.lanl.gov>. Récemment 03 sous-types du groupe M (A3, A4 et A5) ont été identifiés.

Les groupes O et N, beaucoup plus rares, sont retrouvés principalement au Cameroun avec une prévalence de 2 à 5 %.

Dans le cas de co-infection par plusieurs types de VIH-1, des phénomènes de recombinaisons entre les virus distincts permettent l'émergence de virus recombinants, les « CirculatingRe-combinantForm » (CRF), composant de véritables mosaïques des différents sous-types.

Parmi les 72 CRF identifiés, les plus fréquemment décrits sont le recombinant CRF01-AE jouant un rôle important dans l'épidémie en Asie et le CRF02-AG responsable de l'épidémie en Afrique de l'Ouest (Mali) et qui est très fréquemment retrouvé en France. Des centaines de formes recombinantes ne correspondent pas à

ces critères de classification, appelées unique recombinants forms (URF) ont été identifiés à ce jour.

De même que les VIH-1, les VIH-2 sont également classées jusqu'à présent en sept sous-types distincts.

(A, B, C, D, E, F et G). Un virus recombinant du VIH-2 a été identifié au Japon en 2010 (le HIV-2 CRF01-AB) par Ibe et al.

La variabilité des VIH a de nombreuses conséquences dont la plus importante est la difficulté à développer un vaccin préventif, qui n'est pas non plus sans conséquences sur la physiopathologie de la maladie et sur la prise en charge thérapeutique des patients infectés par le VIH-1 de sous type non B.

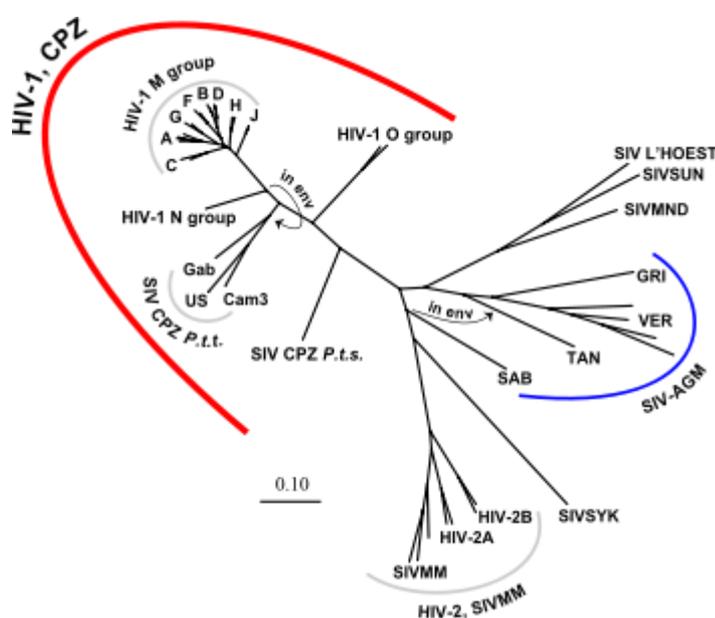


Figure 4 : Arbre phylogénétique du VIH et du VIS. [65]

3.3. POUVOIR PATHOGENE :

3.3.1. Infection humaine :

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

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

Manifestations neurologiques, tuberculoses disséminées....

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

• **Classification clinique suivant le CDC (Edition de 1993) :**

Catégorie A :

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

- Lymphadénopathie persistante généralisée
- Primo-infection symptomatique

Catégorie B :

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

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

Catégorie C :

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

- Candidose trachéale, bronchique, pulmonaire, œsophagienne, extrapulmonaire ;
- Cryptococcose extrapulmonaire ;
- Pneumonie à *Pneumocystisjiroveci*;
- Toxoplasmose cérébrale ;
- Infection à CMV autre qu'hépatique, splénique ou ganglionnaire ;
- Rétinite à CMV ;
- Encéphalopathie due au VIH ;
- Infection herpétique, ulcère > 1 mois, ou broncho-pulmonaire, Œsophagienne ;
- Infection à *Mycobacteriumtuberculosis* pulmonaire ou extrapulmonaire ;
- Infection à mycobactérie identifiée ou non, disséminée ou Extrapulmonaire ;
- Infection à *Mycobacteriumavium*, disséminée ou extrapulmonaire ;
- Pneumopathie bactérienne récurrente ;
- Septicémie à salmonelloses non typhiques récurrente ;
- Cryptosporidiose intestinale évoluant depuis plus d'un mois ;
- Isosporidiose intestinale chronique évoluant depuis plus d'un mois ;
- Leucoencéphalopathie multifocale progressive ou LEMP ;
- Coccidioïdomycose, disséminée ou extrapulmonaire ;
- Histoplasmosse disséminée ou extrapulmonaire ;
- Sarcome de Kaposi ;
- Lymphome de Burkitt ;
- Lymphome immunoblastique, lymphome cérébral primaire, cancer Invasif du col ;
- Syndrome cachectique dû au VIH ;

La Classification OMS 2013 en stades cliniques :

Stade clinique 1, il est défini par :

- Patient asymptomatique.
- Adénopathies persistantes généralisées.

Stade clinique 2, défini par :

- Perte de poids inférieure à 10 % du poids corporel.
- Manifestations cutané muqueuses mineures (dermite séborrhéique, ulcérations buccales récurrentes).

- Zona au cours des 5 dernières années.
- Infections récidivantes des voies respiratoires supérieures.

Stade clinique 3, défini par :

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

Stade clinique 4, défini par :

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

3.3.2. Pouvoir pathogène expérimental :

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

Le modèle expérimental le plus étudié est le modèle SIV. Les virus simiens SIV_{mac} et SIV_{sm} sont associés au développement rapide du Sida chez le macaque. Ce modèle permet donc de réaliser des études visant à une meilleure connaissance de la physiopathologie de l'infection ainsi que l'évaluation de certaines approches thérapeutiques. [10]

3.3.3. Répartition géographique :

Le VIH est très répandu au niveau mondial, les VIH-1 de sous-types non B représentent au moins 90% des virus circulants. Les sous-types prédominants sont

le sous-type C, responsable de 50% des infections, principalement en Afrique de l'Est, en Asie, le sous-type A et D en Afrique de l'Est, le sous-type CRF02-AG en Afrique de l'Ouest et le sous-type B aux Etats-Unis, en Europe et en Australie.

En Afrique centrale, circulent les différents groupes du VIH-1 (M, N et O), l'ensemble des sous-types du groupe M et la majorité des formes recombinantes. La grande majorité des infections à VIH-1 groupe O est retrouvée en Afrique du Centre-Ouest et particulièrement au Cameroun où il constitue 1,6% des patients infectés par le VIH (27). Des études récentes ont montré qu'en France, des sous-types non B circulent, et que la moitié de ces virus isolés sont des virus CRF02-AG, ce qui témoigne des liens existants entre la France et l'Afrique de l'Ouest.

Le VIH-2 a une diffusion beaucoup plus limitée, et est essentiellement présent en Afrique de l'Ouest, en particulier en Guinée- Bissau, Gambie, Sénégal, Cote d'Ivoire, Burkina-Faso et Mali. Il a atteint le Mozambique et l'Angola, à partir de la Guinée-Bissau et hors d'Afrique la France, l'Inde, le Portugal et le Brésil.

3.4. EPIDEMIOLOGIE :

3.4.1. Données sur l'épidémie :

A l'échelle mondiale, 35.3 millions de personnes vivaient avec le VIH à la fin de l'année 2012. Selon les estimations, 0,8% des adultes âgés entre 15 et 39 ans dans le monde entier vit avec le VIH bien que les circonstances de l'épidémie qui pèsent sur les pays et les régions continuent de varier considérablement.

L'Afrique subsaharienne reste sévèrement touchée par l'épidémie et concentrait 70 % de l'ensemble des nouvelles infections à VIH en 2012.

Depuis 2001 cependant, le nombre annuel de nouvelles infections à VIH chez les adultes en Afrique subsaharienne a diminué de 34 %.

Divers pays d'Afrique subsaharienne ont enregistré une diminution notable de la prévalence du VIH chez les jeunes des deux sexes (15-24 ans), qui a chuté de 42 % dans la région entre 2001 et 2012. En dépit de ces tendances favorables, le taux de prévalence du VIH chez les jeunes femmes demeure plus du double de celui des hommes en Afrique subsaharienne.

La diminution la plus marquée depuis 2001 a été observée dans la région des Caraïbes (49 %). Une recrudescence des nouvelles infections à VIH a été observée en Europe orientale et en Asie centrale ces dernières années malgré une baisse en

Ukraine. En revanche, le nombre de nouvelles infections à VIH continue d'augmenter au Moyen-Orient et en Afrique du Nord.

A l'échelle mondiale, le nombre de nouvelles infections continue de diminuer : le nombre de personnes (adultes et enfants confondus) infectés par le VIH en 2011 (2,5 millions) était de 20% inférieur à celui de 2001. A la même année, 1,7 millions de décès dus au SIDA ont été enregistrés dans le monde entier. Cela représente une baisse de 24% de la mortalité liée au SIDA par rapport à 2005. En Afrique subsaharienne le nombre de décès liés au SIDA a diminué de 32% de 2005 à 2011.

3.4.2. Mode de Transmission :

Trois principaux modes de transmission sont actuellement responsables de l'expansion de l'épidémie du VIH :

- **La transmission par voie sexuelle :**

Quatre-vingt pour cent des infections dans le monde ont été acquises lors de rapports sexuels non protégés, hétérosexuels pour 70% d'entre eux, et homosexuels entre hommes pour 5 à 10%. La transmission sexuelle de l'infection à VIH se fait par les muqueuses, muqueuses du vagin, du pénis, du rectum ou de la bouche, en contact avec des sécrétions sexuelles ou du sang contenant du virus.

- **La transmission de la mère à l'enfant :**

Ce problème dévie crucial dans les pays en développement. L'ONUSIDA rapporte dans rapport 2013 que suite à l'intensification des services de prévention du VIH, 260 000 (230 000-320 000) nouvelles infections ont été détectées chez les enfants en 2012 dans les pays à revenu faible et intermédiaire, soit 35 % de moins qu'en 2009.

La transmission du virus de la mère à l'enfant peut survenir à des moments différents, in utero dans les semaines précédentes l'accouchement dans 2/3 des cas, ou pendant l'allaitement.

- **Transmission par voie sanguine :**

Ce mode de transmission concerne principalement trois groupes de population : Les usagers de la drogue par voie intraveineuse, les hémophiles et les autres malades ayant reçu une transfusion de sang ou des dérivés du sang.

3.5. DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE :

3.5.1. Dépistage et confirmation :

3.5.1.1 Tests de dépistage :

✚ Les tests ELISA automatisables :

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

❖ Les tests sérologiques de première et deuxième génération :

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

❖ Les tests sérologiques de troisième génération :

Ils détectaient toutes les classes d'anticorps y compris les IgM. Des protéines recombinantes ou synthétiques servaient d'antigène, améliorant nettement la sensibilité et la spécificité de ces tests. Ils permettaient de détecter une primo-infection par le VIH en moyenne 22 jours après le comptage. Ils furent très largement utilisés. [14]

❖ Les tests sérologiques de quatrième génération :

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

✚ Les tests de dépistage rapide ou TDR :

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

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

Les TDR présentent néanmoins quelques limites :

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

3.5.1.2 Tests de confirmation :

❖ La technique du Western Blot (WB) :

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

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

❖ Interprétation des tests de confirmation :

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

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

3.5.2. Recherche d'une antivénérien :

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

3.5.3 Isolement du virus :

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

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

Cette technique n'a pas sa place en pratique courante pour le diagnostic de l'infection par le VIH. [14]

3.5.4. Diagnostic moléculaire :

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

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

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

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

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

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

Pour affirmer qu'un enfant est infecté, il faut deux prélèvements positifs, en sachant qu'un résultat positif à la naissance est en faveur d'une infection in utero, et qu'un

résultat positif plus tardivement est en faveur d'une infection en période post parfum.
[62]

3.6. TRAITEMENT DES PERSONNES INFECTÉES PAR LE VIH :

3.6.1. Définition des ARV :

Un antirétroviral (ARV) est une classe de médicaments utilisée pour le traitement des infections liées aux rétrovirus.

Il s'agit de médicaments essentiellement virostatiques (actif sur VIH-1 et VIH-2) qui agissent au niveau des trois enzymes et des protéines cibles nécessaires à l'entrée et à la réplication du VIH dans la cellule.

3.6.2. Objectifs du traitement antirétroviral :

Le but principal de la thérapeutique antirétrovirale est d'entraver la progression de la maladie vers le stade Sida et ce, en restaurant un taux de lymphocytes CD4 supérieur à 500/mm³.

Dans la Collaboration Européenne de cohortes COHERE, la mortalité des hommes ayant un nombre de CD4 > 500/mm³ depuis plus de trois ans est comparable à celle des hommes de la population générale.

Pour atteindre ce but et diminuer les effets pathogènes du VIH, le traitement ARV doit rendre la charge virale plasmatique (CV) indétectable (<50 copies/ml), ce qui maximalise la restauration immunitaire, minimalise le risque de sélection de virus résistants et réduit la morbidité associée au VIH.

Si l'efficacité immuno-virologique est l'objectif principal du traitement ARV, d'autres objectifs doivent être recherchés conjointement :

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

3.6.3. Quand débiter un traitement ARV :(selon les recommandations 2013 de OMS) : [42]

3.6.3.1. Chez l'adulte et l'adolescent :

- ❖ Un TAR doit être mis en route en priorité chez toute personne présentant une infection à VIH sévère ou à un stade clinique avancé (stade clinique de l'OMS 3 ou 4) et chez toute personne dont le nombre de CD4 est ≤ 350 cellules/mm³.

- ❖ Un TAR doit être mis en route chez toute personne vivant avec le VIH dont le nombre de CD4 est > 350 cellules/mm³ et ≤ 500 cellules/mm³, quel que soit le stade clinique de l'OMS.
- ❖ Un TAR doit être mis en route chez toute personne vivant avec le VIH quel que soit le stade clinique ou le nombre de CD4, dans les situations suivantes :
 - Personne vivant avec le VIH et présentant une tuberculose active.
 - Personne présentant une coïnfection par le VIH et le VHB avec des signes d'atteinte hépatique chronique sévère.
 - Partenaire séropositif dans un couple sérodiscordant ; un TAR doit lui être proposé afin de réduire la transmission du VIH au partenaire non infecté.

3.6.3.2. Chez la femme enceinte et la femme allaitante au sein :

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

3.6.3.3. Chez l'enfant :

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

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

3.6.4. Le choix des molécules :

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

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

Traitement ARV de première intention chez la femme enceinte et chez la femme allaitant au sein ainsi que chez leurs nourrissons.

- ❖ Chez la femme enceinte et chez la femme allaitant au sein, y compris chez la² femme enceinte au cours du premier trimestre de grossesse et la femme en âge de procréer, il est recommandé d'utiliser comme TAR de première intention une association à dose fixe en prise unique quotidienne de TDF + 3TC (ou FTC) + EFV. Cette recommandation s'applique aussi bien pour le traitement à vie que pour le TAR mis en route pour la PTME puis arrêté.
- ❖ Un nourrisson né d'une mère qui reçoit un TAR et allaité au sein doit recevoir une prophylaxie pour nourrisson par prise quotidienne de NVP pendant six semaines. Si le nourrisson reçoit une alimentation de remplacement, il doit

recevoir une prophylaxie pour nourrisson par prise quotidienne de NVP (ou d'AZT deux fois par jour) pendant quatre à six semaines. La prophylaxie pour nourrisson doit commencer à la naissance ou lorsque l'on prend connaissance après l'accouchement de l'exposition au VIH.

✚ Traitement de première intention chez l'enfant âgé de moins de 3 ans.

- ❖ Un schéma thérapeutique à base de LPV/r doit être utilisé comme TAR de première intention chez tout enfant infecté par le VIH âgé de moins de trois ans (36 mois), qu'il ait ou non été exposé à un INNTI. S'il n'est pas faisable d'utiliser du LPV/r, le traitement doit être mis en route en utilisant un schéma thérapeutique à base de NVP.
- ❖ Lorsque le suivi de la charge virale est disponible, il peut être envisagé, une fois obtenue une suppression virale prolongée, de changer le LPV/r par un INNTI.
- ❖ Chez le nourrisson et l'enfant âgé de moins de trois ans infectés par le VIH qui développent une tuberculose alors qu'ils reçoivent un schéma de TAR contenant de la NVP ou du LPV/r, il est recommandé d'utiliser comme option l'association ABC + 3TC + AZT. Une fois le traitement antituberculeux terminé, il faut arrêter ce schéma thérapeutique et reprendre le schéma thérapeutique initial.
- ❖ Chez le nourrisson et l'enfant âgé de moins de trois ans infectés par le VIH, la base d'INTI à utiliser pour le TAR doit être composée d'ABC + 3TC ou d'AZT + 3TC.

✚ Traitement de première intention chez l'enfant âgé de 3 ans et plus.

- ❖ Chez l'enfant infecté par le VIH âgé de trois ans et plus, l'EFV est l'INNTI privilégié pour le TAR de première intention et la NVP est l'option de remplacement.
- ❖ Chez l'enfant infecté par le VIH âgé de trois ans et plus et de moins de 10 ans (ou pesant moins de 35 kg), la base d'INTI du schéma de TAR doit être constituée de (par ordre de préférence) :
 - ABC + 3TC
 - AZT ou TDF + 3TC ou FTC.

❖ Chez l'adolescent infecté par le VIH (âgé de 10 ans ou plus) pesant 35 kg ou plus, la base d'INTI du schéma de TAR doit être harmonisée avec celle utilisée chez l'adulte et constituée de :

- TDF + 3TC ou FTC
- AZT + 3TC
- ABC + 3TC.

3.6.5. Schémas thérapeutiques :

Le schéma thérapeutique préconisée par l'OMS en première intention est l'utilisation de (02) INTI+ (01) INNTI ou (02) INTI+ (01) IP/r (/r = boosté par le ritonavir) avec l'usage de molécules moins toxiques et de combinaisons de thérapie antirétrovirale de dose fixe.

Au Mali, les régimes préférentiels en première intention ou schéma de 1ère ligne et en deuxième intention ou de 2ème ligne chez l'adulte et l'adolescent sont les suivants.

✓ Schémas de 1ère ligne :

Il associe deux inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse (**INTI**) et un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (**INNTI**).

Le régime préférentiel en première intention est le suivant :

Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)

Les régimes alternatifs suivants sont possibles :

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

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

Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)

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

✓ Schémas de 2ème ligne :

Le schéma de 2ème ligne doit inclure au moins (02) nouvelles molécules dont l'une issue d'une famille différente des familles utilisées en première ligne. La lamivudine (3TC) ou l'emtricitabine (FTC) doit être toujours maintenue en 2ème ligne.

En cas d'échec thérapeutique confirmé VIH 1 et 2 de la 1ère ligne, le schéma préférentiel de deuxième ligne suivant est recommandé :

Deux (02) inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la TI + Un (01) inhibiteur de protéase boosté.

Les IP préférentiels sont : Lopinavir/r (LPV/r) et Atazanavir (ATV/r).

✓ **Schémas de 3ème ligne :**

Choix des molécules de 3e ligne :

Les patients en échec virologique de 2e ligne doivent être gérés en fonction du résultat du test de génotypage de résistance

Optimisation de la nouvelle combinaison thérapeutique de 3ème ligne

- En cas de multi résistance aux INTI, éviter cette classe mais
- Envisager de maintenir la Lamivudine (3TC) même en cas de présence de résistance documentée (mutation M184V)
- Sélectionner un IP boosté actif et éviter autant que possible l'utilisation de 2 IP boostés.

Le schéma de troisième ligne recommandé sera :

Darunavir/r (DRV/r)+ 1INTI sensible + Raltégravir (RLT)

3.7. La résistance aux Antirétroviraux :

3.7.1. Définition :

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

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

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

3.7.2. Mécanisme d'apparition des mutations de résistance :

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

Les mutations entraînent des modifications des enzymes ou protéines, en diminuant la sensibilité des virus aux antirétroviraux par des mécanismes différents selon les classes et même selon l'antirétroviral dans une même classe. [62]

Ces mécanismes peuvent être dus :

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

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

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

3.7.3. Mécanisme de la résistance aux antirétroviraux :

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

3.7.3.1. Les analogues nucléosidiques de la transcriptase inverse

(INTI) :

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

▪ Diminution de l'incorporation de l'analogue :

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

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

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

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

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

Un autre profil de résistance à l'ensemble des analogues nucléosidiques et au ténofovir consiste en des insertions au codon 69 de la transcriptase inverse. Ce complexe comprend une mutation au codon 69, typiquement une sérine, et une insertion d'acides aminés (S-S, SA, S-G ou autre). Ces insertions au codon 69 sont souvent associées à d'autres mutations sur le gène de la transcriptase inverse. La fréquence de ces insertions est heureusement rare. [21]

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

Ce mécanisme intervenant dans la résistance aux INTI est conféré à un groupe de six mutations : M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F et K219Q/E. Ces mutations, initialement décrites comme des mutations de résistances sélectionnées par la zidovudine puis également par la stavudine, affectant la réponse virologique à ces molécules, ont été appelées TAM pour Thymidine Analogue Mutations. [15 ,45]

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

En effet, les TAM modifient la structure de la transcriptase inverse, facilitant l'entrée de l'ATP au niveau d'un site proche de l'analogue incorporé à l'ADN. Le phosphate terminal de l'ATP réagit avec la liaison phosphodiester liant l'analogue à l'ADN. Cette réaction entraîne l'excision de l'analogue et la libération du groupement OH du dernier nucléotide. La synthèse de l'ADN viral peut alors reprendre. Ce mécanisme

sensible est efficace pour la zidovudine. L'incorporation des désoxynucléotides naturels et de la plupart des analogues nucléosidiques dans l'ADN est rapidement suivie de leur translocation en un « complexe fermé » et, dans cette conformation, la liaison phosphodiester est réfractaire à l'excision par l'ATP. La mutation M184V semble entraîner une diminution de la pyrophosphorolyse, ce qui inhiberait ainsi l'effet des TAM. [25] Les TAM sont responsables d'une résistance à l'ensemble des INTI à des niveaux divers, sauf à la 3TC et au FTC. Cette résistance croisée est variable en fonction du nombre de TAM et de l'INTI. Par ailleurs, les mutations K70R et K219Q/E ont moins d'impact que les quatre autres sur la résistance croisée. La mutation M184V, en présence de TAM, augmente la résistance in vivo à l'abacavir et n'a pas d'impact sur le ténofovir ni sur la didanosine.

3.7.3.2 Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse

(INNTI) :

Les inhibiteurs non nucléosidiques comme l'éfavirenz et la névirapine pour les molécules de première génération sont de petites molécules qui se fixent au niveau d'une poche hydrophobe située à proximité du site catalytique de la transcriptase inverse. Ces composés sélectionnent des mutations situées au niveau de leur site de fixation qui affecte la flexibilité de l'enzyme, bloquant ainsi la synthèse de l'ADN. Ce sont typiquement des molécules dont la « barrière génétique » est basse puisqu'une mutation au niveau de la poche hydrophobe confère une résistance croisée entre efavirenz et névirapine, INNTI de première génération. De nouvelles molécules de seconde génération, comme l'étravirine et la Rilpivirine sont actives in vitro et/ou in vivo sur certains virus ayant une résistance aux INNTI de première génération. [4,57] L'essai DUET a ainsi démontré que la mutation K103N n'avait pas d'impact délétère sur la réponse virologique à l'Etravirine. En revanche, la mutation Y181C a un impact négatif quand elle est associée à d'autres mutations de résistance aux INNTI. Enfin, les mutations Y181I/V, même isolées, réduisent significativement la réponse à l'étravirine. [36] Il existe in vivo une résistance croisée élevée entre étravirine et Rilpivirine.

Il est évident que l'accumulation de mutations de résistance aux INNTI de première génération diminue l'efficacité de l'étravirine : il est donc recommandé de ne pas laisser une réplication résiduelle sous éfavirenz ou névirapine pour ne pas accumuler

ces mutations et réduire l'efficacité de traitement ultérieur par des molécules de seconde génération telles que l'étravirine ou la Rilpivirine.

3.7.3.3. Inhibiteurs de protéase (IP) :

Les inhibiteurs de protéase (IP) constituent une famille importante qui bénéficie d'une barrière à la résistance élevée même s'il existe au sein de cette classe une importante résistance croisée. La résistance aux IP est un phénomène graduel avec accumulation progressive de mutations au niveau du site actif de l'enzyme et à distance de celui-ci. On distingue des mutations de résistance majeures et mineures :

- Les mutations mineures/secondaire, qui sont des mutations pouvant faire partie du polymorphisme de la protéase virale, apparaissent plus tardivement et vont augmenter la résistance aux IP et aider le virus à retrouver ses capacités répliquatives.

- Les mutations majeures/primaires sont généralement sélectionnées les premières lors d'un échappement et diminuent la liaison des IP à leur substrat enzymatique.

De nombreuses études montrent qu'il existe une grande différence entre les IP potentialisés par le ritonavir (IP/r) et les IP non potentialisés en terme de réponse virologique et de taux de sélection de mutations de résistance chez les patients naïfs d'antirétroviraux. [61]

3.7.3.4. Les inhibiteurs d'entrée :

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

➤ Inhibiteur de fusion :

L'inhibiteur de fusion, enfuvirtide ou T20 (Fuzéon), est un peptide de 36 acides aminés dérivé de la région HR-2 de la gp-41. Il se fixe à la boucle trimérique HR-1 inhibant ainsi la fusion et l'entrée du virus dans la cellule. Des mutations dans HR-1 réduisant la sensibilité au T-20 ont été identifiées in vitro mais aussi in vivo chez des patients échappant à l'enfuvirtide dans les essais cliniques. [54] Ces mutations sont

situées au niveau des codons 36 à 45 de la gp 41. Elles apparaissent rapidement (quelques semaines) en cas de réplication virale sous T 20. Des mutations sont sélectionnées plus tardivement dans HR-2, mais elles n'ont pas d'impact sur la résistance au T 20 et compensent probablement des mutations de HR-1 pour la capacité répliquative virale. Il n'existe pas de résistance croisée entre le T20 et d'autres inhibiteurs d'entrée tels que les inhibiteurs du corécepteur CCR5.

Inhibiteur des corécepteurs :

De petites molécules inhibitrices de l'interaction gp-120-CCR5, telles que le maraviroc, sont des antagonistes allostériques non compétitifs qui se lient au même site que la gp-120 sur le corécepteur CCR5. Le maraviroc (Celsentri) a obtenu son autorisation de mise sur le marché en Europe chez les patients prétraités par antirétroviraux et infectés par des isolats VIH à tropisme R5. In vitro, la résistance au maraviroc est liée à des échappements de la gp-120 qui permettent à l'enveloppe virale de s'attacher au complexe CCR5-maraviroc mais peu d'isolats cliniques résistants au maraviroc ont été étudiés. [39] La résistance semble associée à des mutations de la boucle V3, variables d'un isolat à l'autre, en particulier aux positions 13 et 26. En pratique clinique, les échappements thérapeutiques aux inhibiteurs de CCR5 ont été attribués le plus souvent à la sélection de virus de tropisme CXCR4, préexistants en proportion minoritaire au traitement et non détectés par les tests de tropisme. La détermination du tropisme virale est donc absolument nécessaire avant la prescription d'inhibiteurs de CCR5.

3.7.3.5. La résistance aux inhibiteurs d'intégrase :

Elle est due à la sélection et à l'émergence, sous traitement, de variants viraux initialement minoritaires, portant des mutations de résistance. In vivo, trois profils majoritaires distincts comportant soit la mutation N 155H, soit la mutation Q148H/K/R, ou la mutation à la position 143 associés à une ou plusieurs mutations secondaires, ont été mis en évidence en cas d'échappement virologique au raltégravir. [22] En ce qui concerne l'élvitégravir, différents profils peuvent être sélectionnés, notamment les mutations E92G/Q ou N155H ou 148R/K. [53] Il existe une résistance croisée très importante entre la raltégravir et l'élvitégravir. La barrière génétique des molécules de 1ère génération (Raltégravir et Elvitégravir) de cette classe est faible et une seule mutation peut induire d'emblée une résistance complète à ces molécules.

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

3.8. Echec thérapeutique :

L'échec thérapeutique regroupe différentes situations.

3.8.1. Echec clinique :

Il se caractérise par la survenue de manifestations cliniques témoins de la progression de la maladie VIH (symptômes liés au VIH, nouvelle infection opportuniste ou rechute d'une infection préexistante, survenue de tumeurs). [23]

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

3.8.2. Echec immunologique :

Il est défini par l'absence d'ascension des lymphocytes T CD4 malgré un traitement antirétroviral efficace depuis au moins 6 mois. Cette situation se rencontre fréquemment chez les patients ayant initialement un taux de lymphocytes T CD4 préthérapeutique bas, un âge plus avancé. Cet échec peut s'accompagner d'un succès ou d'un échec virologique. [23]

3.8.3. Echec virologique :

L'échec virologique constitue la situation la plus fréquemment rencontrée. Il est stricto sensu défini comme toute valeur détectable de la charge virale plasmatique, c'est-à-dire juste au-dessus du seuil de détection. Actuellement, un seuil à 50 copies/ml est le plus souvent utilisé et constitue l'objectif à atteindre pour toute intervention thérapeutique quelle que soit la situation thérapeutique : traitement initial ou traitements de ligne ultérieure. [29]

Il n'existe pas toujours de formes galéniques adaptées à l'usage pédiatrique. Les formes pédiatriques (sirops, suspensions) sont utilisées chez l'enfant de moins de 15 kg ; on préférera les comprimés pour l'enfant de plus de 15 kg.

Au Mali, l'échec virologique est défini comme étant l'impossibilité de réduire la charge virale à un niveau indétectable après six mois de traitement bien conduit. Il est caractérisé par une charge virale plasmatique supérieure à 1000 copies/ml après vérification de l'observance. [40]

Il faut différencier l'échec virologique du « rebond virologique » qui est défini comme une charge virale détectable après une période d'indétectabilité (au moins 2 points consécutifs) ; celui-ci doit être distingué d'un « blip » de la charge virale (détection d'une charge virale plasmatique isolée comprise entre 50 et 1000 copies/ml sur un prélèvement avec un point suivant de charge virale, réalisé au plus tard un mois après, < 50 copies/ml. [47]

En règle générale, l'échec virologique résulte d'une inhibition suboptimale de la réplication virale, conséquence d'une puissance insuffisante du traitement. Celle-ci peut être due : à une concentration de molécules antirétrovirales insuffisante, résultant soit d'un défaut d'observance, soit de posologies inadaptées, soit d'interactions médicamenteuses néfastes ; au développement de la résistance vis-à-vis d'une ou de plusieurs molécules antirétrovirales. [27]

3.9. Observance (selon Mémento Thérapeutique du VIH/SIDA en Afrique. 2009 : 2ième Edition p41) :

3.9.1 Définition :

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

3.9.2 Mesure de l'observance :

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

Quelques outils pour mesurer l'observance :

- Auto-questionnaire et entretien,
- Méthode du carnet,
- Dénombrement des comprimés,
- Taux de renouvellement des ordonnances,

- Dosages biologiques,
- Observation direct du traitement.

METHODOLOGIE

4. METHODOLOGIE :

4.1. Lieu et cadre de l'étude :

Notre étude s'est déroulée dans l'unité de charge virale du laboratoire d'analyses biomédicales et au Centre d'Excellence de Prise en Charge Pédiatrique du VIH /Sida au service de pédiatrie du CHU Gabriel Touré.

Le CHU Gabriel TOURE est situé à Bamako, capitale du Mali, en commune III au centre commercial de la ville, Rue VAN VOLLENHOVEN. Il est bâti sur une superficie de 3,1 hectares. En 1959, l'ancien Dispensaire Central de Bamako a été érigé en hôpital. Il sera baptisé « Hôpital Gabriel TOURE » en hommage au sacrifice d'un jeune Soudanais stagiaire en 4eme année de médecine de Dakar (Sénégal). Il était venu faire son stage de vacances au dispensaire central de Bamako. Cela a coïncidé avec une épidémie de peste au Soudan Français. Le jeune étudiant en médecine fit des actions sacerdotales pour sauver les victimes. Il contracta lui-même la peste lors de cette épidémie et mourut en 1934.

C'est l'ancienne pharmacie de l'hôpital qui a été réaménagée en laboratoire de biologie médicale lui-même faisant partie du Département médico-technique.

Le Centre d'Excellence de Prise en Charge Pédiatrique du VIH /Sida est situé au rézez de chaussée de la pédiatrie et comprend :

- Une salle d'attente,
- Une salle de counseling et de groupe de paroles/causerie,
- Quatre bureaux de consultation,
- Une salle d'hospitalisation de jour servant de salle de prélèvement et de soins,
- Un secrétariat.

4.2 Type et période d'étude :

Nous avons mené une étude prospective et descriptive chez les adolescents infectés par le VIH au CHU Gabriel Toure entre novembre 2016 et décembre 2017.

4.3 Population d'étude :

Notre étude a porté sur les adolescents, recrutés au niveau du seul site pédiatrique de prise en charge du VIH à Bamako (centre d'excellence de prise en charge pédiatrique du VIH/Sida). Il s'agissait des patients répondant aux critères d'inclusion.

4.4. Critères d'inclusion :

Ont été inclus :

- Les patients en échec virologique sous traitement ARV.

- Patients Infectés par le VIH-1,

4.5. Critères de non inclusion :

N'ont pas été inclus :

- Les patients ne répondant pas aux critères ci-dessus cités,
- Patients infectés par le VIH-2 ou VIH-1/VIH-2,

4.6. Techniques utilisées :

➤ Mesure de l'observance :

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

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

➤ Mesure de la charge virale :

4.6.1. Technique Abbott HIV-1 Real Time TM:

4.6.1.1 Principe :

La RT-PCR en temps réel sur Abbott HIV-1 Real Time Quantitative Assay est un test d'amplification de signal de l'ARN cible converti en ADNc grâce à l'activité de transcription inverse de la polymérase thermostable rTth ADN pour la quantification directe d'ARN VIH-1 dans le plasma ou autres liquides biologiques des individus infectés. En premier lieu, les amorces ou primers de transcription inverse du VIH-1 et du contrôle interne s'hybrident avec leurs cibles respectives et s'étendent au cours d'une période d'incubation prolongée.

Ces deux amorces sont non compétitives, et le CI (Contrôle Interne) est détecté même à des niveaux élevés de VIH. La cible de l'amorce VIH-1 est le gène de l'intégrase dans la région pol.

Après l'étape de dénaturation, au cours de laquelle la température de la réaction s'élève au-dessus du point de fusion du produit ADNc double brin : ARN, une deuxième amorce s'hybride avec le brin de l'ADNc et s'étend sous l'activité de l'ADN polymérase afin de créer un produit d'ADN à double brin.

L'amplification exponentielle du produit est réalisée grâce aux cycles répétés entre températures élevées et basses du thermocycleur pour obtenir une amplification des séquences cibles d'un milliard ou plus.

La technologie Abbott HIV-1 Real Time TM utilise deux sondes d'hybridation, une spécifique au VIH et l'autre spécifique au CI (Contrôle Interne).

Résultats et interprétation :

Le cycle d'amplification au cours duquel le signal fluorescent est détecté par le *m2000rt*, est proportionnel au log de la concentration d'ARN VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. Le logiciel m2000 Software version 4.0 donne les résultats en copies/ml ou en Log10 (copies/ml).

4.6.1.2 Organisation du local de la charge virale :

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

4.6.1.3. Réactifs et matériels :

Les réactifs et matériels ont été répartis par zone.

Zone 1

Secteur 1

▪ **Réactifs**

➤ Réactifs d'extraction ARN : "*Abbott m SamplePreparation System Reagents*" :

- Solution de lyse mLysis : 100 mmol/L de solution TRIS contenant du thiocyanate de guanidinium et du détergent (Tween 10%).
- Solution de lavage mWash1 : 50 mmol/L de solution acétate contenant du thiocyanate de guanidinium et du détergent (Tween)
- Solution de lavage mWash2 : eau sans RNases (nucléases) ;
- Tampon d'élution mElution : 20 mmol/L de solution phosphate avec conservateur ;
- Microparticules : 1,5% de microparticules (particules d'oxyde de fer Fe₂O₃) dans 50% de solution de lyse ;

➤ Contrôles HIV: "*Abbott Real Time HIV-1 control kit*":

- CONTROL - = contrôle négatif, flacon de 1,8 mL de plasma humain négative, analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;
- CONTROL + = *Low Positive control* (contrôle positif bas), flacon de 1,8 mL d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma

humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;

- CONTROL ++ = *High Positive control* (contrôle positif fort), flacon de 1,8 mL d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;

- Calibrateurs HIV: "*Abbott Real Time HIV-1 calibrator kit*":

- CAL A = Calibrator A (Calibrateur A), flacon de 1,8 mL d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;

- CAL B = Calibrator B (Calibrateur A), flacon de 1,8 mL d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;

- Ethanol 70% ;

- Hypochlorite de sodium ;

- Eau distillée.

- **Matériels et consommables :**

- Deux bains secs pour des tubes de 1,5 mL (75°C) et des tubes de 12 x 75 mm (50°C) ;

- Trois pissettes, une pour l'éthanol, une pour l'hypochlorite de sodium et une pour l'eau distillée ;

- Un chronomètre ;

- Des poubelles et sacs plastiques autoclavables et non autoclavables ;

- Deux congélateurs de - 25°C et - 16°C ;

- Des marqueurs de tubes

- Vortex ;

- Supports (portoires) magnétiques (rouge) pour des tubes de 12 x 75 mm

- Supports (portoires) magnétiques (bleu) pour tubes de 1,5 ;

- Portoires (4) non magnétiques pour les échantillons, les contrôles, les calibrateurs, les tubes de 1,5 mL et les tubes de 12 x 75 mm ;

- Portoires métalliques (2) pour contrôles et calibrateurs ;

- Multipipette plus ou micropipette à répétition ;
- Micropipette de 1000 μ L fixe pour la distribution des calibrateurs, des contrôles et des échantillons (protocole 600 μ L) ;
- Micropipette de 500 μ L fixe uniquement pour le contrôle interne ;
- Micropipette 1000 μ L pour le lavage ;
- Micropipette de 100 μ L pour la distribution du tampon d'élution et de l'eau sans RNase ;
- Pipettes pasteur stériles à bout fin ;
- Supports de plaques optiques (supports anti-éclaboussures) où « splash free support base » ;
- Films optiques ou « optical adhesive cover » ;
- Applicateurs pour films optiques ou « adhesive cover applicator » ;
- Embouts Combitips plus de 10 mL ;
- Pointes à filtre de 1000 μ L ;
- Pointes à filtre de 100 μ L ;
- Tubes de 12 x 75 mm et des bouchons ;
- Tubes microfuges à bouchon à vis de 1,5 mL ;
- Tubes DNase/RNase free 1.5 mL de type Beckman ;
- Cryotubes DNase/RNase free de 2 mL pour la conservation des aliquotes

Secteur 2

▪ Réactifs

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

➤ Matériels et consommables

- Vortex ;
- Base et couvercle "StrataCooler96" (conserver à -20°C) ;

- Portoir de travail en métal pour "StrataCooler96" (conserver à +4°C) ;
- Micropipette de 100 µL pour la distribution du master mix dans les puits de la plaque optique ;
- Micropipettes (2) de 1000 µL : préparation du master mix ;
- Plaques optiques de réaction "96-Well opticalReaction Plate" ;
- Pointes à filtres, RNase free 1000 µL ;
- Pointes à filtres, RNase free 100 µL ;
- Tubes DNase/RNase free de 1.5 mL de type Beckman ;
- Gants non poudrés
- Poubelles.

Zone 2

Equipements :

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

▪ Réactifs

- Kit de calibration optique qui comprend les éléments suivants :

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

- Ethanol 70% ;
- Eau distillée et de l'hypochlorite de sodium.

▪ Matériels et consommables

- Micropipette de 100 µL ;
- Pointes à filtres, RNase free 100 µL ;
- Gants non poudrés ;
- Sacs poubelles autoclavables ;
- Ecouvillons.

4.6.1.4. Procédure de prélèvement de sang pour la charge virale :

✓ Lignes directives de prélèvement :

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

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

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

Eviter les cycles de congélation et de décongélation.

4.6.1.5. Procédure de la technique :

▪ Consignes de sécurité :

Prendre les précautions universelles en tout temps.

Tous les échantillons, y compris les contrôles, doivent être traités comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

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

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

▪ L'extraction des ARN du VIH-1

La préparation des échantillons a pour objectifs d'extraire et d'isoler les molécules cibles d'ARN, afin de rendre les cibles accessibles pour l'amplification, et d'éliminer tout inhibiteur potentiel de l'amplification de l'extrait. Le système de préparation des échantillons "Abbott mSamplePreparation system" utilise la technologie des particules magnétiques afin de capturer les acides nucléiques et laver les particules afin d'éliminer tout composant non lié de l'échantillon.

Les acides nucléiques liés sont élués et transférés dans les tubes de 1,5mL. Le contrôle interne est soumis à l'intégralité de la procédure de préparation des échantillons, avec les calibrateurs, les contrôles et les échantillons. Le temps moyen d'extraction quel que soit le nombre d'échantillons (24 ou 48) est de 4 heures.

Mode opératoire

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

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

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

3. Décongeler les échantillons, les contrôles, les calibrateurs et le contrôle interne s'ils sont congelés à une température comprise entre 15 et 30°C ou 2 et 8°C (vérifier toujours l'absence de cristaux dans les réactifs, sinon amener les solutions à température ambiante jusqu'à ce qu'ils disparaissent) :

Passez les échantillons 3 fois au vortex ;

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

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

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

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

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

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

8. Lyse :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. Premier lavage Wash 1 :

Transférer les tubes de 12 x 75 mm vers un support non magnétique immédiatement après le retrait du tampon de lyse :

Ajouter 700 µL de solution *mWash* 1 dans chaque tube et remettre les particules magnétiques en suspension par aspiration-refoulement, rincez les particules des parois du tube si nécessaire

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

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

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

13. Second lavage Wash 1 :

Transférer les tubes 1,5 mL vers un portoir non-magnétique : ajouter 700 µL de solution *mWash* 1 dans chaque tube et remettre les particules magnétiques en suspension par aspiration-refoulement, rincer les particules des parois du tube si nécessaire

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

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

15. Premier lavage Wash 2 : transférer les tubes de 1,5 mL vers un portoir non-magnétique :

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

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

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

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

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

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

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

19. **Elution** : transférer les tubes de 1,5 mL vers un portoir non-magnétique :

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

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

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

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

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

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

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

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

- **Préparation des réactifs d'amplification :**

Cette étape se déroule au niveau du **secteur 2**. Changez de gants après l'étape 2.

Si vous effectuez une série de 25 à 48 ou 52 réactions, préparez une seconde solution de master mix à l'aide d'un autre coffret-réactifs pour amplification.

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

2. Préparation du master mix :

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

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

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

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

➤ **Distribution du master mix dans les puits de la plaque de réaction :**

1. Retirer la base et couvercle "*StrataCooler96*" (conserver à -20°C) et Porter de travail en métal pour "*StrataCooler96*" (conserver à +4°C) du réfrigérateur et les monter ;

2. Placer une plaque de réaction optique à 96 puits Abbott dans le "*StrataCooler96*"

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

4. vérifier visuellement le niveau de remplissage, que 50 µL (et pas plus) ont bien été distribués dans chaque puits et transférer le "*StrataCooler96*" avec la plaque à 96 puits dans la zone de préparation des échantillons (**Secteur 1**).

▪ **Préparation de l'amplification :**

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

1. Addition de l'ARN :

Transférer 50 µL d'échantillon vers la plaque à 96 puits placée sur le "*StrataCooler96*" dans l'ordre du puits A à H et de A1 à A12 et éviter toujours la

formation de bulles dans les puits. Les puits A1, A2 et A3 sont respectivement occupés par les contrôles négatifs, contrôle positif faible et le contrôle positif fort ; Homogénéiser le mélange réactionnel en aspirant et rejetant la solution dans le puits 3 à 5 fois ; utiliser un embout de pipette différent pour chaque transfert d'éluât d'échantillon ;

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

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

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

5. Retirer la plaque à 96 puits du "*StrataCooler96*" et placez-la sur la base de support anti éclaboussures et transférer vers la zone d'amplification (**zone 2**).

- **Amplification/détection**

Amplification :

Au cours de l'amplification sur le *m2000rt*, l'ARN cible est converti en ADNc grâce à l'activité de transcription inverse de la polymérase thermostable rTth ADN. En premier lieu, les amorces de transcription inverse du VIH-1 et du contrôle interne s'hybrident avec leurs cibles respectives et s'étendent au cours d'une période d'incubation prolongée.

Après l'étape de dénaturation, au cours de laquelle la température de la réaction s'élève au-dessus du point de fusion du produit ADNc double brin : ARN, une deuxième amorce s'hybride avec le brin de l'ADNc et s'étend sous l'activité de la polymérase de l'ADN de l'enzyme rTth afin de créer un produit d'ADN à double brin.

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

Détection :

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

La sonde du contrôle interne est un oligonucléotide ADN simple brin comportant un fluorophore à l'extrémité 5' (VIC®) et un "Quencher" (TAMRATM) à l'extrémité 3'. En l'absence de séquences cibles du contrôle interne, la fluorescence des sondes est désactivée.

Si des séquences cibles du contrôle interne sont présentes, l'hybridation des sondes avec des séquences complémentaires sépare le fluorophore du "Quencher" et permet l'émission d'une fluorescence qui sera détectée.

Les sondes du VIH-1 et celles du contrôle interne sont chacune marquées avec un fluorophore différent, ce qui permet de détecter simultanément les deux produits amplifiés lors de chaque cycle.

Le cycle d'amplification au cours duquel le signal fluorescent est détecté par le *m2000rt*, est proportionnel au log de la concentration d'ARN VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. La durée des étapes de l'amplification n'est pas fonction du nombre d'échantillons et est de 3 heures.

Calibration optique :

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

- la calibration de la lampe ;
- la calibration de la région d'intérêt (ROI) ;
- la calibration de l'uniformité (Uniformity);

- la calibration du comptage du bruit de fond (Background);
- les calibrations des fluorochromes purs (VIC®, TAMRATM, ROXTM, FAMTM)

Calibration du dosage :

Une calibration du dosage, analysant deux calibrateurs de dosage en répliques de trois pendant une série d'analyse d'échantillons, est requise pour quantifier la concentration d'ARN du VIH-1 des échantillons et des contrôles, générer une courbe de calibration (concentration en VIH-1 versus cycle seuil [Ct] auquel un niveau réactif de signal fluorescent est détecté). La pente de la courbe de calibration et l'ordonnée à l'origine sont calculées et enregistrées sur l'appareil. La concentration en ARN du VIH-1 d'un échantillon est calculée à partir de la courbe de calibration enregistrée.

Une calibration du dosage est effectuée à l'installation du *m2000rt* et à chaque nouveau lot de réactifs d'extraction (*mSamplePreparation System*).

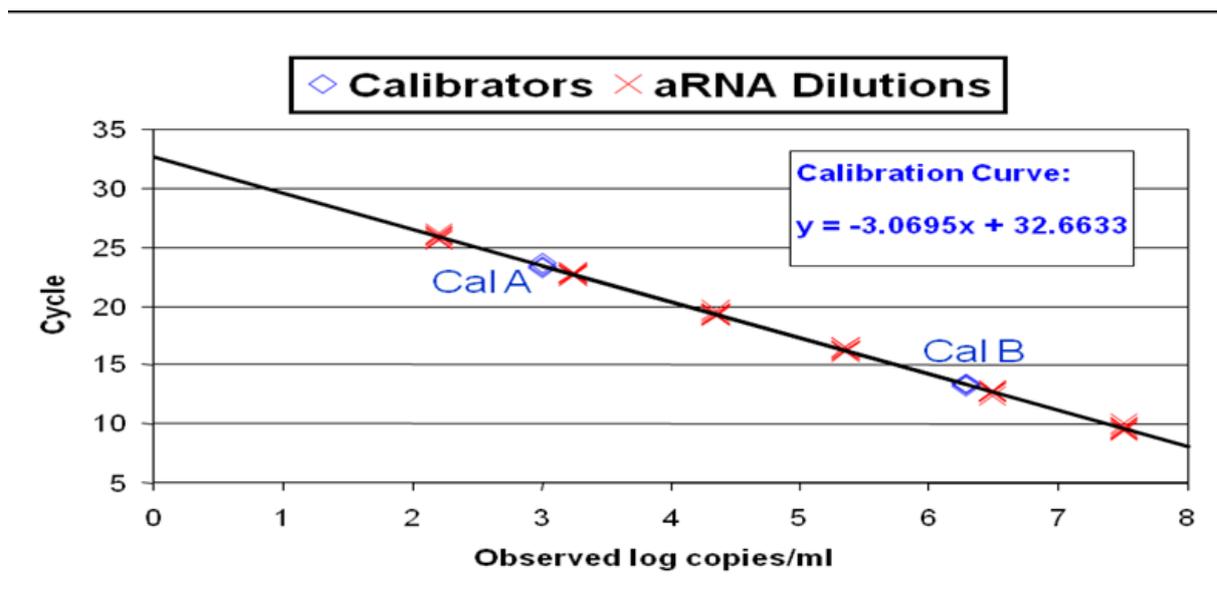


Figure 5 : Courbe de calibration du dosage

▪ Procédure de démarrage de l'amplification et de détection :

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

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

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

Sélectionner **<Orders>**(demandes) dans la barre de menu puis **<Test Orders>** (demandes de dosage), dans le menu **<CreateTasks>** (créer opérations) de l'écran **<Pending Test Orders>** (demandes de dosage en attente), sélectionnez **<New Order>** (nouvelle demande). Ensuite sélectionner l'application spécifique devant être utilisée dans la liste **<Select Application Specification>** qui est "Assay HIV RNA"; Saisir les informations suivantes :

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

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

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

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

Sélectionner **<Next>**

2. Démarrer l'amplification et la détection :

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

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

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

▪ Procédures post-traitement

Zones de préparation des échantillons et des réactifs :

1. Au moment du traitement des échantillons, les consommables sont jetés dans un sac plastique hermétique (autoclavable) ;

2. Retirer les tubes de 1,5 mL du plan de travail et les jetez dans un sac en plastique hermétique ;
2. Décontaminer les paillasse ainsi que tout le petit matériel à l'hypochlorite de sodium, puis à l'eau distillée et enfin à l'alcool 70%. Utilisez du papier buvard pour le nettoyage ;
3. Nettoyer le "StrataCooler96" avec uniquement de l'éthanol 70% et le rangez dans le réfrigérateur suivant le mode de conservation ;
4. Nettoyer la base de support anti-éclaboussures en la plongeant dans de l'hypochlorite de sodium pendant au moins 15 minutes, la nettoyez ensuite à l'eau distillée et à l'éthanol 70%.

Zone d'amplification :

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

▪ Interprétation et rendu des résultats :

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

4.7. Collecte des données

La collecte des données a été faite par la méthode des questionnaires. Les fiches d'enquête ont été remplies à partir des dossiers des patients se trouvant dans le service de prise en charge.

4.8. Supports des données

Dossiers personnels des malades.

4.9. Analyses des données

Les données ont été saisies sur le logiciel Word 2007. Les données ont été analysées sur le logiciel EPI info7.

4.10. Aspect éthique :

- Anonymat
- Consentement / Assentiment
- Etc....

RESULTATS

5-RESULTATS :

Notre étude a porté sur 41 adolescents en échecs virologiques infectés par le VIH-1 sous traitement ARV suivis au service de prise en charge pédiatrique du CHU Gabriel Touré entre novembre 2016 et décembre 2017.

Tableau1: Répartition des patients selon l'âge

Age	Effectif	Pourcentage
10 – 11	11	26,83%
12 – 13	11	26,83%
14 – 15	19	46,34%
Total	41	100,00%

La tranche d'âge 14 – 15 ans était la plus représentée avec une moyenne de 13,67 et un Ecart type de 4,61

Le sexe ratio : 1,73 en faveur des garçons

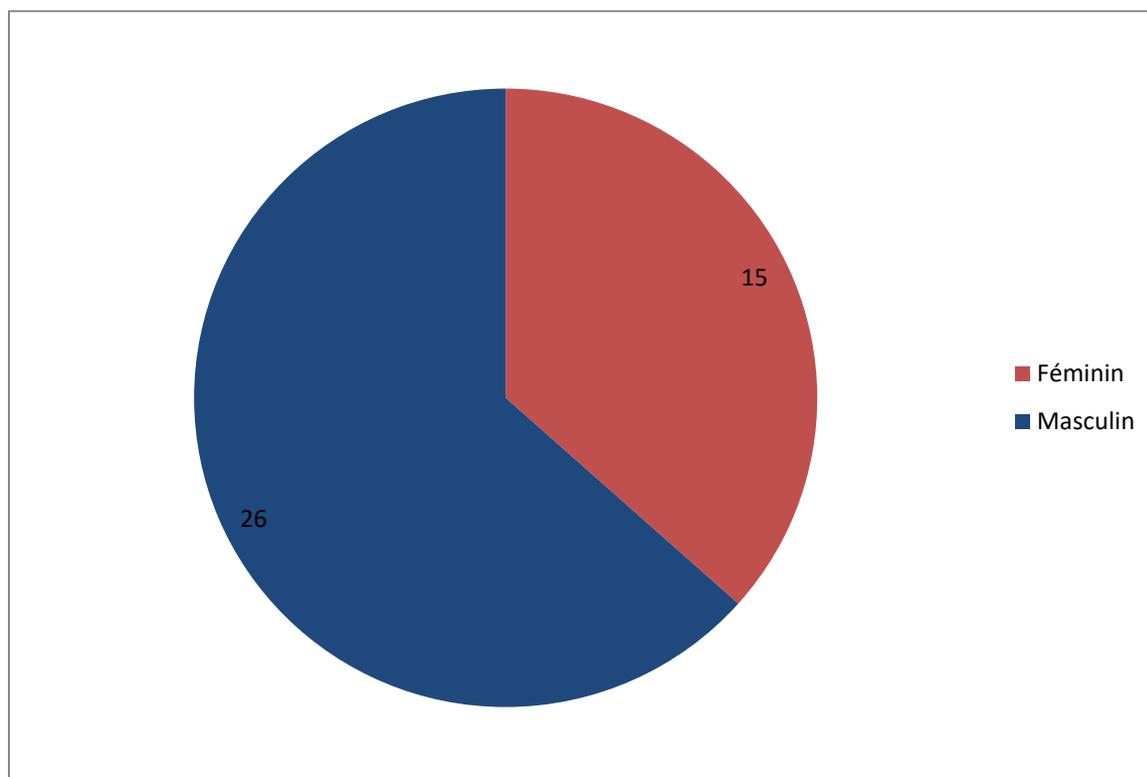


Figure 6 : Répartition selon le Sexe

Tableaux 2 : Répartition des patients selon la résidence

Résidence	Effectif	Pourcentage
Bamako	38	92,68%
Hors-Bamako	3	7,32%
Total	41	100,00%

Les adolescents résidant à Bamako étaient plus représentés avec 92,68%

Tableau 3: Répartition en fonction du schéma de traitement ARV

Schéma de traitement	Nombre	Pourcentage
EFV+ABC+3TC	18	43,90%
EFV+3TC+TDF	10	24,39%
NVP+ABC+3TC	9	21,95%
NVP+AZT+3TC	2	4,88%
EFV+AZT+3TC	2	4,88%
Total	41	100,00%

Les patients sous le schéma thérapeutique EFV+ABC+3TC était les plus nombreux soit 43,90% suivi de EFV+3TC +TDF soit 24,39%

Tableau 4 : Répartition en fonction du taux de lymphocyte CD4 à 6mois de traitement ARV

Taux de CD4 (Cellule/mm³):	Effectif	Pourcentage
<200	12	29,28%
200 – 350	12	29,28%
351 – 500	5	12,16%
>500	12	29,28%
Total	41	100,00%

A 6 mois de traitement les adolescents avec le taux de lymphocyte T CD4+ < 200 cellule/mm³, T CD4+ 200- 350 cellule/mm³ et T CD4+ > 500cellule/mm³ étaient les plus représentés soit 29,28% chacun avec une médiane de 287 cellule/mm³ et Inter Quartile Range de 17 et des extrêmes de 36 et 809 cellules/mm³

Tableau 5 : Répartition en fonction du taux de lymphocyte CD4 à 12mois de traitement ARV

Taux de CD4 (Cellule/mm³):	Effectif	Pourcentage
<200	3	7,32%
200 – 350	13	31,72%
351 – 500	8	19,52%
>500	17	41,48%
Total	41	100,00%

A 12 mois de traitement 41,48% des adolescents avait un taux de lymphocytes T CD4+ > 500 cellule /mm³, avec une médiane de 454 cellule/mm³ et un Inter Quartile Range 18 et des extrêmes de 169 et 1005 cellule/mm³

**Tableau 6 : Répartition en fonction de la charge virale à 6mois de traitement
ARV**

Charge virale (Copies/ml):	Effectif	Pourcentage
<40	19	46,32%
40 – 1000	9	21,96%
1001 – 5000	2	4,88%
5001 - 10000	2	4,88%
>10000	9	21,96%
Total	41	100,00%

A 6 mois de traitement les adolescents avec une charge virale < 40 copies /ml était les plus nombreux soit 46,32% avec une médiane de 5223 copies/ml et Inter Quartile Range de 12

Tableau 7 : Répartition en fonction de la charge virale à 12mois de traitement ARV

Charge virale (Copies/ml)	Effectif	Pourcentage
<40	23	56,09%
40 – 1000	2	4,88%
1000 - 5000	4	9,75%
5000 - 10000	2	4,88%
>10000	10	24,40%
Total	41	100,00%

A 12 mois de traitement les adolescents avec une charge virale < 40 copies /ml était les plus nombreux soit 56,09% avec une médiane de 10450,5 copies /ml et un Inter Quartile Range 8

Tableaux 8 : Répartition des patients selon la charge virale

Charge virale (copies /ml)	6Mois		12Mois	
	N	%	N	%
<1000	28	68,29%	25	60,98%
≥1000	13	31,71%	16	39,02%
Total	41	100,00%	41	100,00%

Les taux d'échec virologique à 6 mois et 12 mois sous traitement ARV étaient respectivement de 31,71% et 39,02%

Tableaux 9 : Croisement entre la charge virale détectable et le taux de lymphocyte CD4+ à 6 mois

Taux de CD4+ cellule /mm ³	CV<1000copies/ml		CV≥1000copies/ml		Total	
	N	%	N	%	N	%
<200	10	83,33%	2	16,67%	12	100%
201-350	6	50,00%	6	50,00%	12	100%
351-500	3	60,00%	2	40,00%	5	100%
>500	9	75,00%	3	25,00%	12	100%
Total	28	68,29%	13	31,71%	41	100%

A 6 mois, environ 50% des patients en échecs virologiques avaient un taux de lymphocyte TCD4+ entre 201-350 cellule/mm³

Tableaux 10 : Croisement entre la charge virale détectable et le taux de lymphocyte CD4+ à 12 mois

Taux de CD4+ cellule /mm ³	CV<1000copies/ml		CV≥1000copies/ml		Total	
	N	%	N	%	N	%
<200	2	66,67%	1	33,33%	3	100%
201-350	8	72,72%	3	27,28%	11	100%
351-500	4	37,50%	5	62,50%	9	100%
>500	11	61,11%	7	38,88%	18	100%
Total	25	60,98%	16	39,02%	41	100%

A 12mois, environ 62,50% des adolescents en échecs virologiques avaient un taux de lymphocyte TCD4+ entre 351-500 cellule/mm³ supérieur au taux de lymphocyte TCD4+ > 500 cellule/mm³ soit 38,88%

Tableaux 11 : Croisement entre la charge virale détectable et le traitement ARV à 6 mois

Schémas de traitement ARV	CV<1000copies/ml		CV≥1000copies/ml		Total	
	N	%	N	%	N	%
EFV+ABC+3TC	12	66,67%	6	33,33%	18	100%
NVP+ABC+3TC	6	66,67%	3	33,33%	9	100%
EFV+3TC+TDF	8	80,00%	2	20,00%	10	100%
NVP+AZT+3TC	1	50,00%	1	50,00%	2	100%
EFV+AZT+3TC	1	50,00%	1	50,00%	2	100%
Total	28	68,29%	13	31,71%	41	100%

A 6mois, environ 13 sur 41 des adolescents sous traitement ARV avaient une charge virale ≥ 1000 copies/ml dont 50% étaient sous NVP+AZT+3TC et EFV+AZT+3TC

**Tableaux 12 : Croisement entre la charge virale détectable et le traitement ARV
à 12 mois**

Schémas de traitement ARV	CV<1000copies/ml		CV≥1000copies/ml		Total	
	N	%	N	%	N	%
EFV+ABC+3TC	11	61,11%	7	38,89%	18	100%
EFV+3TC+TDF	7	63,63%	4	36,37%	11	100%
NVP+ABC+3TC	6	60,00%	4	40,00%	10	100%
NVP+AZT+3TC	1	50,00%	1	50,00%	2	100%
Total	25	60,98%	16	39,02%	41	100%

A 12 mois, environ 16 sur 41 des adolescents sous traitement ARV étaient en échecs virologiques (charge virale ≥ 1000 copies/ml) dont 50% étaient sous NVP+AZT+3TC suivi de NVP+ABC+3TC soit 40%

COMMENTAIRES ET DISCUSSION

6 - COMMENTAIRES ET DISCUSSION

6.1. Limites et difficultés rencontrées :

Notre étude fait suite à l'installation d'un appareil *m2000rt* d'Abbott pour la charge virale plasmatique à l'hôpital Gabriel Touré. Ce test est indispensable dans le suivi biologique des patients infectés par le VIH et sous traitement ARV. Nous avons réalisé une étude transversale, les données ont été recueillies à partir des dossiers des patients. C'est une étude qui a porté sur 41 adolescents suivis au service de pédiatrie du CHU-Gabriel Touré. Très vite nous avons été confrontés à des problèmes tels que :

- L'indisponibilité temporaire ou permanente de certains examens (taux de CD4, charge virale) dans le dossier, dû au manque de suivi biologique régulier chez nos patients.

L'usage des ARV dans le traitement de l'infection à VIH a montré une réduction significative de la morbidité et de la mortalité liées au VIH dans les pays industrialisés où la pandémie du VIH-1 de sous-type B prédomine avec une prévalence de moins de 10%.

Les études sur les échecs virologiques et la prévalence de la résistance aux traitements ARV sont très peu réalisées dans les pays à ressources limitées particulièrement en Afrique, où prédominent les sous-types non-B. L'usage des ARV dans le traitement de l'infection à VIH a montré une réduction significative de la morbidité et de la mortalité liées au VIH dans ces pays regroupant plus de 90% des cas d'infection par le VIH.

Le Mali est le 3^{ème} pays africain à avoir rendu gratuit l'accès aux traitements ARV et le suivi biologique de l'infection VIH en Juillet 2004. Quatre-vingt-cinq pour cent (85%) des besoins sont couverts sur le plan de l'accès aux traitements ARV.

L'échec virologique est constant et nécessite une mise à jour régulière des données sur le plan national. La particularité de cette étude réside au fait que très peu de données sont disponibles au niveau national et sous régional.

6.2. La technique utilisée :

La mesure de la charge virale plasmatique est l'un des marqueurs les plus importants pour suivre l'évolution de la virémie chez les PV VIH sous traitement ARV.

[37]

Les charges virales ont été réalisées avec la trousse « Abbott Real Time HIV-1 Quantitative Assay™ » contenant tous les réactifs nécessaires à l'extraction, à la réaction de RT-PCR en plus du module *m2000rt* et accessoires.

En plus des kits prêts à l'emploi, l'extraction de l'ARN à partir de 600 µl (protocole utilisé) présente la même sensibilité qu'à partir 1.0 ml (40-10 000 000 copies/ml) et la technique permet de détecter tous les sous-types VIH-1 du groupe M, N, O et P. [1]

6.2.1. Manipulations techniques au laboratoire :

Le déroulement des manipulations techniques pour les séries de 22, 24, et 48 échantillons a été d'abord utilisé pour vérifier la possibilité d'utilisation de 1 ou de 3 échantillons en plus. Mais l'intérêt majeur est l'utilisation des séries de 48, 52 échantillons puisque cette procédure nous a permis un gain de plaque optique et de contrôles négatif et positif. En effet, en procédant ainsi, nous utilisons une plaque optique et un jeu de contrôles négatif et positifs au lieu de 2 plaques optiques et 2 jeux de contrôles négatif et positif.

Aussi les 3 places qu'auraient occupées les contrôles lors de la seconde manipulation de 24 échantillons pouvaient alors être attribuées à 3 échantillons. Il serait alors plus avantageux d'effectuer une série de 48 à 52 échantillons au lieu de 2 séries de 24 à 26 échantillons. En plus, cela permettrait un gain d'une journée de manipulation technique. **Bado G.** a trouvé des résultats comparatifs aux nôtres dans une étude sur l'implémentation de la PCR en temps réel pour la mesure de la charge virale plasmatique du VIH-1 sur *m2000rt* d'Abbott au Burkina Faso. [5]

6.2.2. Le contrôle de qualité :

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

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

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

Cela montre le mauvais traitement de certains échantillons, un lavage insuffisant ou une élution mal faite par exemple. Des précautions ont été prises pour minimiser les risques de contamination et d'erreurs dans la manipulation technique. Nous envisageons également une extraction automatique sur le *m2000sp* dans un avenir proche.

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

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

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

6.3. Données démographiques et biologiques :

Le sexe masculin représentait 63,41% de notre population d'étude avec un sexe ratio de 1,73. Ce résultat est proche à ceux de **Sylla et al** et **Sanogo et al** à Bamako avec un sexe ratio de 1,5. [51 ,56]

Dans notre étude, la tranche d'âge la plus représentée était 46,34%. Ce résultat est différent de celui de **Sanogo et al** au Mali chez qui la tranche d'âge la plus représentée était 37%. [51] Cette différence pourrait être due à la taille de nos deux échantillons.

Le taux de lymphocytes T CD4+ était >500 cellules/mm³ chez 41,48% de nos patients. La médiane des lymphocytes T CD4+ était de 454 cellules/mm³ avec des extrêmes de 169 et 1005 cellules/mm³ et celle de la charge virale plasmatique était de 10450,5 copies/ml et des extrêmes de 50 et 10000000 copies /ml.

Sur les 41 patients, 16 patients avaient une charge virale plasmatique supérieure à 1000 copies/ml soit un taux d'échec virologique de 39,02%. Ceci pourrait s'expliquer par une mauvaise adhérence aux traitements antirétroviraux, un arrêt de traitement

ou une accumulation de mutations de résistance due à la longue durée sous traitement sans surveillance virologique.

6.4. Le traitement antirétroviral :

Tous les patients de cette étude étaient traités à base de combinaisons contenant 2 INTI associées à 1 INNTI comme traitement de première intention.

Kivexa-Efavirenz (EFV/ABC/3TC) a été le schéma le plus prescrit à nos patients (43,90% des prescriptions). Ce résultat est différent à celui de **Germanaud et al** au Mali qui dans leur étude avaient montré que le schéma Duovir-N (AZT/3TC/NVP) était le plus prescrit chez les enfants. [19]

6.5. Charge virale plasmatique

Sur les 41 patients qui ont reçu une quantification de la charge virale, 16 patients avaient une charge virale plasmatique supérieure à 1000 copies/ml soit un taux d'échec virologique de 39,02%.

4,88% des patients avaient une charge virale comprise entre 50-1000 copies/ml. Ces patients développaient probablement un échec virologique.

Au Mali, la politique nationale de prise en charge antirétrovirale recommande de vérifier l'observance et de procéder à un contrôle de la CV trois mois plus tard après renforcement de l'observance face à une CV inférieure à 1000 copies/mL.

En Europe et aux Etats-Unis, tous les patients qui sont entre 50-1000 copies/ml (ce qui représente 4,88% de notre échantillon) sont considérés comme des échecs virologiques.

Il est recommandé dans ces pays, d'instaurer un traitement ARV chez toute personne vivant avec le VIH, quel que soit le nombre de CD4, y compris s'il est $> 500 /\text{mm}^3$.

Au Mali selon la recommandation 2013 de l'OMS, Un TAR doit être mis en route chez toute personne vivant avec le VIH dont le nombre de CD4 est > 350 cellules/ mm^3 et ≤ 500 cellules/ mm^3 , quel que soit le stade clinique de l'OMS.

6.5.1. La charge virale après six (6) mois d'exposition aux traitements ARV

Tous nos patients étaient sous traitement ARV durant six mois, soit un taux d'échec virologique de 1,7%.

Par contre **Chkhartishvili et al** avaient trouvés 90% de détectable à 6 mois de TAR. [64]

Les régimes Kivexa-Efavirenz (EFV/ABC/3TC) étaient observés par 43,90% des patients suivi de EFV/ 3TC/TDF soit 24,39%.

Ce résultat n'est conforme à celui de **Germanaud et al** et **Sanogo et al** au Mali qui dans leur étude ont trouvé que le schéma AZT/3TC/NVP était le plus observés.

[19,51]

La prévalence de l'échec virologique à 6 mois de traitement était de 31,70%. Ce résultat est inférieur à ceux de **Sanogo et al** qui a trouvé, après 6 mois de TAR 34,42% d'échec virologique dans son étude au Mali. **[51]**

6.5.2. La charge virale après douze (12) mois d'exposition aux traitements ARV :

Tous nos patients étaient sous traitement ARV durant douze mois, soit un taux d'échec virologique de 1,7%.

Les régimes Kivexa-Efavirenz (EFV/ABC/3TC) étaient observés par 43,90% des patients suivi de EFV/ 3TC/TDF soit 29,27%.

Ce résultat est différent à celui de **Germanaud et al** et **Sanogo et al** au Mali qui dans leur étude ont trouvés que le schéma (AZT/3TC/NVP) était le plus observés.

[19,51]

La prévalence de l'échec virologique à 12 mois de traitement était de 39,02%. Ce résultat est proche à ceux de **Sanogo et al** qui a trouvé, après 12 mois de TAR 32,29% d'échec virologique dans son étude au Mali. **[51]**

CONCLUSION

7- CONCLUSION

Nos résultats montrent que le nombre de patients ayant une charge virale supérieure à 1000 copies/ml à M6 et à M12 était respectivement de 31,71%, 39,02%. A M6 environ 50% des patients en échec virologique avaient un taux de lymphocyte TCD4+ entre 201-350 cellule/mm³ et à M12 environ 62,50% des patients en échec virologique avaient un taux de lymphocyte TCD4+ entre 351-500 cellule/mm³.

A M6, 13 patients sous traitement ARV avaient une charge virale ≥ 1000 copies/ml dont 50% étaient sous NVP+AZT+3TC et EFV+AZT+3TC.

A M12, 16 patients sous traitement ARV étaient en échec virologique (charge virale ≥ 1000 copies/ml) dont 50% étaient sous NVP+AZT+3TC suivi de NVP+ABC+3TC soit 40%.

RECOMMANDATIONS

8- RECOMMANDATION

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

•AUX AUTORITES POLITIQUE ET SANITAIRE :

- ✓ Encourager le dépistage volontaire des jeunes adolescents ;
- ✓ Faciliter l'accès des tests de charge virale aux patients sous traitement antirétroviral comme se fait dans les pays développés pour prévenir les échecs virologiques,
- ✓ Assurer la disponibilité permanente de la CV.
- ✓ Donner l'accès aux traitements de troisième ligne pour les pays à ressources limités comme le Mali

•A LA DIRECTION DU CHU-GABRIEL TOURE :

- ✓ La formation continue de tout le personnel impliqué dans la prise en charge des personnes vivantes avec le VIH ;
- ✓ Renforcer le laboratoire d'analyse biomédicale et assurer la maintenance des appareils intervenant dans le suivi des personnes vivants avec le VIH ;
- ✓ Approvisionner correctement le laboratoire en réactifs et consommables.

•AUX PERSONNELS SOIGNANTS :

- ✓ Assurer un suivi régulier des adolescents en vue d'améliorer l'observance au traitement
- ✓ Respecter les recommandations de la politique national de prise en charge des patients infectés par le VIH

•AUX PATIENTS (adolescents) :

- ✓ Mieux respecter leur rendez-vous ;
- ✓ Respecter les recommandations du personnel soignant
- ✓ Mieux adhérer au traitement

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Abbott.** Guide abrégé de préparation manuelle des échantillons pour les dosages Abbott RealTime HIV/HCV 2010.
2. **Agut H, Barin F, Barre F and al.** Les virus de l'immunodéficience humaine. In : Les virus transmissibles par le sang. Montrouge : John LibbeyEurotext France1996.p.105-148.
<https://bdsp-ehesp.inist.fr/vibad/index.php?>
3. **Arhel N, Souquere S, Munier S, Souque P and al.** HIV-1 DNA Flap formation promotes uncoating of the pre-integration of at the nuclear pore. *Embo J* 2007; 26(12): 3025-37.
4. **Azijn H, Terry I, Vingerhoets J and al.** TMC 278, a next- generation of nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), active against wild-type and NNRTI-resistance HIV-1. *Antimicrob Agents chemother.* 2010; 54:718–27
5. **Bado G.** Implémentation de la PCR en temps réel pour la mesure de la charge virale plasmatique du VIH-1 au laboratoire de biologie moléculaire du CHU YalgadoOuédraogo(CHUYO) deOuagadougou, Burkina Faso. *Thèse, Pharmacie, Ouagadougou* 2007, N° 087/2007.
6. **Bagayoko D :** Evaluation de l'observance du traitement ARV dans le service de médecine du centre Hospitalier « Mère-enfant » Le Luxembourg. Thèse 2010.10M502.pdf. www.Keneya.net>med>pdf
7. **Barre F.** Virologie fondamentale de l'infection à VIH. VIH 2011. Edition 2011, *Doin*, Paris 2011; p3-9.
8. **Barin F :** Département de Microbiologie et Moléculaire, Hôpital Bretonneau, 37044 Tours, cedex. Livre de Virologie, collection azay,p559
9. **Barre F, Chermann C, Rey F, Nugeyere M and al.** Isolation of a T Lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science* 1983;220(4599):868-71.
10. **Barin F; Denis F; Baillou A and al.** **Essex MA STLL VIII related human retrovirus,HTLV-IV:** analysis of cross reactivity with thehumanimmunodéfiencyvirus.*J.virol.Methods;* du HCNLS-MALI20111987, 17 :55-61

11. **Bocket L, Cheret A, Deufficand al.** Impact of human immunodeficiency virus type 1 subtype on first-line antiretroviral therapy effectiveness. *Antivir Ther* 2005; **10**:247-254.
12. **Brenner B, Routy J, Petrella M and al.** Persistence and fitness of multidrug-resistant human immunodeficiency virus type 1 acquired in primary infection. *J Viro* 2002; **76**:1753-1761.
13. **Burkurinskaya A.** HIV-1 assembly and maturation. *Arch virol* 2004; **149**: 1067-1082
14. **Calvez V, Gautheret A, Marcelin A/ Rueil Malmaison (France) : Doin (2011)** Virologie médicale et infection VIH. VIH-catalogue en ligne médiathèque des crips-crips ile-de-de France.
<http://mediatheque.lecrips.net/index.php?lvl=noticedisplay&id=84525>
15. **Calvez V, Costagliola D and al.** Impact of stavudine phenotype and thymidine analogues mutations on viral response to stavudine plus lamivudine in ALTIS 2 ANRS trial. *Antivir Ther.* 2002; **7**: 211–8.
16. **CPS/MS.** Cinquième Enquête Démographique et de Sante au MALI (EDSM V), Mali 2012.
17. **Collège des universitaires de Maladies Infectieuses et tropicales.** Infection à VIH et SIDA. In : E. PILLY 2008. Paris : Vivactis Plus, 2008. P.468-487
18. **Congo M, Sangaré L, Idrissa G et al.** Comparaison des méthodes d'extraction Abbott et Nuclisense easyMag (Biomérieux) pour la quantification plasmatique du VIH-1. *ICASA, AddisABABA 2011*, Abstract TUAA0205.
19. **David Germanaud, Anne Derache, Mamadou Traore and al.** Level of viral load and antiretroviral resistance after 6 months of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor first-line treatment in HIV-1-infected children in Mali. *J Antimicrob Chemother* 2010; **65**: 118–124.
20. **Derache A.** Etude des bases moléculaires de la résistance du VIH-1 de sous-type non-B aux ARV. Thèse Doctorat (PHD) virologie. *Université Pierre et Marie Curie Paris 6* 2009.
21. **Françoise V, Charlotte C.** Résistance aux antirétroviraux.

- 22. Fransen S, Gupta S and al.** Loss of raltegravir susceptibility by human immunodeficiency virus type 1 is conferred via multiple nonoverlapping genetic pathways. *J virol.* 2009; 83:11440–6.
- 23. Gazzola L, Tincati C, Bellistri G and al.** The absence of CD4+ T Cell count recovery despite receipt of virologically suppressive highly active antiretroviral therapy: clinical risk, immunological gaps, and therapeutic options. *Clin Infect Dis* 2009; 48(3): 328-37.
- 24. Girard M, Katlama C, Pialoux G.** VIH édition 2001. Doin; Paris 542 pages
- 25. Gotte M, Arion D, Parniak M and al.** The M184V mutations in the RT of HIV-1 impairs rescues of chain terminated DNA synthesis. *J virol.* 2002; 47: 3579–85.
- 26.** Groupe de travail Biologie-GIPESTHER EDITION 2008. Mesure taux de lymphocyte T CD4, mesure de la charge virale, diagnostic précoce chez l'enfant né de mère infectée. 2008
- 27. Grover D, Alle L, Pillay D and al.** Predictors of death, and response to therapy in patients with multi(three)-class drug resistance HIV in the UK. *Antivir Ther* 2005; **10** (suppl 1): S7.
- 28. HIV-1 circulating Recombinant from (CRFs).** <http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs.html>.
- 29. Hunt P, Martin J, Sinclair E and al.** T cell activation is associated with lower CD4+ T cell gains in human immunodeficiency virus-infected patients with sustained viral suppression during antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2003 ; **187**:1534-1543.
- 30. Institut Pasteur.** La recherche sur le VIH/Sida à l'institut Pasteur. Paris : Institut Pasteur. Disponible sur : <http://www.pasteur.fr/actu/press/com/dossier/Sida/découverte.htm>
- 31. Katlama C, Ghosn J.** VIH et Sida. Prise en charge et suivi du patient. Paris : Masson, 2004. 178p
- 32. Katlama C, Ghosn J.** VIH et Sida. Prise en charge et suivi du patient. Deuxième édition. Issy-Les Moulineaux : Masson, 2008-193p.

- 33. Kissougle N, Tietche F, Tene G.** Evaluation de l'observance du traitement antirétroviral chez les enfants de 0 à 15 ans infectés par le VIH. Etude menée au Cameroun sur des enfants traités au centre Mère et Enfant de la Fondation Chantal Biya à Yaoundé. *Sidanet*, 2007 4(5):1001
- 34. Kouéta F, Yé D, Zougrana A et al.** Echecs du traitement ARV de première ligne chez les enfants infectés par le VIH à Ouagadougou.
- 35. Levy J.** Acute HIV infection and cells susceptible to HIV. In: Levy JA, ed. *HIV and the pathogenesis of AIDS*. 2nd ed. Washington DC: *ASMPress*, 1998, 75-96.
- 36. Marcelin A, Flandre P, Descamps D and al.** Factors associated with virological response to etravirine in nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-experienced HIV-1 infected patients. *Antimicrob Agents chemother.* 2010;54 (72-7).
- 37. Mellors J, Rinaldo C, Gupta P and al.** Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996 ;272 : 1167-70.
- 38. Mirko D. Gren K.** Histoire du Sida. Deuxième édition. Paris : Payot, 1990. 418p.
- 39. Moore JP KD.** A piece of resistance: how HIV-1 escapes small molecule CCR5 inhibitors. *Current HIV AIDS.* 2009;4:118–24.
- 40. MS/SG/CSLS.** Politique et protocoles de prise en charge antirétrovirale du VIH et du SIDA. *MS/SG/CSLS Mali* Juin 2010, 27-39.
- 41. OMS.** Lignes directrices unifiées sur l'utilisation des antirétroviraux pour le traitement et la prévention de l'infection à VIH. Recommandation pour une Approche de Santé publique. 2013.
- 42. OMS.** Résumé des Principales caractéristiques et Recommandations de l'OMS. Juin 2013. www.who.int/hiv
- 43. ONUSIDA (ESHOWE/GENEVE; 16 juillet 2019)** <https://www.unaids.org> 2019 > July (Ralentissement des dans le monde et résultats contrastés des pays sur les objectifs de 2020 par le VIH : l'ONUSIDA appelle à réagir d'urgence)
- 45. Picard V, Angelini E and al.** Comparaison of genotypic and phenotypic resistance patterns of human immunodeficiency virus type-1 isolates from patients treated with stavudine and didanosine or zidovudine and lamivudine. *J Infect Dis.* 2001; 184:781–4.
- 46. Plantier J, Leaz M, Dickerson J and al** A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med* 2009; 15:871-872.

- 47. Podsadecki T, Vrijens B, Tousset E and al.** Decreased adherence to antiretroviral therapy observed prior to transient human immunodeficiency virus type 1 viremia. *J Infect Dis* 2007; 196:1773-1778.
- 48.** Politique et protocoles de prise en charge antirétrovirale du VIH et du Sida-
preventcrypto.org >2015/10
- 49.** Principaux repères sur le VIH/Sida (<https://www.who.int>>...> Détail
- 50. Rapport National** du Haut Conseil National de Lutte Contre le Sida (HCNLS)
- 51. Sanogo M.** Echecs virologiques chez les enfants infectés par le VIH-1 et sous traitement ARV au CHU-Gabriel Touré (2013) 14P01. www.Keneya.net> thèses >pdf
- 52. Samba C, Mabilia B et al.** Evaluation de l'observance thérapeutique aux traitements antirétroviraux chez l'enfant à Brazzaville/Archives de pédiatrie 2009.16 :486-488
- 53. Shimura K, Kodama E and al.** Broad antiretroviral activity and resistance profile of the novel human immunodeficiency virus integrase inhibitor elvitegravir (JTK-303/GS-9137). *J virol.* 2008; 82: 764–74.
- 54. Sista P, Melby T, Greenberg M and al.** Characterization of baseline and treatment emergent resistance to T-20 (enfuvirtide) observed in phase III clinical trials: substitutions in gp 41 amino acids 36-45 and enfuvirtide susceptibility of virus isolates. *Antivir Ther.* 2002; 7: S16.
- 55. Sonigo P.** Un deuxième témoin : Le virus du Sida. Paris 2003. p.94-117.
- 56. Sylla M, Dicko F, Oumar A et al.** Évaluation de l'observance du traitement antirétroviral chez les enfants infectés par le VIH à Bamako /Archive de pédiatrie (aout 2008) 1356-1357.<https://www.em-conuslte.com> > article
- 57. Tambuyer L, Vingerhoets J, Azijn H and al.** Characterization of genotypic and phenotypic changes in HIV-1 infected patients with virological failure on an etravirine -containing regimen in the DUET-1 and DUET-2 clinical studies. *AIDS Res Hum Retrovir.* 2010; 26: 1197–205
- 58. Touré Mahady:** Evaluation du niveau de l'observance au traitement ARV chez les enfants de 0 à 15 ans à l'ONG walé de Ségou. Thèse 2010.10M536.pdf. www.Keneya.net> med > pdf

- 59. Vanthournout B, Van Der Kelen E, Elate D and al.** Clinical evaluation of adherence to antiretroviral therapy in adolescents infected by HIV Infany. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- 60. Visier L.** Quelques aspects d'histoire sociale du Sida. In: Médecine, Maladie, Société. Les maladies infectieuses. Montpellier : Sauramps médical, 2005. p87-105
- 61. Von Wyl V, Yerly S and al.** Emergence of HIV-1 drug resistance in previously untreated patients initiating combinaison antiretroviral treatment: a comparaison of different regimen types. Arch Intern Med. 2007; 167:1782–90.
- 62. Yeni P.** Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Recommandation du groupé d'experts. Rapport 2010, Flammarion: Chapitre 2, 33
- 63. Ziad E, Anna M, Ashraf C and al.** Adherence and virologic suppression during the first 24 weeks on antiretroviral therapy among women in Johannesburg, South Africa a prospective cohort study. (février 2011). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>
- 64. Chkhartishvili N, Sharvadze L, Dvali N. Karchava M, Rukhadze N LM et al .** Virologic outcomes of second-line antiretroviral therapy in eastern european country of georgia. AIDS Research and Therapy, 11:18, p.1_6. Available at: AIDS Research and Therapy 2014, 11:18 Page 2 of 6. AIDS Res Ther 2014 [Internet]. 2014;11:18:1_6. Available from: Chkhartishvili et al. AIDS Research and Therapy 2014, 11:18 Page 2 of 6.
- 65.** Les rétrovirus, cours de Anne Decoster (pour la section Histoire, Structure, Transmission, Cycle de réplication, Variabilité génétique, Diagnostic et suivi infectieux). <https://fr.m.wikipedia.org>. Consulté le 29/09/2019
- 66.** Traduction et modification d'une image du National Institute of Allergy and Infectious Diseases. <http://www.niad.nih.gov/daids/dtpdb/attach.asp>
<http://www.niad.nih.gov/daids/dtpdb/graphics/cellbin.gif>. Consulté le 29/09/2019

FICHE SIGNALETIQUE

NON : AYA

PRENOM : FATOUMATA

Tel : +(223) 75 20 38 83

Email : fatoumataaya90@gmail.com

Titre de la thèse : Prévalence des échecs virologiques des adolescents infectés par le VIH-1 et sous traitement ARV

Nationalité : Malienne

Année universitaire : 2018-2019

Ville de soutenance : Bamako/Mali

RESUME :

Le Mali est le 3ème pays africain à avoir rendu gratuit l'accès aux traitements ARV et le suivi biologique de l'infection à VIH en Juillet 2004.

Nous avons mené une étude sur la prévalence de l'échec virologique chez les adolescents infectés par le VIH-1 et sous traitement ARV au CHU Gabriel Touré entre novembre 2016 et décembre 2017. Nous avons mené une étude transversale qui portait sur 41 adolescents. Les données ont été recueillies à partir des dossiers des patients. La tranche d'âge 14-15 ans était la plus représentée (46,34%), les garçons étaient les plus nombreux (63,41%). Le schéma thérapeutique EFV/ABC/3TC était le plus prescrit à nos patients (43,90%). Nous avons évalué la prévalence de l'échec virologique chez 41 patients sous traitement ARV infectés par le VIH-1 soit un taux d'échec de 39,02%.

La prévalence de l'échec virologique était 31,71% à 6 mois et 39,02% à 12 mois de ARV.

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

Ces résultats suggèrent la nécessité de renforcer les capacités des laboratoires (Bamako et capitales régionales) pour le suivi biologique des PV VIH. Ceci permettra la prise en charge précoce des situations d'échec virologique et de ses causes (inobservance, résistance aux ARV).

MOTS Clés : VIH-1, ARV, échecs virologique, adolescents, prévalence.

SUMMARY:

Mali is the 3rd African country to make access to ARV treatment and biological monitoring of HIV infection free in July 2004.

We conducted a study on the prevalence of virologic failure in HIV-1 infected and ARV-treated adolescents at Gabriel Touré CHU between November 2016 and December 2017. We conducted a cross-sectional study of 41 adolescents. Data was collected from patient records. The 14-15 age group was the most represented (46.34%), the boys were the most numerous (63.41%). The EFV/ABC/3TC regimen was the most prescribed for our patients (43.90%). We evaluated the prevalence of virologic failure in 41 HIV-1 infected patients receiving ARVs, a failure rate of 39.02%. The prevalence of virologic failure was 31.71% at 6 months and 39.02% at 12 months of ART.

Overall, our results showed that adherence was a key factor in achieving a significant increase in CD4 T cell count and a dramatic decrease in plasma viral load.

These results suggest the need to strengthen the capacity of laboratories (Bamako and regional capitals) for biological monitoring of HIV PV. This will allow the early management of situations of virologic failure and its causes (nonobservance, resistance to ARVs).

KEY WORDS: HIV-1, ARV, virological failure, adolescents, prevalence.

SERMENT DE GALIEN

Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers
de l'Ordre des Pharmaciens, et de mes condisciples :

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

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

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

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

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

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

Je le jure!