

Université des Sciences, des Techniques et des
Technologies de Bamako



U.S.T.T-B

Année universitaire 2018-2019

FACULTE DE PHARMACIE (FAPH)



N°-----/

THESE

*Fréquence des échecs virologiques chez les
patients adultes infectés par le VIH-1 sous
traitement ARV à Ségou au Mali.*

présentée et soutenue publiquement le/07/2019

devant le jury de la Faculté de Pharmacie

par *M^{me} Mariam SOW*

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(DIPLOME D'ETAT)

JURY

Président : Pr Daouda Kassoum MINTA

Membres du Jury: Dr Mohamed AG BARAÏKA

Dr Almoustapha Issiaka MAIGA (invite)

Dr Mahamadou DRABO (invité)

Codirecteur de Thèse : Dr Ibrehima GUINDO

Directeur de Thèse : Pr Flabou BOUGOUDOGO

DEDICACES & REMERCIEMENTS

A ALLAH :

Le très Haut, le très Grand, le Clément, L'Omniscient, l'Omnipotent. Le Tout Puissant, le très Miséricordieux d'avoir permis à ce travail d'aboutir à son terme.

Au PROPHETE MOHAMED paix et salut sur lui.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail ...

À mon très cher père AMADOU SOW

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquents soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de la confiance en moi-même face aux difficultés de la vie. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Votre patience sans fin, votre compréhension et votre encouragement sont pour moi le soutien indispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir. Que Dieu le Tout-Puissant vous préserve et vous accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tout mal.

À ma très chère maman AÏSSATA KANE

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous. Vous m'avez comblé avec votre tendresse et votre affection tout au long de mon parcours. Vous n'avez cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes mes années d'études, vous avez toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour vous, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le Tout-Puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour.

À Mon très cher époux : Sidy Modibo DOUCOURE

Ton encouragement et ton soutien étaient la bouffée d'oxygène qui me ressourçait dans les moments pénibles, de solitude et de souffrance. Merci d'être toujours à mes côtés, par ta présence, par ton amour dévoué et ta tendresse, pour donner du goût et du sens à notre vie de famille. En témoignage de mon amour, de mon admiration et de ma grande affection, je te prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon sincère attachement et mon amour fidèle. Je prie Dieu le Tout-Puissant pour qu'il te donne bonheur et prospérité qu'il réunisse nos chemins pour un long commun serein.

À ma sœur : Dr FANTAMABOU

En souvenir d'une enfance dont nous avons partagé les meilleurs et les plus agréables moments. Pour toute la complicité et l'entente qui nous unissent, ce travail est un témoignage de mon attachement et de mon amour.

À mon frère Boubacar, son épouse Bintou SIDIBE et leurs enfants Aïcha et Amadou :

Je salue mon frère qui n'a ménagé aucun effort pour ma réussite.

Mon ange gardien et mon fidèle compagnon dans les moments les plus délicats de cette vie mystérieuse.

Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, de santé et de réussite.

À mes chers et adorables frères et sœurs : Mohamed, Hamady et Kadiatou :

Pour toute l'ambiance dont vous m'aviez entouré, pour toute la spontanéité et votre élan chaleureux.

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité et d'amour.

Puisse Dieu le Tout-Puissant exaucer tous vos vœux.

À feu ma grande mère chérie Rakiatou Koné

Toi qui m'as accompagnée par tes prières, ta douceur. À la mémoire de la grande Dame qui a tant sacrifié pour nous.

J'aurais tant aimé que tu sois présente. Que Dieu ait ton âme dans sa sainte miséricorde et que la terre te soit légère.

À mes chers oncles, tantes, leurs époux et épouses ;

Et à mes chers cousins et cousines :

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

À mes beaux-parents :

Je ne pourrais jamais exprimer le respect que j'ai pour vous. Vos prières, vos encouragements et votre soutien m'ont toujours été d'un grand secours. Puisse Dieu, le Tout-Puissant vous préserver du mal, vous comble de santé, de bonheur et vous procure une longue vie.

À mes beaux-frères et belles sœurs et leurs enfants :

Merci de m'avoir accueilli parmi vous. Puisse ce travail témoigner de ma profonde affection et de ma sincère estime.

REMERCIEMENTS :

À mes chères amies :

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

À Dr Keita Mariam Traoré : Vous m'avez accueillie très chaleureusement dans votre service, et je vous en serais toujours reconnaissante. Votre dévouement, votre rigueur et votre franchise sont des qualités que nous apprécions hautement. Merci pour tous vos enseignements.

À Dr Drabo Mahamadou : Ton aide et tes conseils m'ont été précieux dans la réalisation de ce travail. Trouve ici ma profonde gratitude.

À Mr Issiaka Sogodogo dit Zamblé : Un profond respect et un remerciement particulier pour votre bonne contribution dans ce travail.

À Dr Coulibaly Damissa, Infectiologue, chef du service de médecine. Recevez en ce travail mes sincères remerciements pour votre générosité et votre amabilité en ma personne.

À tout le personnel de la 9^{ème} promotion du numerus ;

À tout le personnel du SEREFO, et un grand merci à Dr Konta Fatoumata Traoré, Dr Togo Josué, Dr Dolo Oumar.

À tous les internes et résidents de l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou ;

À tout le personnel du labo de l'hôpital Nianankoro Fomba : particulièrement M^{me} Mariam Bakayoko, M^{me} Sanata Thiero, M^{me} Djenebou Djire, M^{me} Fatoumata Traoré, M. Daouda Daou, M. Kalifa Coulibaly, M. Souleymane Konta, M. Lassine Coulibaly, M. Tahirou Coulibaly, M. Youssouf Mariko, M. Boubacar Kollo, M. Ousmane Kassogue.

Je ne saurais point-vous remercier de votre contribution à l'élaboration de ce travail ainsi que votre considération envers ma personne.

À tous les PVVIH :

Je ne peux trouver les mots justes et sincères pour vous exprimer mon affection et mes pensées, vous êtes pour moi des tontons, des tantes, des frères, sœurs et des amis sur qui je peux compter.

En témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous remercie et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

À TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPÉ A L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL À TOUS CEUX QUE J'AI OMIS DE CITER.

**HOMMAGE AUX
MEMBRES DU JURY**

❖ **À notre Maître et président de Thèse Pr Daouda Kassoum MINTA**

- ✓ **Professeur Titulaire des Universités,**
- ✓ **Agrégé de Maladies Infectieuses et Tropicales,**
- ✓ **Directeur du centre d'excellence de lutte contre le VIH,**
- ✓ **Chargé de cours de parasitologie et de thérapeutique à la Faculté de Médecine et d'Odonto-stomatologie (FMOS),**
- ✓ **Vice-président de la société Africaine de Pathologies Infectieuses.**

Honorable Maître,

Nous avons eu le privilège de travailler dans votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs. Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération.

❖ **À notre Maître et directeur de Thèse Pr Flabou BOUGOUDOGO**

- ✓ Maître de conférences Agrégées de bactériologie et virologie à la faculté de pharmacie et de médecine,
- ✓ Responsable de l'enseignement de la bactériologie et de la virologie à la faculté de pharmacie,
- ✓ Directeur de l'INRSP de 2002 à 2012,
- ✓ Chevalier de l'ordre du mérite de la santé.

Honorable Maître,

Vous avez bien voulu nous confier ce travail riche d'intérêt.

Nous vous remercions pour votre estimable participation dans son élaboration.

Toujours au service de vos étudiants, permettez-nous de vous exprimer notre admiration pour vos qualités humaines et professionnelles.

❖ **À notre Maître et Co-directeur de Thèse Dr Ibréhima GUINDO**

- ✓ **Pharmacien biologiste,**
- ✓ **Chef du service de bactériologie - virologie INRSP,**
- ✓ **Responsable du laboratoire des IST/VIH de l'INRSP,**
- ✓ **Maître-assistant de bactériologie Virologie à la faculté Pharmacie de Bamako.**

Cher Maître,

Nous sommes très honorés de vous compter dans ce jury.

Votre simplicité, votre disponibilité et votre amour du travail bien fait nous ont beaucoup marqués.

Puisse le Seigneur vous accorder santé et longévité afin que nous puissions bénéficier de votre expérience.

❖ **À notre Maître et juge Dr Mohamed AG BARAIKA**

- ✓ **Pharmacien microbiologiste,**
- ✓ **Maître -assistant en bactériologie et virologie à la faculté de pharmacie,**
- ✓ **Enseignant-chercheur au Centre de Recherche et de Lutte contre la Drépanocytose (CRLD).**

Cher Maître,

Vous nous faites l'honneur d'accepter avec une très Grande amabilité de siéger parmi notre jury de thèse. Veuillez accepter monsieur l'expression de notre Grand respect et notre profonde reconnaissance.

❖ **À notre Maître Dr Almoustapha Issiaka MAIGA**

- ✓ **Responsable de l'unité d'épidémiologie moléculaire de résistance du VIH aux ARV du SEREFO,**
- ✓ **Chef de Département de Biologie Médicale du CHU Gabriel Touré,**
- ✓ **Secrétaire General, de l'Association Africaine de lutte contre la Résistance au Antimicrobiens (AARAM),**
- ✓ **Membre de plusieurs sociétés savantes internationales sur le VIH dans le monde**
- ✓ **Enseignant vacataire à la faculté de Pharmacie,**
- ✓ **Chargé de recherche, CHU Gabriel Touré.**

Cher Maître,

Vous nous avez toujours réservé le meilleur accueil, malgré vos obligations professionnelles, et nous guidé à chaque étape de la réalisation de ce travail.

Vos encouragements inlassables, votre amabilité, votre gentillesse méritent toute admiration.

❖ **À notre Maître Dr Mahamadou DRABO**

- ✓ Médecin d'appui au Centre de Traitement Ambulatoire (CTA) à l'ONG Walé de Ségou,
- ✓ Coordinateur du centre de traitement ambulatoire (CTA) à l'ONG Walé de Ségou,
- ✓ Professeur de l'unité d'enseignement du système d'information appliqué à la santé (SIG) à l'institut supérieur de santé publique de Bamako (ISSP),
- ✓ Coordinateur régional - KOULIKORO : fonds-mondial paludisme à l'alliance Médicale contre le paludisme,
- ✓ Coordinateur de suivi évaluation du projet Fonds-Mondial des utilisateurs de drogues injectables (UDI) à ARCAD-SIDA.

Cher Maître,

Vous nous avez honorés en acceptant avec une grande sympathie de siéger dans notre jury de thèse et d'avoir participé à l'élaboration des résultats ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre grand respect et nos vifs remerciements.

TABLE DES MATIERES

Liste des abréviations :	xix
Liste des ANTIRETROVIRAUX :	xxii
1. INTRODUCTION	2
2. OBJECTIFS	5
2.1. Objectif général	5
2.2. Objectifs spécifiques.....	5
3. GENERALITES	7
3.1. Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)	7
3.1.1. Définition et Historique	7
3.2. Structure du VIH	8
3.2.1. Structure morphologique.....	8
3.2.2. Structure génomique	9
3.2.3. Propriété physico-chimique.....	10
3.2.4. Cycle de réplication du VIH.....	10
3.2.5. Cellules cibles et réservoirs	11
3.2.6. Mode de transmission et évolution du virus.....	12
3.2.7. Diversité génétique	13
3.2.8. Épidémiologie.....	15
3.3. Classification de l'infection à VIH en stades clinique.....	17
3.4. Répartition géographique.....	19
3.5. Diagnostic au laboratoire	20
3.5.1. Diagnostic indirect.....	20
3.5.2. Diagnostic direct.....	21
3.6. Traitement ARV	24
3.6.1. Objectifs du traitement.....	24
3.6.2. Obstacles	25
3.6.3. Les différentes classes thérapeutiques :	25

3.6.4. Molécules antirétrovirales de 2015.....	28
3.6.5. Les stratégies de traitements anti rétroviraux.....	29
3.6.6. Schémas thérapeutiques :	29
3.6.7. Suivi biologique.....	33
3.7. Techniques d'extraction.....	35
3.7.1. Détection en temps réel.....	36
3.7.2. Les sondes fluorogéniques	38
3.7.3. Description du module m2000rt [52].....	38
3.8. Échec thérapeutique.....	39
3.8.1. Échec clinique	39
3.8.2. Échec immunologique.....	39
3.8.3. Échec virologique	40
3.9. Observance.....	40
3.10. Résistance.....	40
4. MATERIEL ET METHODES	42
4.1. Cadre et lieu de l'étude	42
4.2. Types et périodes d'étude	46
4.3. Population d'étude.....	46
4.4. Critère d'inclusion	46
4.5. Critère de non-inclusion.....	46
4.6. Taille de l'échantillon	46
4.7. Technique utilisée pour l'étude	46
4.7.1. Principe de la technique d'Abbott [61].....	46
4.7.2. Résultats du m2000rt	47
4.7.3. Organisation du local de la charge virale	47
4.7.4. Réactifs et matériels	47
4.7.5. Procédure de prélèvement de sang pour la charge virale	50
4.7.6. Procédure de la technique [61].....	51

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

4.7.7. Interprétation et rendus des résultats	51
4.7.8. Analyse des données	52
4.8. Variables étudiées.....	53
5. RESULTATS	55
5.1. Description sociodémographique et biologique	55
5.2. Tableaux croisés et régression logistique bivariée	60
5.3. Analyse multivariée de la régression logistique :.....	67
6. DISCUSSION	69
6.1. Limites de notre étude.....	69
6.2. Manipulations au laboratoire « Technique Abbott »	71
6.3. Caractéristiques sociodémographiques, immunologiques et virologiques	71
7. CONCLUSION	75
8. RECOMMANDATIONS	77
9. REFERENCES.....	79
10. ANNEXES	87

Liste des Tableaux

Tableau I : La répartition du VIH au Mali dans le District de Bamako et quelques régions en 2012.	17
Tableau II : la classification en stade clinique de l'infection à VIH selon CDC (centers for disease control and prevention) modifié en 1993 [28].	19
Tableau III : liste des molécules ARV commercialisées [42].	27
Tableau IV : les alternatives de seconde lignes possibles en fonction des schémas utilisés en première ligne et en cas de contre-indication ou de toxicité de l'une des molécules du schéma préférentiel [4].	30
Tableau V : Trousses de mesure en temps réel de la charge virale [50].	34
Tableau VI : Performance Abbott Real Time HIV-1 Quantitative Assay TM [52].	39
Tableau VIII : Interprétation des résultats obtenus sur le m2000rt (en utilisant les volumes 1,0 et 0,6 ml)	52
Tableau VIII : Répartition des patients en fonction de la profession	55
Tableau IX : Répartition des patients en fonction de la résidence	56
Tableau X : Répartition des patients en fonction du statut matrimonial.	56
Tableau XI : Répartition des patients en fonction du statut du conjoint.	57
Tableau XII : Répartition des patients en fonction du stade clinique.	57
Tableau XIII : Répartition des patients en fonction de l'effet secondaire au traitement ARV.	57
Tableau XIV : Répartition des patients en fonction de l'échec virologique.	57
Tableau XV : Répartition des patients en fonction du taux de CD4 initial.	58
Tableau XVI : Répartition des patients en fonction de la ligne thérapeutique.	58
Tableau XVII : Répartition des patients en fonction de la durée du traitement ARV.	58
Tableau XVIII : Répartition des patients en fonction de l'observance au suivi thérapeutique.	58
Tableau XIX : Répartition des patients en fonction de l'Ag HBs.	59
Tableau XX : Répartition des patients en fonction du site de prise en charge.	59
Tableau XXI : Répartition des patients en fonction des différents schémas thérapeutiques.	59
Tableau XXII : Tableau croisé de l'échec en fonction de la profession.	60
Tableau XXIII : Tableau croisé de l'échec en fonction du sexe.	61
Tableau XXIV : Tableau croisé de l'échec en fonction de la tranche d'âge	61

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Tableau XXV: Tableau croisé de l'échec en fonction de la résidence .	61
Tableau XXVI: Tableau croisé de l'échec en fonction du statut matrimonial.	63
Tableau XXVII: Tableau croisé de l'échec en fonction du statut du conjoint.	64
Tableau XXVIII: Tableau croisé de l'échec en fonction du stade clinique.	64
Tableau XXIX: Tableau croisé de l'échec en fonction de l'effet secondaire au traitement ARV.	64
Tableau XXX: Tableau croisé de l'échec en fonction du taux de CD4 initial.	65
Tableau XXXI: Tableau croisé de l'échec en fonction de la ligne thérapeutique.	65
Tableau XXXII: Tableau croisé de l'échec en fonction de la durée du traitement ARV.	65
Tableau XXXIII: Tableau croisé de l'échec en fonction de l'observance au suivi thérapeutique.	66
Tableau XXXIV: Tableau croisé de l'échec en fonction du site de prise en charge.	66
Tableau XXXV: Tableau croisé de l'échec en fonction du PDV.	66
Tableau XXXVI: Tableau croisé de l'échec en fonction de l'Ag HBs.	66
Tableau XXXVII: Tableau multivarié de la régression logistique.	67

Liste de Figures

Figure 1 : Structure organisationnelle de l'HIV [14].	9
Figure 2 : Structure génomique de l'ADN proviral du VIH-1 ainsi que les gènes régulateurs et de la séquence LTR [16].	10
Figure 3 : Cycle de réplication du VIH-1[20].	11
Figure 4 : Illustration de l'évolution de l'infection au VIH en l'absence de traitement [9].	13
Figure 5 : Arbre phylogénétique du VIH-1 [26].	14
Figure 6 : Distributions géographiques des VIH-1 dans le monde les sous-types les plus fréquents de façon décroissante sont C, A, B, CRF02_AG et CRF01_AE [29].	20
Figure 7 : Courbe de température par cycle pendant la PCR [31].	22
Figure 8 : Représentation schématique des (03) étapes de la PCR. [31].	23
Figure 9 : Amplification exponentiel : nombre de copies par cycle pour 35 cycles [31].	23
Figure 10 : Schéma de la capture et de l'élution de l'ARN [52].	36
Figure 11 : Suivi en temps réel d'une réaction de PCR [53].	37
Figure 12 : Les sondes d'hybridation Abbott Real Time HIV-1 (52).	38
Figure 13 : Représentation graphique des patients en fonction du sexe.	55
Figure 14 : Représentation graphique des patients en fonction de la tranche d'âge.	56
Figure 15 : Représentation de la charge virale en pourcentage selon les valeurs de la machine .	60
Figure 16 : Répartition spatiale de la proportion des cas d'échecs.	62
Figure 17 : Répartition spatiale de l'échec en fonction des cercles de Ségou.	63
Figure 18 : Courbe de calibration du dosage [61].	95

Liste des abréviations :

AIC: Akaike information criteria

AIDS: acquired immunodeficiency syndrome

ACD: Acid-Citrate-Dextrose

ACT : comité du SIDA de Toronto

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN: Acide Ribonucléique

ARV: Antirétroviraux

BMS: Bristol-Myers Squibb

CA: Capside

CDC: centers for diseases control

CCR5: CC Chemokine Receptor 5 ou CC Récepteur de chemokine 5

CD4/CD8: Cluster of Différentiation 4/8 ou caractère de différenciations 4/8

CI : Control Interne

CPA : cellules présentatrices d'antigènes

CSCOM : centre de santé communautaire

CRF: Circulating Recombinant Form ou Forme recombiné circulant

CTA : centre de traitement ambulatoire

CV : charge virale

CXCR4 : CXC Chemokine Receptor ou CXC Récepteur de chemokine

EDTA : Acide Ethylène Diamine Tétra-Acétique

EDSM V : Enquête Démographique et de Santé du Mali V

ELISA: Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay ou dosage immuno-enzymatique

Env. : Enveloppe

FAPH : Faculté de Pharmacie

FDA : Food and Drug administration

FMOS : Faculté de Médecine et d'odontostomatologie

Gag : Group antigen ou Antigène de Groupe

Gp: Glycoprotéine

GRID: gay related immune deficiency

HR2: région répétée

INI: Integrase Inhibitor

INNTI : Inhibiteur Non-Nucléotidique/Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

INTI : Inhibiteur Nucléotidique/Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

IMAARV: Initiative Malienne d'accès aux Traitement Anti-Rétroviraux

IQR: Interquartile Range

LAV: lymphadenopathy associated virus

LTR: Long Terminal Repeat

IP : Inhibiteur de la Protéase

NIAID: National Institute of Allergy and Infectious Diseases ou Institut national des maladies allergiques et infectieuses

NIH: National Institute of Health

NRTI: nucleoside reserve transcriptase inhibitor

OMS : Organisation mondiale de la Santé

OR : Odds Ratio

ONUSIDA : Organisation des Nations Unis contre SIDA

PCC : *Pneumocystis carinii* (actuellement *Pneumocystis jyroveci*)

PCR : Polymérase Chain Réaction

PDV : perdue de vue

Pol : Polymérase

PTME : Prévention de la transmission de la mère à l'enfant

PVVIH : Personne Vivante avec le VIH

RT-PCR: Real Time Polymerase Chain Reaction

SIV: Simien Immunodéficience Virus ou Virus de l'Immunodéficience Simienne

TAR : Traitement Antirétroviral

TDR : Test de Diagnostic Rapide

TI/RT : Transcriptase Inverse / Reverse transcriptase

URF : Unit Recombinant Form ou Unique forme recombinante

USTTB : Université des Sciences, des Techniques, et des Technologies de Bamako

VIH/SIDA : Virus de l'Immunodéficience Humaine/Syndrome de l'Immunodéficience
Acquis

Liste des ANTIRETROVIRAUX :

3TC : Lamivudine

ABC : Abacavir

ATV : Atazanavir

AZT: Zidovudine

COBI : Elvitegravir/cobisistat

D4T: Stavudine

DdI: Didanosine

DRV: Darunavir

DTG: Dolutegravir

EFV: Efavirenz

EVG: Elvitegravir

ETV: Etravirine

Fos APV : Fosamprénavir

FTC : Emtricitabine

IDV: Indanavir

LPV/r : Lopinavir boosté par le Ritonavir

MRV : Maraviroc

NFV : Nelfinavir

NVP : Nevirapine

RAL: Raltegravir

RPV: Rilpivirine

SQV: Saquinavir

TAF: Tenofovir - alafénamide

TDF: Ténofovir-Isoproxil-fumarate

TPV : Tipranavir

T20 : Enfuvirtide

INTRODUCTION

1. INTRODUCTION

Le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) est un rétrovirus qui s'attaque aux cellules du système immunitaire et les détruits ou les rend inefficaces. Il a été découvert il y'a trois décennies et il continue de faire des ravages. Le syndrome de l'immunodéficience acquise (SIDA) est le dernier stade de l'infection à VIH [1].

Le SIDA est aujourd'hui la première cause de décès prématurés en Afrique subsaharienne et la quatrième dans le monde [2].

Aux premiers stades de l'infection, le sujet ne présente pas de symptôme, cependant, l'évolution de l'infection entraîne un affaiblissement du système immunitaire et une vulnérabilité accrue due aux infections opportunistes [1].

Dans le monde on compte 36,9 millions de personnes contaminées, plus de 17 millions de personnes ignorent encore leur séropositivité constituant ce qu'on appelle l'épidémie cachée du VIH [3]. Ceci pose un problème d'envergure concernant la transmission du virus. Le nombre de personnes qui avaient accès à la thérapie ARV en 2017 se chiffre à 21,7 millions tandis que le nombre total d'Africains vivant avec le VIH correspond à 25,3 millions.

Au Mali en 2012 selon EDSM V, la prévalence était de 1,1% de la population de 15 à 49 ans composée de 1.3% femme et 0.8% d'homme [4].

Malgré l'existence de multiples traitements permettant d'allonger l'espérance de vie des séropositifs, il n'existe toujours pas de traitement curatif [5].

Le traitement ARV est une multi thérapie associant généralement deux inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase inverse (INTI) à un inhibiteur non nucléotidique de la transcriptase inverse (INNTI) ou un inhibiteur de protéase (IP) et / ou un inhibiteur de l'intégrase. Le traitement réduit non seulement le risque de transmission de l'infection mais aussi permet de ralentir l'évolution de la maladie, il nécessite une bonne observance, un suivi régulier de la part du patient, du personnel soignant ainsi que les organisations communautaires. Le traitement ARV est indiqué en fonction de l'état clinique, immunologique; et ou virologique du patient. Pour favoriser l'observance et diminuer le coût de la prise en charge, les combinaisons thérapeutiques fixes doivent être privilégiées [6].

À nos jours, la réussite de l'éradication du VIH pour l'ONUSIDA repose sur 3 objectifs.

Que d'ici à 2020, 90 % des personnes vivantes avec le VIH reconnaissent leurs états sérologiques vis-à-vis du VIH, 90 % de ces personnes dépistées soient sous traitement antirétroviral et 90 % des personnes sous traitement aient une charge virale supprimée. Et pour cela il est important de faire recours à la biologie notamment le dépistage et l'évaluation de la charge virale (CV) [7].

Compte tenu de la chronicité du traitement ARV et de l'importance de l'observance pour son efficacité, chaque patient recevra une éducation thérapeutique ainsi qu'un soutien psychologique et social au besoin avant le début du traitement. Au cours des consultations qui

suivront, l'éducation thérapeutique et les soutiens psychologique et social au besoin seront régulièrement effectués.

L'évaluation de la réponse immuno virologique (numération des lymphocytes T CD4 et CV) au cours du traitement ARV sera effectuée tous les six mois ou au moins une fois par an et au besoin.

Malgré les progrès réalisés au Mali dans la prise en charge du VIH et du sida, quelques difficultés persistent, à savoir : l'inaccessibilité des soins dans certaines localités, la faible qualité des données et le problème la remontée des informations, l'insuffisance des conditions idéales de stockage des produits de santé VIH à tous les niveaux de la pyramide sanitaire ,le problème de la maintenance des équipements de laboratoire d'offre de services VIH , la faible disponibilité des produits de laboratoire et des tests de dépistage VIH, l'insuffisance de suivie/évaluation [8].

La charge virale (CV) reste actuellement le meilleur outil de suivi de l'efficacité thérapeutique et de détection d'échec virologique.

Cependant, la charge virale et la numération (CD4) restent souvent restreintes suite à des problèmes d'approvisionnement de réactifs, des pannes techniques, des pertes de vue de certains malades.

La région de Ségou, est une des régions la plus petite du Mali située à 240 km de Bamako avec une superficie de 64 821 km² avec un taux de prévalence de 2%. Elle est la première région à mettre en œuvre la décentralisation des soins pour le VIH [8].

Le suivi biologique demeure une nécessité dans la région mais d'amples écueils se mettent en travers tel que : la rupture des dossiers cliniques au niveau des sites de prise en charge, la panne récurrente des appareils au niveau de biologie (CV et CD4), le déplacement des prescripteurs (pour des formations et des congés), la faible demande des bilans, le suivi biologique des patients irréguliers, d'où l'idée de faire un décompte de ses patients en échec virologique.

Peu d'études ont été réalisées sur l'échec dans la région de Ségou. Cependant, en 2004 dans la région une étude a montré un taux d'échec de 23,8% et le nombre médian de CD4 était de 105 cellules/ μ [9].

Une étude en 2014 a montré un taux d'échec de 4.18% sur 862 patients tous de l'ONG Walé et 61,1% avaient un taux de CD4 inférieur 200 cellules/ μ l [10].

Tout au long de cette étude, nous gardons à l'esprit l'aspect avant tout opérationnel de notre travail en essayant quand cela est possible de proposer des pistes de réflexions pour une amélioration du suivi des patients et d'une manière générale de l'information existant au sein du système de santé régional.

OBJECTIFS

2. OBJECTIFS

2.1. Objectif général

- Évaluer la fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitement ARV à Ségou au Mali.

2.2. Objectifs spécifiques

- Décrire les profils sociodémographique et biologique des patients.
- Déterminer la fréquence des charges virales détectables en fonction du traitement ARV.
- Déterminer les facteurs associés à l'échec virologique chez les patients.
- Faire une répartition spatiale de l'échec en fonction des cercles de Ségou.

GENERALITES

3. GENERALITES

3.1. Virus de l'immunodéficience humaine (VIH)

3.1.1. Définition et Historique

Le VIH est le virus de l'immunodéficience humaine. Il s'agit d'un virus qui appartient au groupe des rétrovirus (incluant les sous-familles des lentivirus, des oncovirus et des spumavirus), qui infectent de nombreuses espèces de mammifères.

Ce sont des virus enveloppés, à ARN qui possède une reverse transcriptase. Cette enzyme spécifique permet de transformer l'ARN viral en ADN double brin (provirus lequel peut s'intégrer dans le chromosome de la cellule et induire une infection définitive de l'organisme [11].

En 1981, le Centre pour le Contrôle et la Prévention des Maladie ou CDC (Centers for Disease Control and prevention a été informé du taux élevé de l'apparition de maladies rares, la pneumonie à *Pneumocystis carinii* (PCC) actuellement *Pneumocystis jirovici* et le sarcome de Kaposi chez les jeunes hommes homosexuels.

Le premier nom attribué à la nouvelle maladie a été Gay Related Immune Deficiency (GRID) ou encore syndrome gay.

En 1982, l'équipe du Professeur Luc Montagnier de l'institut Pasteur de Paris isole le syndrome des gays chez les hémophiles et les transfusés de sang. Cette même année, Bruce Voeller l'a renommée Acquired Immuno-deficiency Syndrome(AIDS) ou syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA en français).

En 1983, l'équipe du professeur Jean-Claude Chermann de l'Institut Pasteur, sous la direction de Luc Montagnier, découvre qu'il peut y avoir une transmission hétérosexuelle et isole le VIH, la première description du virus responsable du Sida, que l'équipe de l'Institut Pasteur baptise le virus "Lymphadenopathy Associated Virus " ou LAV. Dès cette année l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) a commencé une surveillance globale du SIDA [12].

En 1984 une épidémie chez les hétérosexuels est signalée en Afrique. L'AIDS Committee of Toronto (ACT) organise la première semaine de sensibilisation au SIDA.

En 1986, le premier test de détection du SIDA est breveté par la US Food and Drug administration (FDA). Et aussi a été découverte la transmission verticale (de la mère à l'enfant) a été découvert.

En 1994, les recherches ont montré que la zidovudine (AZT) réduit de deux tiers le risque de transmission verticale du VIH pendant la grossesse. Un plan est formulé pour remplacer le programme Global contre le VIH /Sida de l'OMS par le Programme commun des Nations unies sur le VIH /Sida (ONUSIDA).

En 2004, La charge virale existait au Mali et ONUSIDA a lancé la cotisation mondiale sur les femmes et le sida pour faire connaître l'impact du VIH/SIDA chez les femmes et les filles dans le monde entier ; au Mali, l'IMAARV accorde la gratuité à cette technique seulement en 2006.

Depuis 2013, l'OMS a recommandé l'utilisation des antirétroviraux pour la prévention de l'infection à VIH en particulier pour les femmes enceintes, les jeunes enfants et les populations clés exposées au risque du VIH.

En 2015, START nom d'un essai clinique d'envergure qui s'est déroulé sur plusieurs années, fournit des données probantes indiquant que l'amorce peu après le diagnostic de VIH réduit le risque de maladie grave et de mortalité. Par conséquent, l'OMS a publié des lignes directrices mises à jour qui recommandent de traiter toutes les personnes vivant avec le VIH peu importe leur compte de CD4 [13].

Le VIH-1 est constitué de 3 groupes différents : M où majoritaire, N, O. Le groupe N est proche du virus SIV. Au sein de ces trois groupes, on détermine des sous-types définis par une lettre A, B, C, D, E, F, G, H, I, J ; le sous-type européen et américain est le sous-type B.

On définit également des recombinaisons dans des pays où plusieurs sous-types sont présents AC, AE, etc.... [14].

3.2. Structure du VIH

3.2.1. Structure morphologique

Le VIH-1 est un virus à ARN de 90 à 120 nm de diamètre et composé de deux molécules d'ARN monocaténares. Il dispose d'une enveloppe composée d'une couche lipidique formée d'un fragment de la membrane de la cellule infectée et de glycoprotéines virales (gp41 et gp120). À l'intérieur de l'enveloppe se trouve une matrice protéique (MA) composée de protéines p.17 ainsi que la capsid (CA) composée de protéines p.24. C'est ce dernier type de protéines qui, avec gp 41 et gp 120, sont utilisés dans les **tests VIH WESTERN BLOT**. Les protéines **nucléocapside p. 7 (NC)** protègent l'ARN viral en le recouvrant. La protéine p. 6 est exclue de la capsid et se trouve entre la matrice et la capsid, elle permet la sortie par bourgeonnement des virus nouvellement formés dans la cellule. Le génome du VIH, contenu dans la capsid, est constitué d'un simple brin d'ARN en double exemplaire, accompagné d'enzymes :

- La **transcriptase inverse p. 66/p. 51** ou rétrotranscriptase qui rétrotranscrit l'ARN viral en ADN viral.
- L'**intégrase p. 32** qui intègre l'ADN viral à l'ADN cellulaire.

La **protéase p. 12** qui participe à l'assemblage du virus en clivant les précurseurs protéiques Gag p. 55 et Gag-Pol p. 160. La protéase est présente dans la capsid [15].

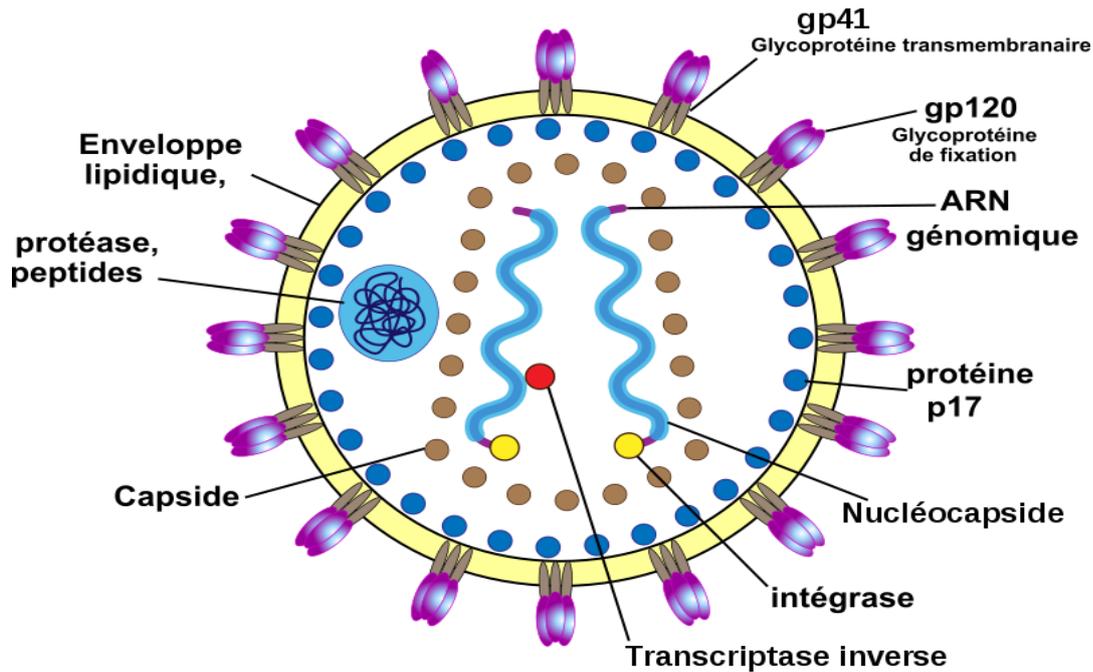


Figure 1 : Structure organisationnelle de l'HIV [16].

3.2.2. Structure génomique

Le génome du VIH-1 est constitué de deux copies d'ARN simple brin de polarité inverse de 9193 nucléotides et possède neuf cadres de lectures ouverts. Trois de ses cadres de lecture codent pour les glycoprotéines :

Gag : gène de l'antigène du groupe

Pol : gène de la polymérase (RT)

Env : gène de la glycoprotéine d'enveloppe

Vif, Vpr, Vpx : favorisent l'infection

Tat : est un activateur puissant de la transcription de l'ARN-m et en ARN viral, en sa présence, les cellules infectées produisent 1000 fois plus d'ARN viraux.

Rev : permet l'exploration des ARN-m codant les protéines de structures et les enzymes virales.

Nef : caractéristique du VIH, fait disparaître le CD4 des cellules infectées

À l'extrémité de Pol : gène codant pour une protéase indispensable au clivage des produits de Gag

À chaque extrémité existence de LTR (long terminal repeat) quand le génome est intégré : régulation de l'expression des gènes [17].

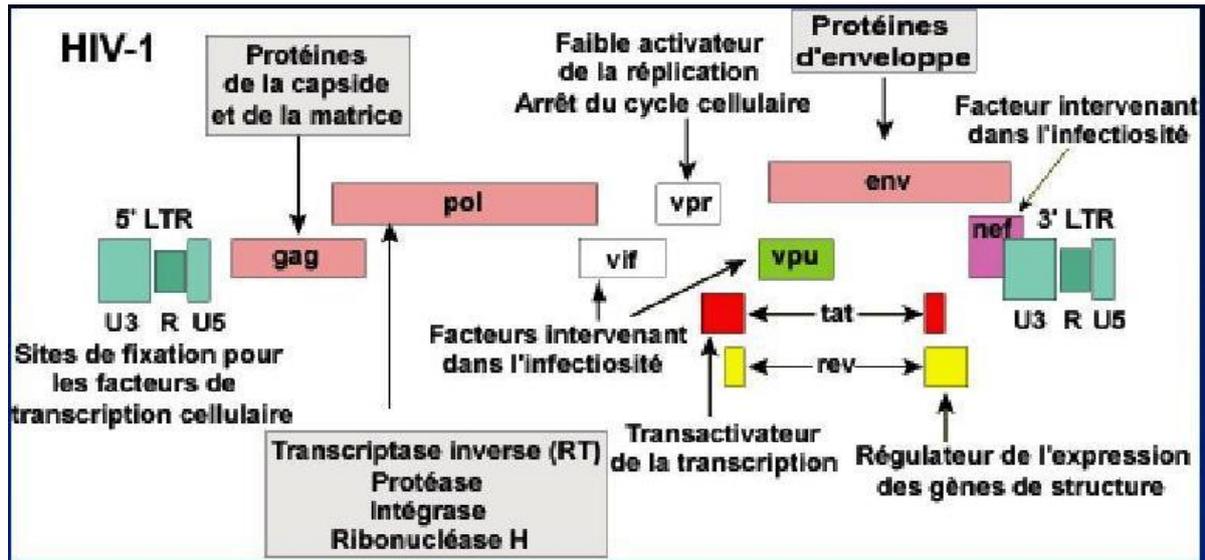


Figure 2 : Structure génomique de l'ADN proviral du VIH-1 ainsi que les gènes régulateurs et de la séquence LTR [18].

3.2.3. Propriété 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 % [19].

3.2.4. Cycle de réplication du VIH

Chaque virus possède des modes de réplication bien particulières, notamment selon qu'il s'agit d'un virus à ADN ou d'un virus à ARN. Cible 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 ce qu'il y a peu de temps, il était acquis que la transcriptase inverse de l'ARN virale n'avait lieu qu'après la décapsidation.

Or, de récentes études ont montré que cette étape pouvait avoir lieu également dans la capside, présente dans le cytoplasme [20].

L'ARN génomique y est ainsi rétro-transcrit en ADN par la transcriptase inverse (RT). 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 virale reste ensuite soit à l'état latent, soit transcrit en ARN par la machinerie cellulaire. Les ARN produits sont destinés à plusieurs étapes : certains serviront de matériels génétiques pour les nouveaux virions, d'autres seront traduits en poly-protéines en ayant subi une étape d'épissage au préalable ou non.

Les polys-protéines 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. Le précurseur gag et gag-Pol vont ensuite être clivé 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 empaqueté. Le virion ainsi formé après bourgeonnement dans un processus de maturation grâce à la protéase pour aboutir à un virus mature dont la capsid est définitivement assemblée [21].

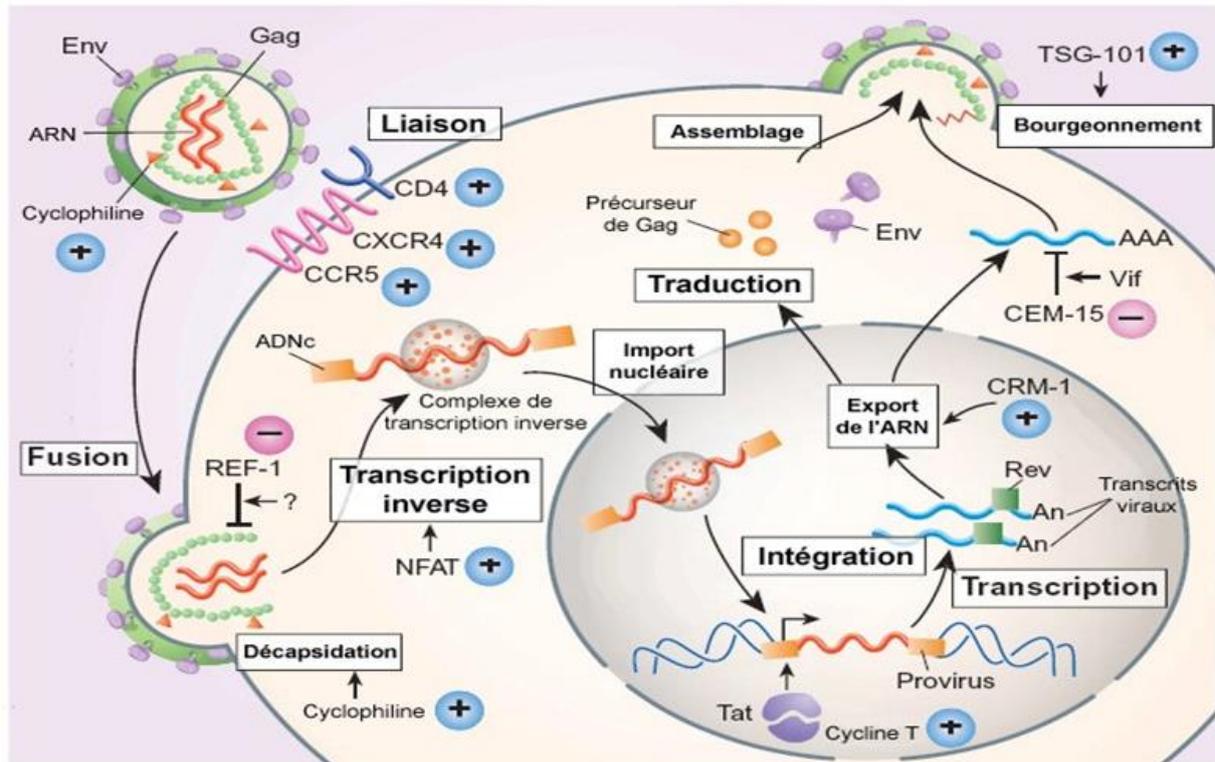


Figure 3 : Cycle de réplication du VIH-1[22].

3.2.5. Cellules cibles et réservoirs

Les cellules sensibles à l'infection du VIH-1 expriment la molécule CD4 à la surface de leur membrane. Ce récepteur a été identifié comme étant le récepteur principal du VIH-1 en 1984 (Klatzmann et al. 1984) mais il est apparu que cette molécule n'était pas suffisante à l'entrée du virus. Plus de 10 ans plus tard, les récepteurs aux chemokines CCR5 et CXCR4 ont été mis en évidence comme corécepteurs indispensables à l'entrée du VIH-1 dans les cellules (Doranz et al. 1997). C'est la découverte de ces corécepteurs et leur expression différentielle à la surface des cellules CD4+ qui a permis d'expliquer les différences de tropisme du VIH-1. Ainsi, les virus à tropisme macrophagique utilisent le corécepteur CCR5 et sont de tropisme R5 et les virus à tropisme lymphocytaire utilisent le corécepteur X4 et sont de tropisme X4. Les virus capables d'utiliser les deux corécepteurs sont de tropisme R5/X4. Parmi les cellules-cibles du VIH-1, on retrouve principalement les lymphocytes T CD4+ auxiliaires (ou helper) dans lesquels le VIH se multiplie très rapidement mais aussi les cellules présentatrices

d'antigène (CPA) porteuses du récepteur CD4, comme les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules de Langerhans ainsi que les cellules microgliales du cerveau. Dans la plupart de ces cellules présentatrices d'antigène, le VIH se réplique peu. Par contre, les lymphocytes T activés sont le siège d'une répllication virale intense [23].

3.2.6. Mode de transmission et évolution du virus

3.2.6.1. Mode de transmission

Le virus étant présent dans les liquides biologiques tels que le sang, le lait maternel, les sécrétions vaginales, le sperme, le liquide céphalorachidien sa transmission est dite interhumaine.

Le VIH ne peut pas se transmettre par la baignade, un baiser, une étreinte, un éternuement, la toux, une piqûre d'insecte, le partage d'un verre ou d'un vêtement, etc.

Les animaux, quels qu'ils soient, ne peuvent pas être porteurs du VIH et ne peuvent donc pas le transmettre, ni par morsure, ni par griffure.

Trois types de transmission sont les plus accentués qui sont :

- **Par voie sexuelle** : à l'occasion de rapports sexuels vaginaux ou anaux ou des contacts buccaux dentaires avec une personne infectée.
- **Par voie sanguine** : transfusion de sang contaminé, le partage d'aiguille, de seringue, d'objet pointus et ou en cas d'accident d'exposition au sang.
- **Par la transmission verticale** : de la mère à l'enfant pendant la grossesse, au moment de l'accouchement, de l'allaitement au sein en cas d'absence de traitement de la mère [24].

3.2.6.2. Évolution naturelle du virus

Le VIH (virus de l'immunodéficience humaine) infecte des cellules chargées de la défense immunitaire de l'organisme. Ces cellules se nomment les lymphocytes T CD4. En l'absence de traitement, cette infection évolue en 3 phases successives.

➤ La phase aiguë ou primo-infection (quelques semaines) :

Une fois entré dans l'organisme, le VIH infecte les lymphocytes T CD4 au sein desquels il se multiplie. Le taux de CD4 diminue transitoirement, tandis que la quantité de virus VIH dans le sang (charge virale) augmente.

Puis, les deux courbes s'inversent quand l'organisme commence à produire des anticorps contre le VIH et stabilise ainsi la charge virale du virus.

➤ La phase d'infection asymptomatique (plusieurs années)

Cette réponse (défense) immunitaire de l'organisme assure une maîtrise incomplète de la charge virale : la multiplication du VIH continue.

Cette phase, dite asymptomatique (sans symptôme), est un état d'équilibre entre le VIH, le système immunitaire et la production des lymphocytes T CD4 pour maintenir des CD4 normaux > 500 cellules / μ l.

La multiplication du VIH stimule une réponse immunitaire qui détruit les lymphocytes CD4 infectés. Le nombre total de lymphocytes T CD4 reste stable grâce à une augmentation de leur production.

Au fil des années (en moyenne 7 à 11 ans), le mécanisme de remplacement des lymphocytes T CD4 devient progressivement défaillant, soit à l'occasion d'une intensification de la multiplication virale, soit par épuisement de la production des CD4 : une infection opportuniste (signifiant le SIDA) survient, lorsque les lymphocytes T CD4 sont < 200 cellules / μ l.

➤ **Le SIDA, syndrome de l'immunodéficience acquise (quelques mois à peu d'années)**

Le SIDA correspond à une défaillance de l'immunité, au point de développer des infections à des agents infectieux de l'environnement (parasites, champignons, virus...) : ces infections sont dites opportunistes, car elles ne surviennent jamais chez une personne dont l'immunité est normale.

Le cumul de multiples infections opportunistes explique la survenue du décès [11].

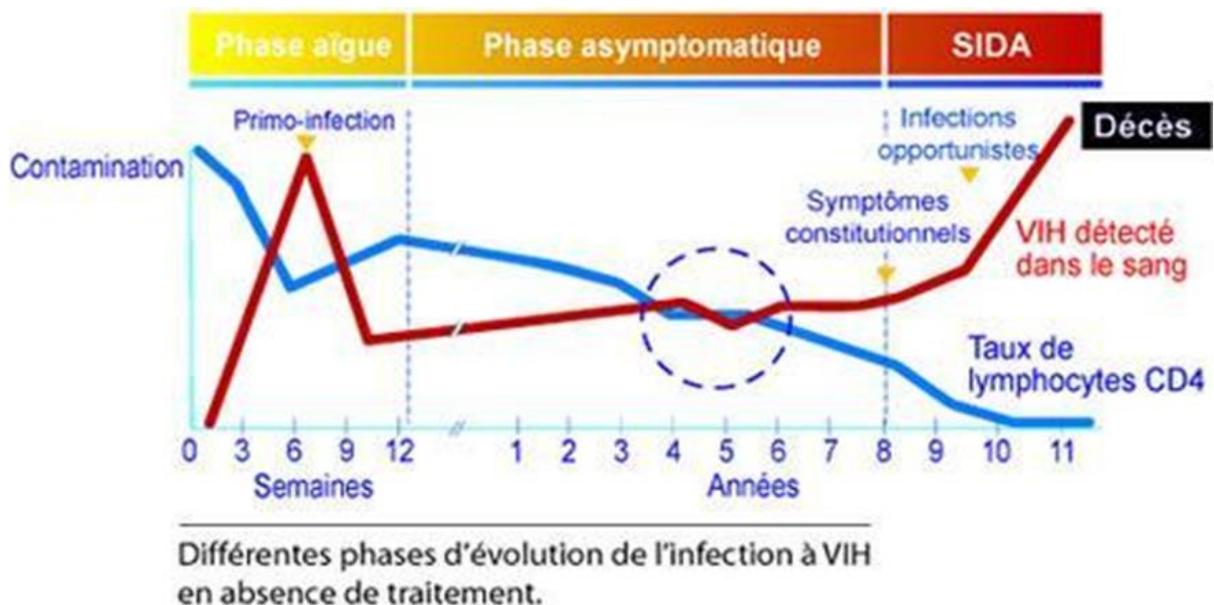


Figure 4 : Illustration de l'évolution de l'infection au VIH en l'absence de traitement [11].

3.2.7. Diversité génétique

Dès 1985, une variabilité génétique importante des VIH a été mise en évidence ; il n'existe pas deux virus identiques, même au sein d'un même individu. Cette diversité génétique, due :

- À la faible fiabilité de la TI ;

- Un haut niveau de réplication et ;
- Une importante recombinaison génétique.

Cette diversité peut avoir des conséquences sur la réponse aux traitements antirétroviraux.

Le VIH est divisé en deux « groupes », VIH-1 et VIH-2 qui proviennent de 2 événements de transmission inter espèces différents, issus respectivement du chimpanzé et du Sootey Mangabey. Les analyses phylogénétiques du VIH-1 à partir de différents isolats ont permis de le classer en 4 groupes génétiques M (main), O (outlier), N (non-M, non-O) et le dernier groupe P découvert récemment par l'équipe de Plantier [25].

La majorité des infections par le VIH est causée par le groupe M, les infections par les groupes N et O étant restreintes à l'Afrique centrale. Dans le groupe M, 9 sous-types sont reconnus et désignés par les lettres A-D, F-H, J et K, les variations génétiques entre les sous-types allant de 25 à 35% selon les sous-types et les régions du génome considérés [26].

Il existe également des variations au sein d'un sous-type, entre 15 et 20%, tels que le sous-type F, divisé en sous sous-types F1 et F2 et le sous-type A en A1, A2 et A3. Les analyses de tout le génome ont révélé l'existence de virus recombinants inter sous-types, issus de patients surinfectés ou coinfectés. Ces virus recombinants sont appelés CRFs (Circulating Recombinant Forms) lorsqu'ils ont été identifiés chez au moins 3 individus non liés épidémiologiquement et caractérisés sur tout le génome. Dans le cas contraire, ils sont appelés URFs (Unique Recombinant Forms), plus de 200 actuellement. [27]

Tandis que le VIH-2 est constitué des 9 sous-types génétiquement différents désigné par les lettres A, B...J.

Actuellement 97 CRFs ont été identifiés pour le VIH-1, les recombinants CRF01_AE et CRF02_AG jouant un rôle important dans les épidémies régionales. On note aussi un recombinant pour le VIH-2 qui a été découvert au Japon en 2010. [28]

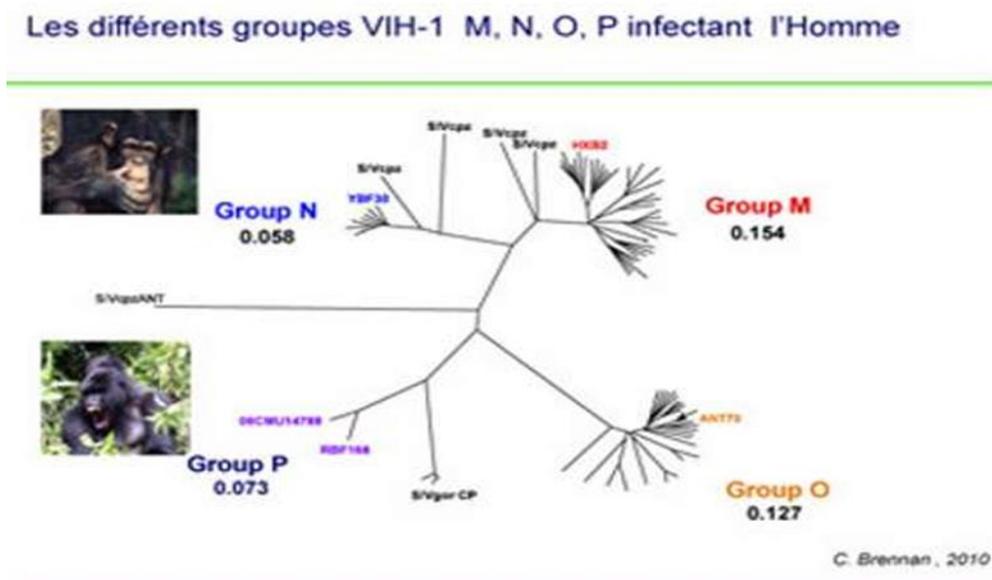


Figure 5 : Arbre phylogénétique du VIH-1 [28].

3.2.8. Épidémiologie

L'incidence de l'infection par le VIH

En 2017, 36,9 millions de personnes vivaient avec le VIH, 34,2 millions de personnes en 2011, un nombre-record qui s'explique par le net allongement de la vie résultant des traitements antirétroviraux, explique l'ONUSIDA. Environ 1,7 million de personnes sont décédées de causes liées au SIDA en 2011, soit une baisse de 24 % depuis le pic de 2005. La tuberculose reste la principale cause de décès chez les personnes vivantes avec le VIH.

Les nouvelles infections

2,5 millions de nouveaux cas dans le monde en 2011, en baissent de 20 % comparativement à dix ans auparavant. Chez les enfants de 15 ans et moins, 330 000 nouvelles infections ont été dénombrées l'an dernier, une diminution de 24 % sur 2009. Environ 1,5 million de personnes adultes ont été contaminées en Afrique subsaharienne en 2011, le nombre le plus faible depuis que la pandémie a atteint son pic en 1997 avec 2,2 millions de nouvelles infections.

Personnes sous traitements

Plus de 8 millions de personnes contaminées par le virus du sida prenaient des antirétroviraux fin 2011 dans les pays en développement, un nombre-record en hausse de 20 % sur 2010, selon le Rapport 2012 de l'ONUSIDA. Depuis 2004, le nombre de personnes séropositives disposant d'un tel traitement dans ces pays a été multiplié par 26. Cela a entraîné en 2011 une baisse de 24 % des décès. Selon le même source 54 % des quelque 15 millions de personnes ayant besoin d'antirétroviraux dans les pays pauvres et à revenus intermédiaires disposent désormais de ces traitements, Reste que derrière ces chiffres, on trouve une autre réalité : l'accès aux antirétroviraux n'est pas encore universel. Le directeur général de l'ONUSIDA a notamment cité la situation inquiétante en Asie, en Europe de l'Est et en Asie Centrale. "Nous devons de ce fait redoubler nos efforts", a-t-il insisté soulignant que ces "parties du monde voient grimper le nombre de décès et le nombre de nouvelles infections à un rythme très alarmant".

Les chiffres en Afrique subsaharienne

En 2011, 23,5 millions de personnes, dont 3,1 millions d'enfants, vivaient avec le VIH en Afrique subsaharienne. A elle seule, l'Afrique subsaharienne concentre plus de 80 % des personnes vivant avec le VIH et la tuberculose. Toujours selon la même source, on estime que durant 2011, 1,7 million de personnes ont été nouvellement infectées en Afrique subsaharienne. Dans cette région, près de 6,2 millions de personnes recevaient un traitement antirétroviral en 2011 alors qu'elles n'étaient que 100 000 en 2003. Plus de la moitié, 56 % des personnes éligibles pour un traitement en bénéficiaient en 2011. Plus de 80 % des médicaments sont importés.

Amérique latine : progrès et conservatisme

L'Amérique latine et les Caraïbes contrôlent l'épidémie de sida, mais une tendance au conservatisme, notamment religieux, menace les efforts pour prévenir la propagation du virus, a estimé l'ONUSIDA lors d'une conférence de presse au Brésil. En 2011, environ 1,6 million de personnes vivaient avec le VIH en Amérique latine (sur 600 millions d'habitants), dont 230 000 aux Caraïbes. "L'Amérique latine (et les Caraïbes) a relativement stabilisé l'épidémie et a progressé au niveau des traitements médicaux des malades". En 2011, environ 99 000 personnes ont contracté le virus dans l'ensemble de cette zone et 67 000 personnes en sont décédées. Dans cette zone 70 % des personnes malades a un accès aux traitements indique l'organisme onusien, ce qui a contribué à fortement réduire le nombre de décès. Malgré ces progrès, la région affronte "d'une façon générale une vague de conservatisme préoccupante", faisant que dans certains pays "il y a des restrictions à l'accès aux préservatifs, par exemple dans les écoles".

Nouvelles infections à VIH chez les enfants

En 2011, 57 % des femmes enceintes vivant avec le VIH dans les pays à revenus faibles ou intermédiaires, soit 1,5 million de personnes, recevaient des médicaments antirétroviraux efficaces pour éviter la transmission du virus à leur enfant. Cela représente une augmentation de près de 10 % en un an seulement. Près de 330 000 enfants ont été nouvellement infectés par le VIH en 2011. Cela représente une baisse de 24 % par rapport au nombre d'enfants nouvellement infectés en 2009. Environ 3,4 millions d'enfants de moins de 15 ans vivaient avec le VIH en 2011. En Afrique subsaharienne vivaient 91 % d'entre eux. Selon les estimations, 230 000 enfants sont décédés de maladies liées au sida en 2011. En décembre 2011, 562 000 enfants recevaient un traitement antirétroviral, alors qu'ils n'étaient que 456 000 en 2010. La couverture du traitement antirétroviral reste beaucoup plus faible chez les enfants que chez les adultes.

Jeunes

Environ 4,9 millions de jeunes (15 à 24 ans) vivaient avec le VIH en 2011. 75 % d'entre eux vivaient en Afrique subsaharienne. Près de 890 000 jeunes (15 à 24 ans) ont été nouvellement infectés par le VIH en 2011, soit 2 400 jeunes par jour. Seulement 24 % des jeunes femmes et 36 % des jeunes hommes répondaient correctement à cinq questions qui leur étaient posées concernant la prévention et la transmission du VIH, selon les enquêtes en population les plus récentes menées dans les pays à revenu faible ou intermédiaires.

Femmes et filles

Le VIH est la principale cause de décès des femmes en âge de procréer. Selon les estimations, 1,2 million de femmes et de filles ont été nouvellement infectées par le VIH en 2011. Environ 63 % des jeunes (15 à 24 ans) vivant avec le VIH sont des jeunes femmes. À l'échelle mondiale, les jeunes femmes de 15 à 24 ans sont les plus vulnérables à l'infection à VIH, avec des taux d'infection deux fois plus élevés que chez les hommes de la même classe d'âge.

Changements sociaux

En 2012, 80 % des pays avaient des lois générales anti discrimination et 62 % des pays indiquaient disposer d'une législation interdisant la discrimination à l'encontre des personnes vivantes avec le VIH. 78 % des pays indiquaient avoir des lois ou des politiques protégeant les femmes de la discrimination. 22 % des pays indiquaient avoir des lois protégeant les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes. 15 % des pays indiquaient avoir des lois protégeant les personnes transsexuelles de la discrimination.

En 2012, 46 pays, territoires et zones imposaient des restrictions à l'entrée, au séjour ou à la résidence des personnes vivant avec le VIH. Ces dernières années, plus de 100 pays ont poursuivi au pénal des citoyens qui n'avaient pas fait connaître leur statut VIH. Le réseau mondial des personnes vivant avec le VIH a identifié 600 condamnations de ce type, la plupart dans des pays à revenu élevé.

L'évolution de la séroprévalence chez les groupes à risque selon l'enquête ISBS 2012 montre une situation toujours préoccupante [4].

- Chez les professionnelles du sexe : 24,3%
- Chez les routiers : 2,7%
- Chez les « coxeurs » (revendeurs de billets qui accompagnent les routiers) : 3,5%
- Chez les vendeuses ambulantes : 3,7%
- Chez les aides familiales : 0,9%

Tableau I : La répartition du VIH au Mali dans le District de Bamako et quelques régions en 2012.

District et régions du Mali	Prévalence en %
Bamako	1,7
Ségou	1,2
Kayes	1,0
Koulikoro	1,0
Sikasso	0,8
Mopti	0,8

3.3. Classification de l'infection à VIH en stades clinique

Selon l'OMS [29]

❖ **Stade clinique I** : est caractérisé par

- Patients asymptomatiques
- Adénopathies persistantes généralisées
- Degré d'activité 1 : activité normale

❖ **Stade clinique II** : est caractérisé par

- Perte de poids < 10% du poids corporel
- Zona (au cours des cinq dernières années)
- Manifestations cutané-muqueuses mineures (prurigo, dermites séborrhéiques, chéilites angulaires, ulcérations buccales)

- Infections récidivantes des voies aériennes supérieures
- Degré d'activité 2 : patient symptomatique, activité normale
 - ❖ **Stade clinique III** : est caractérisé par
- Candidoses buccales
- Pertes de poids < 10% du poids corporel
- Diarrhées inexpliquées >1 mois
- Fièvre prolongée > 1 mois
- Tuberculose pulmonaire dans l'année précédente
- Infection bactérienne sévère
- Leucoplasie orale chevelue
- Degré d'activité 3 : patient alité moins de 50% du temps
 - ❖ **Stade clinique IV** : est caractérisé par
- Pneumocystose
- Cytomégalovirose
- Toxoplasmose cérébrale
- Syndrome catéchisant dû au VIH
- Cryptococcose extra pulmonaire
- Cryptosporidiose avec diarrhée > 1 mois
- Herpes virose cutanéomuqueuse > 1 mois ou viscérale
- Tuberculose extra pulmonaire
- Septicémie à salmonelle mineure
- Candidose œsophagienne, trachéale, bronchique ou pulmonaire
- Mycobactéries atypiques disséminées
- Lymphomes malins
- Sarcome de Kaposi
- Encéphalopathie à VIH
- Leucoencéphalite multifocale progressive
- Mycose endémique généralisée (histoplasmosse coccidioïdomycose)
- Degré d'activité 4 : patient alité plus de 50% du temps

Tableau II : la classification en stade clinique de l'infection à VIH selon CDC (centers for disease control and prevention) modifié en 1993 [30].

Nombres de lymphocytes TCD4+	(A) Ou stade 1 OMS Asymptomatique Primo-infection Lymphoadenopathie généralisée persistante	(B) ou stade 2/3 OMS symptomatique Sans critère (A)ou (C)	(C) ou stade 4 OMS SIDA
≤ 350 cellules /μl	A1	B1	C1
350-500 cellules /μl	A2	B2	C2
> 500 cellules /μl	A3	B3	C3

3.4. 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, le sous-type A et le D, le sous-type CRF02_AG, le sous-type B.

Le sous-type C responsable de 50 % des infections principalement en Afrique de l'Est, en Asie, le sous-type A et le D en Afrique de l'Est, le sous-type CRF02_AG en Afrique de l'ouest et le sous-type B aux États 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 très grande majorité des infections à VIH-1 groupe O est retrouvée en Afrique de l'Ouest et, plus particulièrement, au Cameroun où différentes études montrent la présence de 3,4 % des patients infectés par le virus du groupe O, soit une prévalence de 0,5 % dans la population générale. Des études récentes ont démontré 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 existant 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, Côte d'Ivoire, Burkina Faso, 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 [31].

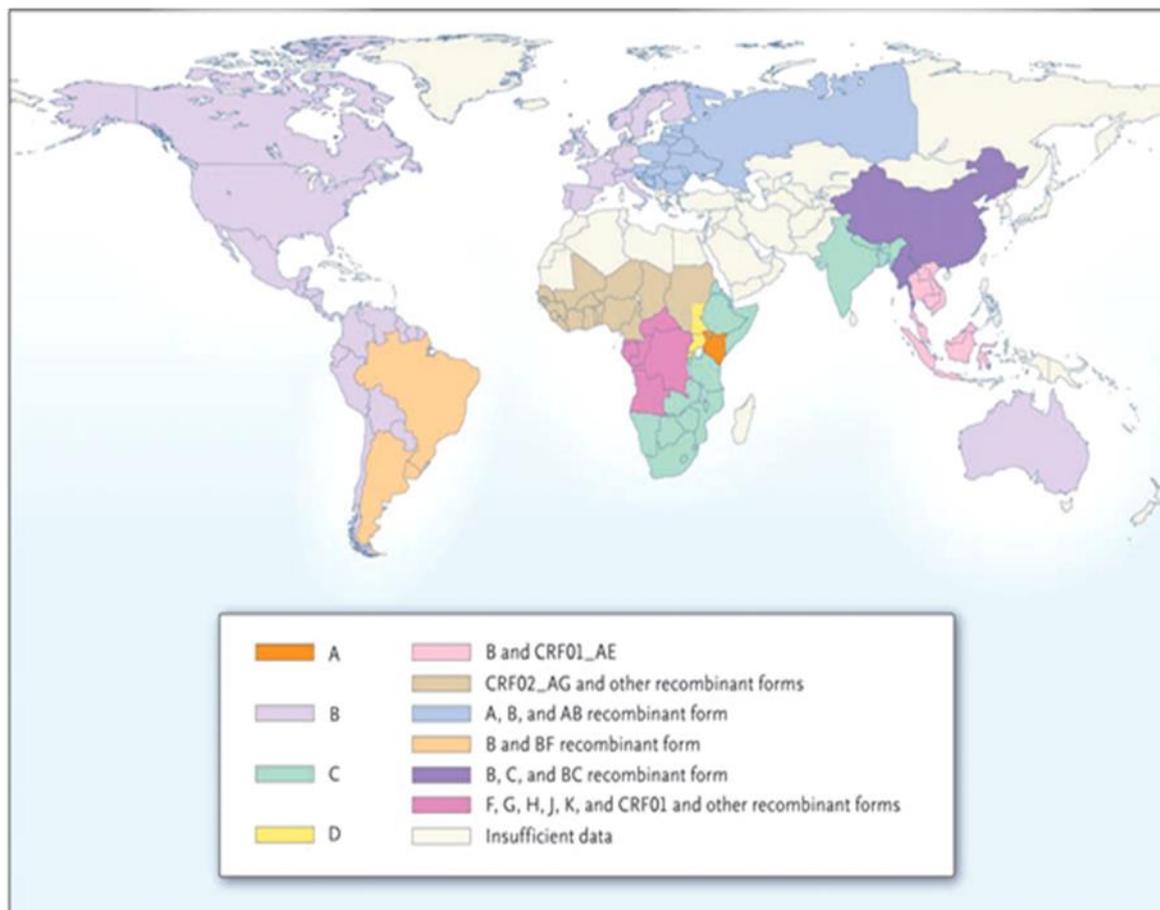


Figure 6 : Distributions géographiques des VIH-1 dans le monde les sous-types les plus fréquents de façon décroissante sont C, A, B, CRF02_AG et CRF01_AE [31].

3.5. Diagnostic au laboratoire

Le diagnostic de l'infection à VIH est fondé sur une méthode sérologique indirecte c'est-à-dire sur la détection des anticorps et reste dans la majorité des cas l'approche diagnostic la plus pertinente et la plus accessible. La mise en évidence du virus par la méthode directe se fait par extraction et RT-PCR de l'ARN viral plasmatique.

3.5.1. Diagnostic indirect

➤ Dépistage

Les tests de dépistage de l'infection par VIH reposent, d'une part, sur la mise en évidence des anticorps anti VIH-1 et VIH-2 par méthode immuno-enzymatique du type ELISA ou par test rapide (pour la plupart) et d'autre part, sur la mise en évidence couplée des anticorps anti VIH-1 et VIH-2 et l'antigène p24 du VIH-1 grâce aux trousse ELISA dites « combinées ». Si le sérum et le plasma restent les liquides biologiques utilisés en priorité pour des questions de qualité, d'autres matrices biologiques telles que le sang total capillaire, les urines ou la salive ont été proposées.

Au Mali, la dernière recommandation du ministère en charge de la santé à travers la Cellule sectorielle de Lutte contre le Sida préconise l'utilisation du ALERE HIV puis le SD Bioline HIV en cas de positivité du premier et le First Response HIV en cas de discordance entre les deux premiers. Cet algorithme est en cours de révision à cause de nombreux problèmes rencontrés sur le terrain.

➤ **Confirmation**

La technique de référence utilisée pour des tests sérologiques de confirmation est le Western-blot, où les protéines virales sont séparées par électrophorèse avant d'être transférées sur une membrane de nitrocellulose. La présence d'anticorps contre une protéine donnée est révélée par une réaction immuno-enzymatique qui matérialise la position de la protéine sous la forme d'une bande colorée [32].

3.5.2. Diagnostic direct

Il repose sur plusieurs techniques toutes réalisées à partir d'un simple prélèvement sanguin qu'il convient de répéter. La PCR-RNA plasmatique met en évidence le génome du virus dans le plasma par RT-PCR. C'est la « charge virale », réalisée également dans le suivi des adultes infectés. Le DNA proviral recherche le provirus intégré dans les cellules mononuclées réceptives (CD4 essentiellement).

La « Polymerase Chain Réaction (PCR) » ou Réaction de Polymérisation en Chaîne : Mise au point en 1983 par Karry Mullis, la PCR est une technique de biologie moléculaire qui permet de repérer un fragment d'ADN ou de gène précise, même présent en quantité infime dans un mélange, puis de l'amplifier exponentiellement. Les réactifs nécessaires à la réalisation d'une réaction de PCR sont :

- L'ADN généralement sous forme de double brin contenant le fragment à amplifier;
- Deux amorces sens et anti-sens qui sont de petits brins d'ADN (d'environ 20 bases) appelés oligonucléotides. Ils sont capables de s'hybrider de façon spécifique, grâce à la complémentarité des bases sur le brin d'ADN ou sur son brin complémentaire ;
- Une enzyme de l'ADN Polymérase qui est thermorésistante extraite de la bactérie *Thermus aquaticus (Taq)* ;
- La température optimale d'action de la Taq est de 72°C et elle est capable de résister à des passages successifs à 95°C, ce qui permet l'automatisation de la procédure ;
- Quatre nucléotides : dGTP, dATP, dTTP, dCTP, appelés globalement dNTPs qui sont des éléments de base utilisés par la Taq polymérase pour synthétiser les brins d'ADN complémentaires ;
- Le MnCl₂ ou MgCl₂ permet une meilleure dissociation de l'ADN double brin et fidélise l'action de la polymérase.

3.5.2.1. Polymerase Chain Reaction (PCR) ou Réaction de Polymérisation en Chaîne

➤ Principe de la PCR [33]

La PCR est basée sur la capacité de l'ADN polymérase à synthétiser le brin complémentaire d'un ADN servant de matrice. Pour initier le processus, un segment d'acide nucléique doit s'y associer afin de servir d'amorce. Cette amorce (ou primer), de séquence complémentaire à celle du brin à amplifier, est un oligonucléotide synthétique d'une longueur de 17 à 30 bases. Son association à l'ADN aboutissant ainsi à la synthèse d'un ADN double brin. La PCR consiste en une succession cyclique de trois étapes. Le milieu tamponné comprend tous les éléments indispensables : les précurseurs tri-nucléotidiques (d'ATP, d'CTP, d'TTP, d'GTP), le cation Mg^{++} indispensable au bon fonctionnement de l'enzyme et à l'incorporation correcte des précurseurs, l'ADN polymérase et les amorces. À ce milieu, est ajouté l'ADN extrait du milieu biologique à étudier.

➤ Réaction de PCR [33]

Une réaction de PCR correspond à la succession d'une trentaine de cycles comportant chacun 3 étapes :

- Dénaturation de l'ADN (94-95°) : les doubles brins d'ADN se séparent ;
- Hybridation ou anelage des amorces (55-57°) : les amorces reconnaissent leur séquence complémentaire et s'hybrident chacune sur leurs brins respectifs ;
- Elongation ou extension des amorces (72°) : la Taq Polymérase permet d'ajouter des nucléotides aux amorces hybridées, dans le sens 5'- 3'.

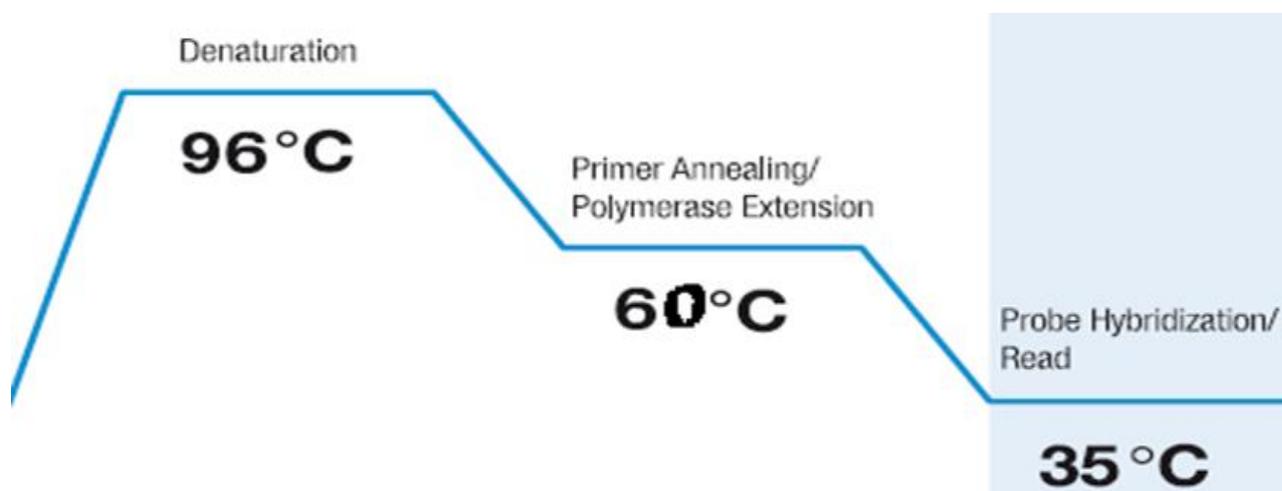


Figure 7 : Courbe de température par cycle pendant la PCR [33].

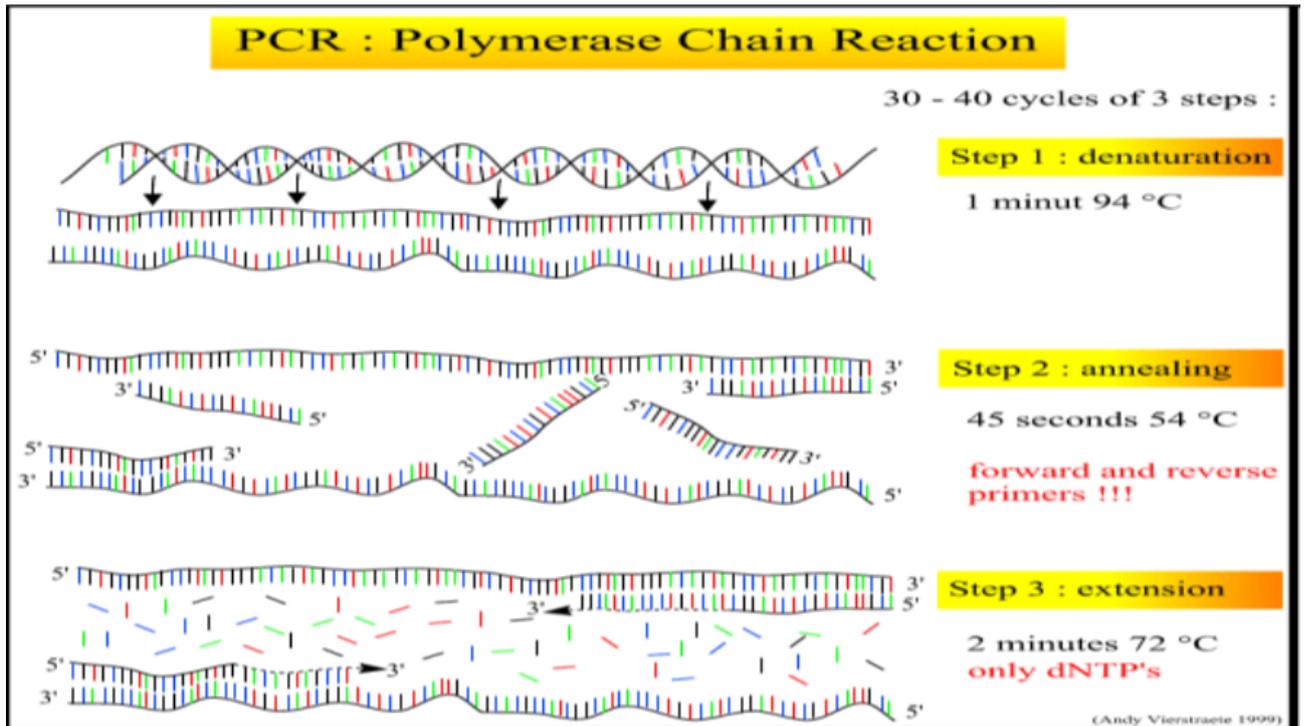


Figure 8 : Représentation schématique des (03) étapes de la PCR. [33].

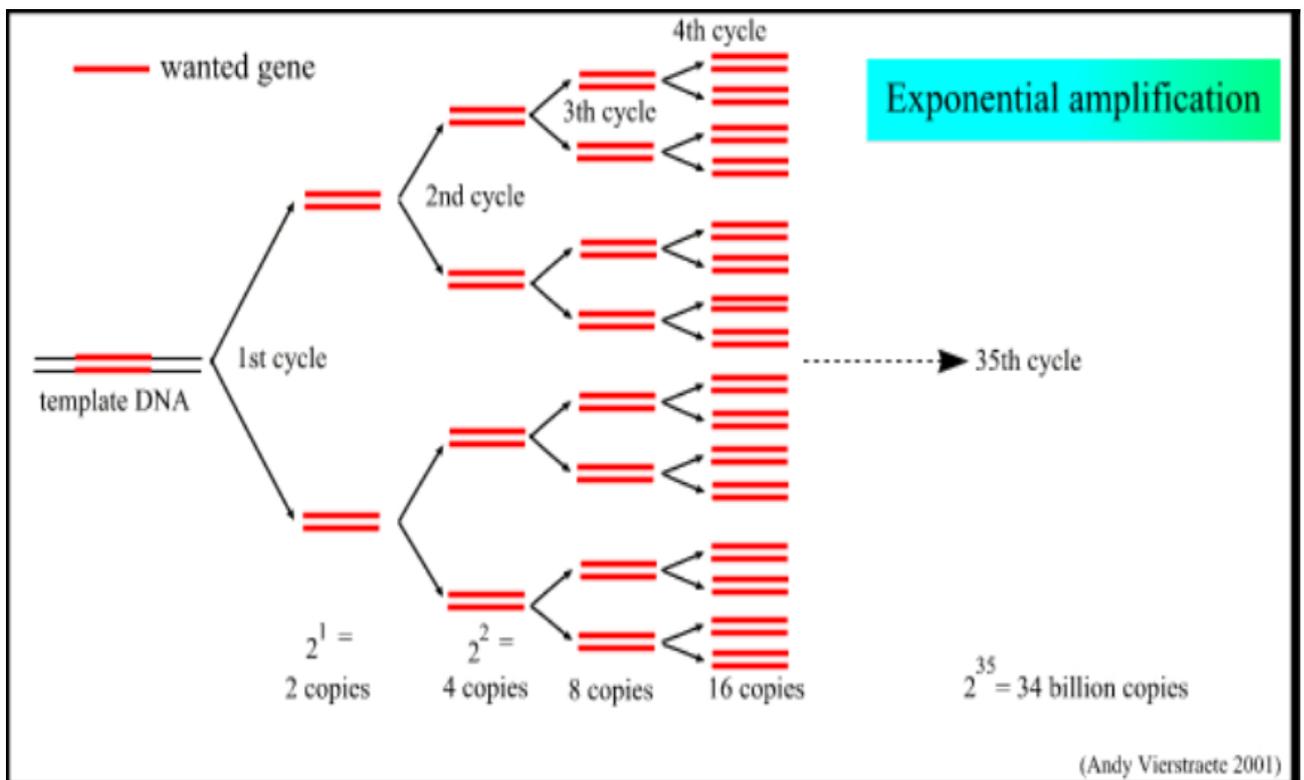


Figure 9 : Amplification exponentiel : nombre de copies par cycle pour 35 cycles [33].

3.5.2.2. RT – PCR

La PCR est une technique qui amplifie de l'ADN. Par conséquent, pour étudier l'ARN par PCR, il faut passer par une étape intermédiaire, la transcription inverse ou reverse transcription (RT), qui transforme l'ARN en son ADN complémentaire (ADNc). On peut alors réaliser une PCR. Une enzyme, la transcriptase inverse, qui est une ADN polymérase ARN-dépendante, transforme l'ARN en son ADNc. Cet ADNc pourra être amplifié par la technique de PCR déjà décrite. Pour agir, cette enzyme a besoin, de la même manière que l'ADN polymérase, d'une amorce [34].

Le domaine d'application de la RT-PCR pour le diagnostic clinique comprend l'étude de la charge virale des virus à ARN, l'analyse du produit de l'expression des gènes [35].

3.6. Traitement ARV

Actuellement les antirétroviraux sont des molécules virostatiques, agissant au niveau des trois enzymes indispensables à la réplication virale et à l'entrée du virus dans la cellule.

En 1996 arrive le concept de trithérapie, avec la disponibilité de nouvelles molécules antirétrovirales telles que les inhibiteurs de la protéase, montrant une réduction significative de la mortalité liée au sida. En effet, l'objectif principal du traitement antirétroviral est d'empêcher la progression vers le SIDA en restaurant le nombre de lymphocytes T CD4⁺ ; il doit rendre la charge virale plasmatique indétectable permettant une meilleure restauration du système immunitaire [18].

3.6.1. Objectifs du traitement

L'objectif principal du traitement antirétroviral (TARV), quelle que soit la situation (première ligne, lignes ultérieures, y compris après multi échec) est l'obtention et le maintien d'une charge virale plasmatique < 50 copies/ml permettant d'empêcher la progression vers le SIDA et de restaurer un nombre de lymphocytes CD4 > 500 cellules/ μ l. Le maintien d'une charge virale < 50 copies/ml permet une meilleure restauration immunitaire et limite au maximum le risque d'échec thérapeutique. Si l'efficacité immuno virologique du traitement est essentielle, d'autres objectifs doivent être recherchés simultanément :

- La meilleure tolérance possible, à court, moyen et long terme ;
- L'amélioration ou la préservation de la qualité de vie ;
- La réduction de la transmission mère-enfant du VIH [18].

La mise en route précoce du traitement ARV est associée à des avantages cliniques et à des avantages en matière de prévention de l'infection à VIH, car elle améliore la survie et diminue l'incidence de l'infection à VIH au niveau de la communauté [36].

3.6.2. Obstacles

Les avancées thérapeutiques ne doivent pas, cependant, laisser place aux triomphalismes car les raisons suivantes peuvent constituer des obstacles :

- Une minorité de patients infectés par le VIH dans le monde entier a accès aux antirétroviraux. En Afrique subsaharienne, seulement 30% des personnes ayant besoin d'ARV en bénéficient réellement.
- Les difficultés d'accès aux soins (précarité sociale, désorganisation des structures sanitaires, contexte psychologique...), concernent un nombre significatif de patients,
- Les contraintes de traitement au long cours sont réelles,
- Les phénomènes de résistance acquit aux antirétroviraux actuellement disponibles surviennent chez un nombre croissant de patients,
- Les complications métaboliques (syndrome lipo-dystrophique, anomalies glucidolipidiques) laissent présager une incidence accrue de complications vasculaires à moyen ou à long terme [37].

3.6.3. Les différentes classes thérapeutiques :

Plus d'une vingtaine de molécules ARV sont disponibles de nos jours répartis en 6 classes thérapeutiques.

➤ **Les inhibiteurs de la transcriptase inverse :**

• Les inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques (INTI) :

Les INTI (ou NRTI pour Nucléoside Reverse Transcriptase Inhibitor) sont des médicaments qui doivent être tri-phosphorylés dans la cellule pour être actifs. Ils subissent une activation en nucléoside triphosphate par les kinases cellulaires. Les formes triphosphates (et di-phosphate pour le ténofovir) possèdent une forte affinité pour la transcriptase inverse du virus VIH-1 et entrent en compétition avec les désoxy-nucléosides triphosphates naturels. Ils sont donc incorporés préférentiellement dans la chaîne de l'ADN en croissance causant une terminaison précoce de celle-ci (en raison du manque de 3'-hydroxyl pour former le lien phosphodiester entre nucléotides). Le groupe -OH 3' libre est nécessaire pour former une liaison avec le prochain nucléotide de la chaîne nucléotidique en formation. Une fois phosphorylées, ces analogues trompent la transcriptase inverse en la faisant incorporer dans la chaîne de nucléotides en formation où ils servent de terminateur de chaîne [38].

Les analogues nucléotidiques sont à des degrés divers, des inhibiteurs de l'ADN polymérase mitochondriale. D'où une toxicité mitochondriale mise en évidence dès les phases précliniques de leur développement. Cette toxicité a une expression clinique et biologique au niveau de plusieurs organes, se traduisant par des myopathies, des lipoatrophies, des neuropathies périphériques, des pancréatites, voire des défaillances poly-viscérales par acidose lactique, parfois fatales. Des rares cas de mitochondriopathies sévères ont été observés chez les enfants exposés aux antirétroviraux pendant la grossesse [39].

- **Les inhibiteurs non nucléosidiques ou non nucléotidiques (INNTI) :**

Ce sont des composés de structure chimique complètement différente de celles des nucléosides normaux. Ce sont des inhibiteurs non compétitifs allostériques. Les INNTI occupent une poche hydrophobe voisine du site ADN-polymérase. Leur complexation modifie la géométrie de l'enzyme, ce qui diminue considérablement son efficacité catalytique. Cela provoque un changement de conformation du site actif en déplaçant les résidus d'aspartate catalytiques (en relation avec le site de liaison) de la polymérase de telle façon qu'il ne peut plus se lier à un substrat nucléotide, rendant ainsi l'enzyme inactive [40].

Contrairement aux INTI, les INNTI n'ont pas besoin d'une activation cellulaire puisqu'ils n'ont pas besoin de phosphorylation pour être actifs. Par conséquent, ces molécules ont un potentiel plus élevé que les INTI et inhibent la transcriptase inverse du VIH-1 de façon irréversible mais pas celle du VIH-1 du groupe O et du VIH-2.

- **Les inhibiteurs de la protéase**

Les inhibiteurs de la protéase (IP ou PI pour Protéase Inhibitor) bloquent la phase tardive de la maturation virale. La protéase du VIH clive les polypeptides précurseurs, produits des gènes gag et Pol codant les protéines de structure et les enzymes du virion. Les virions produits sous IP sont immatures et incapables d'infecter de nouvelles cellules. Métabolisés par le cytochrome P450, les IP font l'objet d'interactions avec d'autres médicaments utilisant les mêmes voies métaboliques. Certains de ses autres médicaments sont contre-indiqués avec les IP, d'autres imposent des ajustements de doses. Les associations de deux IP et d'INNTI peuvent également nécessiter de tels ajustements. L'utilisation des IP est associée, à des degrés divers à une redistribution des graisses, à des troubles de la glycorégulation et à des hyperlipidémies [40].

- **Les inhibiteurs d'entrée (Enfuvirtide)**

Les inhibiteurs d'entrée sont des molécules qui agissent de façon extracellulaire. Par conséquent ils n'ont pas besoin de traverser la membrane cellulaire et moins d'activation intracellulaire.

- **Les inhibiteurs d'attachement**

Après la fixation du VIH sur le récepteur CD4, des interactions ont lieu entre le virus et des corécepteurs protéiques, faisant partie de la famille de chemokines, en particulier le CCR5 et le CXCR4 [41].

Les antagonistes du CCR5 (Maraviroc®) sont de petites molécules qui se fixent de façons non compétitives sur la partie transmembranaire du corécepteur et induisent alors une modification des domaines extracellulaires du corécepteur qui empêche la fixation de la gp120 [33].

➤ **Les inhibiteurs de la fusion**

Le seul inhibiteur de fusion actuellement disponible est un polypeptide, devant donc être injecté, dont la séquence correspond à une région de la gp41 (HR2, heptad repeat region). Il se lie de façon spécifique à l'ecto-domaine (domaine HR1) de la protéine gp41, au moment où celle-ci est découverte par la liaison de gp120 au récepteur CD4 et aux récepteurs des chemokines. Les inhibiteurs de fusion empêchent le changement de conformation de gp41 qui mènerait à la fusion des membranes du virus et de la cellule-hôte. En fait, ils seraient liés à gp41 sous sa conformation de « repos » et l'empêcheraient ainsi d'adopter une conformation en épingle à cheveux favorables à la fusion [42].

➤ **Les inhibiteurs de l'intégrase**

L'intégrase est une enzyme nécessaire à la catalyse de l'étape d'insertion et de transfert de l'ADN viral dans le génome de la cellule hôte. Cette étape d'intégration est fondamentale pour le maintien et la stabilité du génome viral, ainsi que pour une expression optimale des gènes viraux. Les inhibiteurs de l'intégrase constituent une nouvelle classe d'agents antirétroviraux qui bloquent l'activité de l'intégrase du VIH-1 [43].

Les inhibiteurs de l'intégrase sont actifs sur les virus résistant aux inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase inverse (INTI), aux inhibiteurs non nucléotidiques de la transcriptase inverse (INNTI), aux inhibiteurs de la protéase (IP) et aux inhibiteurs d'entrée. Les inhibiteurs d'intégrase disponibles ou en développement empêchent le transfert de brins. L'ADN non intégré est ensuite dégradé.

Tableau III : liste des molécules ARV commercialisées [44].

Dénomination commune internationale (DCI)	Abréviation	Nom commerciale	Autorisation de mise sur le marché
Inhibiteurs Nucléosidiques de la transcriptase Inverse			
Zidovudine	AZT	Retrovir®	1987
Stavudine	D4T	Zerit®	1996
Lamivudine	3TC	Epivir®	1996
Didanosine	ddI	Videx®	1992
Abacavir	ABC	Ziagen®	1999
Emtricitabine	FTC	Emtriva®	2003
Tenofovirafamide	TAF	TAF®	2015
Inhibiteur Nucléotidique de la transcriptase Inverse			
Tenofovir	TDF	Viread®	2002
Inhibiteurs Non Nucléotidiques de la Transcriptase Inverse			
Nevirapine	NVP	Viramune®	1998
Efavirenz	EFV	Sustiva®	1999
Etravirine	ETV	Entelence®	2008
Rilpivirine	RPV	Edurant®	2011

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Combinaisons d'inhibiteurs de la Transcriptase Inverse			
Zidovudine/Lamivudine	AZT/3TC	Combivir®	1998
Tenofovir/Emtricitabine	TDF/FTC	Truvada®	2005
Stavudine/Lamivudine/Nevirapine	D4T/3TC/ NVP	Triomine®	2001
Abacavir/Lamivudine	ABC/3TC	Kivexa®	2004
Abacavir/Lamivudine/Dolutegravir	ABC/3TC/ DGT	Triumeq®	2015
Zidovudine/lamivudine/Abacavir	AZT/3TC/ ABC	Trizivir®	2000
Tenofovir/Emtricitabine/Elvitegravir	TDF/FTC/ EVG	Stribild®	2013
Elvitegravir/cobisistat	COBI		
Tenofovir/Emtricitabine/Efavirenz	TDF/FTC/ EFV	Atripla®	2007
Emtricitabine/Rilpivirine/Tenofovir	FTC/RPV/ TDF	Eviplera®	2011
Inhibiteurs de la protéase			
Indinavir	IDV	Crixivan®	1996
Ritonavir	RTV	Norvir®	1996
Nelfinavir	NFV	Viracept®	1998
Fosamprenavir	FOS APV	Telzir®	2004
Saquinavir	SQV	Invirase®	1996
Atazanavir	ATV	Reyataz®	2004
Lopinavir/Ritonavir	LPV/r	Kaletra®	2001
Tripiranavir	TPV	Aptivus®	2005
Darunavir	DRV	Prezista®	2008
Inhibiteurs d'entrée			
Emfuvirtide	T20	Fuzeon®	2003
Maraviroc	MRV	Celsenti®	2008
Inhibiteurs d'intégrase			
Elvitegravir	EVG	Stribild®	2013
Raltegravir	RAL	Isentress®	2008
Dolutegravir	DTG	Trivicay®	2014

3.6.4. Molécules antirétrovirales de 2015

Parmi les approches thérapeutiques innovantes figure le développement par BMS du 1er inhibiteur d'attachement BMS-663068. Son métabolite actif, le composé BMS-626529, se lie au gp 120 virale et inhibe l'attachement du virus au récepteur principal CD4. Le CRF01_AE et le VIH-2 sont des résistants naturels à cette molécule [40].

Le ténofovirafamide (TAF), tenofovir de deuxième génération est une version améliorée du ténofovir disoproxil (TDF) actuellement commercialisé. Le TAF permet de réduire de 90% le taux plasmatique du TDF et donc sans toxicité sans affecter son efficacité [45].

Cénicriviroc est un potentiel inhibiteur des corécepteurs CCR5 et CCR2 et bloque ainsi l'entrée du VIH-1 dans les cellules-cibles présentant ces récepteurs [46].

L'albuvirtide modifie le récepteur cellulaire du virus et peut conjuguer ce dernier de façon irréversible [47].

3.6.5. Les stratégies de traitements anti rétroviraux

La mise en route précoce du traitement est associée à des avantages cliniques et à des avantages en matière de prévention de l'infection à VIH, car elle améliore la survie et diminue l'incidence de l'infection à VIH au niveau de la communauté.

Le groupe d'élaboration des lignes directrices de 2013 recommande que les programmes nationaux de lutte contre le VIH fournissent un TARV à toute personne pour qui le diagnostic d'infection à VIH est confirmé et chez qui le nombre de CD4 est inférieur ou égal à 500 cellules/ μ l, avec mise en route du traitement antirétroviral (TAR) en priorité chez les personnes présentant une infection à VIH sévère ou à un stade avancé ou un nombre de CD4 \leq 350 cellules/ μ l.

Il est également recommandé de commencer un TARV quel que soit le nombre de CD4 chez les personnes présentant une tuberculose active ou une coinfection par le virus de l'hépatite B (VHB) avec une pathologie hépatique sévère, chez toute femme vivante avec le VIH enceinte ou allaitant au sein, chez tout enfant âgé de moins de 5 ans vivant avec le VIH et chez toute personne vivant avec le VIH dans un couple séro discordant [36].

3.6.6. Schémas thérapeutiques :

Le schéma thérapeutique préconisé par l'OMS en première intention est l'utilisation de (02) INTI+ (01) INNTI ou (02) INTI+ (01) IP/r (/r = booster par le ritonavir) avec l'usage de molécules moins toxiques et de combinaisons de thérapie antirétrovirale de dose fixe. Au Mali, les régimes préférentiels de 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 :

(02) INTI+ (01) INNTI

Les régimes préférentiels de la première ligne :

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)

Ténofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) ou Emtricitabine (FTC) + Névirapine (NVP)

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

L'OMS recommande de substituer la stavudine (**d4T**) par des **INTI** en raison de sa toxicité mitochondriale, sa neuropathie périphérique. Les patients **VIH-1** du groupe **O** chez lesquels les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse ne sont pas efficaces, utiliser des schémas thérapeutiques associant des inhibiteurs nucléotidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse à un inhibiteur de protéase boosté (**IP/r**) ou (**03**) **INTI**.

Les associations suivantes sont à proscrire :

- **TDF + 3TC+ ABC/ TDF + 3TC + ddI (Didanosine) / TDF + ddI + INNTI** en raison de la fréquence élevée des échecs virologiques précoces et de la toxicité pancréatique.
- **TDF + ddI** en raison de sa moindre efficacité, de ses interactions, toxicité augmentée du ddI et baisse des lymphocytes T CD4.
- **ABC (Abacavir) + ddI** en raison des risques d'accidents cardiovasculaires (Infarctus du myocarde).

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**) doivent 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 suivante est recommandé :

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

Les IP préférentiels sont :

Lopinavir/r (LPV/r) et Atazanavir (ATV/r).

Tableau IV : les alternatives de seconde lignes possibles en fonction des schémas utilisés en première ligne et en cas de contre-indication ou de toxicité de l'une des molécules du schéma préférentiel [4].

Schéma 1ère ligne	Schéma 2ème ligne	
	INTI	IP
(AZT ou d4T*) + (3TC ou FTC) + (EFV ou NVP)	3TC + ddI ou ABC + TDF ou TDF + 3TC ± (AZT)	+ LPV/r ou IDV/r ou ATV/r ou SQV/r
TDF + (3TC ou FTC) + (EFV ou NVP)	AZT ou ddI + 3TC	
ABC + (3TC ou FTC) + (EFV ou NVP)	ddI + 3TC ± (AZT) ou TDF + 3TC ± (AZT)	
(AZT ou d4T) + (3TC ou FTC) + (ABC ou TDF)	EFV ou NVP + ddI	

Pour les malades traités encore par d4T : retirer progressivement cette molécule conformément au plan de retrait de 2004 [48].

Schémas de 3ème ligne :[4]

Les patients en échec virologique de 2ème ligne doivent être gérés en fonction du résultat du test de génotype de résistance.

Choix des combinaisons de molécules :

Darunavir + Etravirine + Raltégravir

Darunavir + Lamivudine + Raltégravir

Etravirine + Lamivudine + Raltégravir

Prise en charge des patients infectés par le VIH-2 ou coinfection VIH-1 et VIH-2 (ou patients infectés par le VIH-1 du groupe O)

Le choix thérapeutique doit exclure les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse qui ne sont pas efficaces sur le VIH-2 ou sur le VIH-1 du groupe O.

On utilisera les schémas thérapeutiques associant des inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse à un inhibiteur de protéase boosté (IP/r) ou 3 INTI.

Le traitement préférentiel de première ligne est le suivant:

Tenofovir (TDF) + Lamivudine (3TC) + Lopinavir / Ritonavir (LPV/r)

Les alternatives thérapeutiques en cas de toxicité, d'intolérance ou d'interaction médicamenteuse sont les suivantes:

Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + ATV/r ou

Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + ATV/r) ou

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

Régimes thérapeutiques

Les principes du traitement antirétroviral de l'enfant sont identiques à ceux du traitement de l'adulte avec cependant quelques particularités:

- L'éducation thérapeutique de ceux qui ont la charge de l'enfant, garante de la bonne observance, est primordiale.
- Les posologies doivent être ajustées en permanence en fonction de l'évolution pondérale des enfants.
- Certaines molécules n'ont pas de formes galéniques adaptées à l'usage pédiatrique.

Régimes thérapeutiques de première ligne

Enfants âgés de 3 ans à 10 ans et les adolescents de moins de 35 Kg

L'option thérapeutique préférée en première ligne est une trithérapie associant deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) à un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse (INNTI).

Le schéma préférentiel en première ligne :

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

Les régimes alternatifs suivants sont possibles:

Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)

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

Zidovudine (AZT) + Lamivudine (3TC) + Efavirenz (EFV)
--

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

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

Enfants de moins de 3 ans

Le régime préférentiel est une trithérapie comprenant : 2 INTI + 1IP

Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + Kaletra (LPV/r)
--

Le régime alternatif sera 2INTI + 1INNTI :

Abacavir (ABC) + Lamivudine (3TC) + Névirapine (NVP)

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

En cas de contre-indication ou de toxicité à une molécule du schéma préférentiel de première ligne, on substituera la molécule incriminée par une autre molécule.

3.6.7. Suivi biologique

Le suivi biologique est un des éléments essentiels de la prise en charge du patient infecté par le VIH. Au fil des années, il est devenu de plus en plus précis, et performant avec la mesure de la charge virale, la détermination des sous-types du VIH-1, la détection des résistances aux traitements et les dosages pharmacologiques. Il contribue à optimiser les traitements et à améliorer la survie des patients, qui ne diffère plus de celle de la population générale pour les patients qui sont en succès thérapeutique avec des CD4 supérieurs à 500 cellules/ μ l.

Il permet de :

- Débuter la prévention de certaines infections opportunistes lorsque c'est nécessaire ;
- Vérifier l'efficacité (grâce à la mesure de la charge virale VIH et des CD4) et la tolérance (paramètre biologique et hématologique) du traitement,
- Adapter au mieux le traitement antirétroviral (détermination du sous-type viral et recherche systématique de résistance),
- Analyser les causes d'un éventuel échec thérapeutique (dosage des antirétroviraux et tests de résistance) [49].

À côté du suivi biologique, existe aussi le suivi immunologique et le suivi virologique. Le suivi immunologique (nombre de CD4) n'est recommandé que, lorsque le suivi de la charge virale (suivi virologique) n'est pas disponible ; et il présente des avantages en matières de mortalité et de morbidité [50].

3.6.7.1. Suivi Virologique

➤ Charge virale

La mesure de la charge virale n'est pas nécessaire pour poser l'indication de la mise sous traitement antirétroviral mais si les moyens existent, il est important de l'avoir avant la mise sous traitement ARV pour connaître le niveau de la charge virale. Dans les pays à ressources limitées, elle est plus particulièrement utile dans les circonstances suivantes :

- Evaluation virologique de l'efficacité et indirectement de l'observance après l'initiation d'un traitement ARV chez le patient naïf ;
- Suivi de l'efficacité du traitement chez les malades recevant une quelconque ligne thérapeutique [51].

La principale justification pour recommander le suivi de la charge virale comme approche privilégiée par rapport au suivi immunologique et au suivi clinique est de fournir une indication précoce et plus précise d'échec thérapeutique et donc la nécessité de changer pour des ARV de 2^{ème} intention en réduisant l'accumulation de mutations de résistance aux ARV et en améliorant les résultats cliniques. La mesure de la charge virale peut aussi aider à faire une distinction entre un échec thérapeutique et une inobservance, et peut servir de mesure de remplacement du risque de transmission au niveau de la population. Seules des données limitées tendent à confirmer que le terme de survie par rapport au suivi du nombre de CD4 et / ou au suivi clinique chez les personnes vivantes avec le VIH recevant un traitement [50].

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

➤ **Technique de la mesure de la charge virale en temps réel**

Plusieurs trousse de mesures de la charge virale sont commercialisées.

Tableau V : Trousses de mesure en temps réel de la charge virale [52].

Trousse	Abbott RealTime HIV-1 Quantitative Assay	Cobas Taqman HIV-1 48	NucliSens EasyQ HIV-1	GENERIC HIV Charge virale	Versant HIV RNA Assay
Laboratoire	Abbott	Roche	BioMérieux	ANRS commercialisation par la société Biocentric	Siemens
Principe	RT-PCR en temps réel (Amplification génique)	RT-PCR en temps réel (Amplification génique)	Real Time NASBA (Amplification génique)	RT-PCR en temps réel	Hybridation amplifiée ADN branché
Détection	Sonde partiellement double brin fluorescente	Cobas Taqman 48	Molecular Beacon fluorescence	Taqman fluorescence	Chémi luminescence
Quantification	Standard externe	Standard interne	Standard interne	Standard externe	
Cible	Pol	Gag/LTR	Gag	LTR	Pol
Sous-types du VIH-1	M (A à G) +N+O	M (A à G)	M Détection possible VIH-2 (Publication)	M (A à G)	M et O (mais ne quantifie pas O)
Réactifs	Stockage à +4-8°C Contrôles à -20°C	Stockage à +4-8°C Contrôles à +4 à -8°C	Stockage à +2 -30°C Contrôles à +4°C	Stockage à +4 -8°C Contrôles à -20°C	Stockage à +4°C Contrôles à -80°C
Extraction	Extraction manuelle ou sur automate	Extraction sur Automates Cobas	Extraction sur Automate mini Mag ou	Extraction manuelle	Concentration par centrifugation et pas d'extraction

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

	Abbott m 2000 Sp	Ampliprep	NucliSens EasyQ		
Durée résultat	5,5h	4-5h	4-5h	4-6h	23h (temps technique=4h incubation=16h depuis 2006 Système V440 temps technique <1h
Linéarité	40 à 10.000.000 copies /ml	20 à 10.000.000 copies /ml	100 à 3.000.000 copies/ml		
FDA	Oui	Oui	Non	Non	Oui
CE IVD	Oui	Oui	Oui	Non	Oui

3.7. Techniques d'extraction

L'extraction d'ARN est un peu plus complexe car les ribonucléotides sont des molécules vulnérables, facilement dégradées. Elle se fait en trois temps en général : la lyse, l'extraction proprement dite et la précipitation ou l'élution.

La plupart des systèmes d'extraction utilisent des agents chao-tropiques (Iodure de sodium ou Thiocyanate de guanidinium) ou une solution de détergents/protéinases K pour la lyse ; des agents absorbants (silice) ou des particules magnétiques (Fe²⁺) pour capturer l'acide nucléique et puis éthanol/isopropanol ou une solution de sels (Phosphate) pour la précipitation [53].

Abbott utilise un agent chao-tropique (Thiocyanate de guanidinium) pour la lyse et des billes magnétiques (Fe²⁺) pour capturer l'ARN viral après lyse des particules virales.

L'élution de l'ARN purifié après lavage est réalisée à l'aide d'une solution tampon de phosphate.

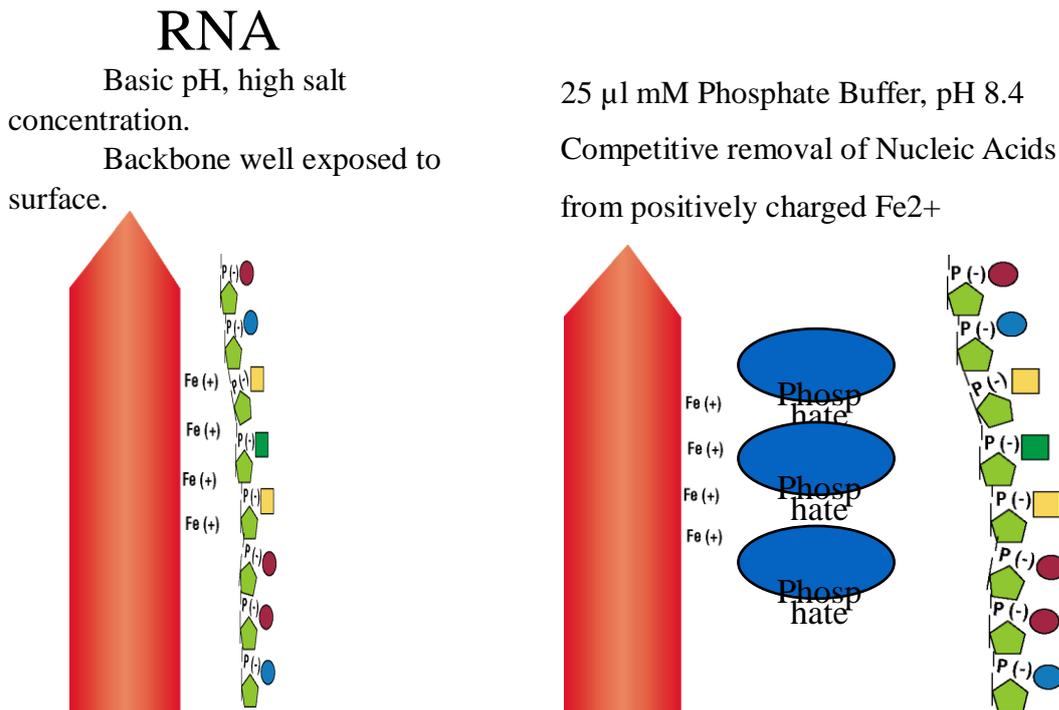


Figure 10 : Schéma de la capture et de l'éluion de l'ARN [54].

Il existe des automates permettant l'extraction des ADN et des ARN. Ils sont basés sur l'utilisation de particules de silice ou de billes magnétiques.

Il existe une diversité d'extracteur automatique actuellement dont:

- Biorobot 3000, Biorobot 800 et Biorobot 96404 de Qiagen
- ABI Prism 6100 et ABI Prism 6700 de Applied Biosystems
- Magnapure et Ampliprep de Roche Diagnostics
- Extractor de Technika/ bioMérieux
- m1000sp et m2000sp de Abbott
- NucliSens miniMAG de bioMérieux [53].

3.7.1. Détection en temps réel

La PCR quantitative en temps réel repose sur un nouveau principe de quantification: on ne regarde plus combien mais quand. En effet, si la quantité obtenue à la fin d'une PCR n'est pas toujours significative, seule la phase exponentielle est représentative du nombre de copies initiales. Ce principe repose sur le suivi cycle par cycle de la réaction d'amplification enzymatique au moyen d'une molécule reporter fluorescente capable d'émettre dans des conditions bien définies un rayonnement fluorescent dont l'intensité sera directement mesurée à un moment donné au cours de chaque cycle PCR. L'intensité de la fluorescence émise par la molécule reporter augmente à chaque cycle PCR. Par ce suivi, il est alors possible de tracer une courbe, de caractériser les différentes phases de la cinétique PCR et de mesurer la quantité de produit d'amplification généré en un point de la phase exponentielle. C'est uniquement au cours de cette phase qu'il sera possible d'extrapoler la quantité de matrice

cible initialement présente avant amplification. Au cours des premiers cycles d'amplification, l'intensité de la fluorescence émise est très faible et va permettre de définir la ligne de base de la courbe (c'est le moment où le signal sort du bruit de fond qui est significatif). Après un certain nombre de cycles, l'accumulation des produits de PCR entraîne une variation mesurable de l'intensité de la fluorescence émise.

Le point de départ de la phase exponentielle, phase au cours de laquelle l'efficacité d'amplification est supposée rester constante, est appelé cycle seuil optique. Plus précisément, le cycle seuil optique est le nombre fractionnaire de cycles pour lequel l'intensité de la fluorescence émise a dépassé une valeur seuil (ou seuil de détection optique) significativement différente du bruit de fond. Selon l'algorithme utilisé pour son calcul, il est symbolisé par les lettres Ct (threshold cycle) ou Cp (crossing point). Le cycle seuil est un point remarquable de la cinétique d'amplification car il se trouve inversement proportionnel au logarithme du nombre X_0 des molécules d'acide nucléique ciblent initialement présentes avant amplification par PCR [55].

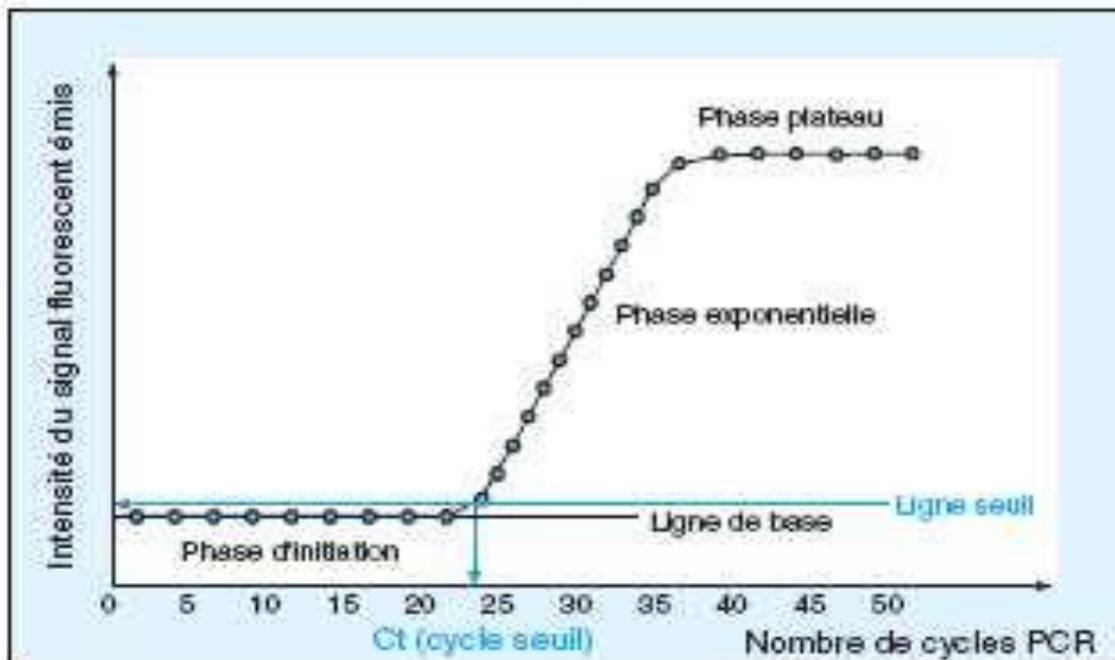


Figure 11 : Suivi en temps réel d'une réaction de PCR [55].

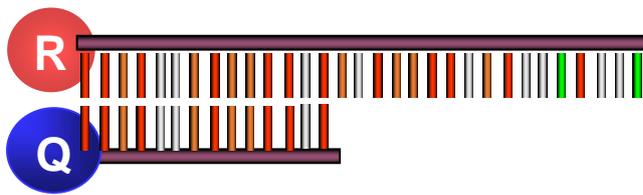
3.7.2. Les sondes fluorogéniques

Une sonde fluorogénique est un fragment d'ADN monobrin, non extensible par l'ADN polymérase, spécifique du fragment cible amplifié et portant un ou deux groupements fluorophores.

À l'heure actuelle, les stratégies de détection les plus employées sont celles utilisant comme sonde fluorogénique, les sondes TaqMan™ ou sondes d'hydrolyse, les sondes FRET en tandem ou sondes LightCycler™ et les balises moléculaires™ ou sondes d'hybridation [55].

- **Sonde d'hybridation partiellement**

Double brin (Sonde VIH)



- **Sonde courte simple brin**

(sonde contrôle interne)



Figure 12 : Les sondes d'hybridation Abbott Real Time HIV-1 (54).

3.7.3. Description du module m2000rt [54].

Les systèmes fonctionnant avec un thermo-cycleur, combinent une résistance électrique comme système de chauffage et un groupe froid comme système de refroidissement.

Le m2000rt est équipé d'un thermo-cycleur 96 puits munis d'un module thermoélectrique à effet Peltier et d'un couvercle chauffant contribuant à limiter la formation de gradients de température au sein des tubes.

Il est également composé d'une source lumineuse d'excitation et d'un système de détection allant capter les signaux de fluorescence émis. Les sources lumineuses d'excitation employées sont de trois types : source laser-argon, lampe électronique LED (Light Emitting Diode) et lampe halogène à filament de tungstène. L'émission de fluorescence est ensuite dirigée via les fibres optiques vers le système de détection. Les signaux de fluorescence émis sont ensuite détectés par l'intermédiaire d'une caméra CCD Hamamatsu (Charge Coupled Device).

Le logiciel d'analyse m2000 installé sur la station de travail informatique assure le pilotage du thermocyclage, l'acquisition et l'analyse des données brutes de fluorescence ainsi que l'exploitation de ces données pour obtenir le résultat final.

Tableau VI : Performance Abbott Real Time HIV-1 Quantitative Assay TM [54].

Sensibilité	40 copies/ml
Plage linéaire	40 à 10 millions copies/ml
Spécificité	> 99 %
Détection des sous-types	Tous les sous-types du groupe M, groupe N et groupe O
Echantillons	Plasma ACD et EDTA
Volume	Volume 1.0 ml (0.2 ml et 0.5 ml)*
Contrôle interne	ARN encapsulé
Calibration	2 points
Précision	< 0.5 log copies/ml (IC à 95%) (E.T<0.15)
Préparation échantillon	m2000sp
Durée obtention des résultats	5.5 heures
Format de rendu de résultats	Copies/ml, log copies/ml, IU/ml, log IU/ml
Standardisation	Standard VQA
Région ciblée	Région intégrase conservée du gène Pol

*Marqué CE en Protocole 0,5 ml sensibilité 75 copies/ml

Protocole 0,2 ml sensibilité 150 copies/ml

3.8. Échec thérapeutique

3.8.1. Échec 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) [56].

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

3.8.2. Échec 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 plus volontiers chez les patients ayant initialement un taux de lymphocytes CD4 pré thérapeutique bas, un âge plus avancé. Cet échec peut s'accompagner d'un succès ou d'un échec virologique [56].

3.8.3. Échec 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 traitement de ligne ultérieure [57].

Au Mali, l'échec virologique est caractérisé par une charge virale plasmatique supérieure à 1000 copies/ml après vérification de l'observance durant 6 mois de traitement bien conduit [4].

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) [58].

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

- A une concentration de molécules antirétrovirales insuffisantes, 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 [59].

3.9. Observance

Compte tenu de la puissance antirétrovirale des traitements actuellement utilisés en initiation, l'absence de réduction de la charge virale d'au moins $1\log_{10}$, un mois après l'initiation du traitement, ou une charge virale toujours > 200 copies/ml à 6 mois rendent presque toujours compte d'une observance médiocre au traitement.

3.10. Résistance

La résistance est due à la présence de mutations sur le génome viral qui réduisent la sensibilité du virus par rapport à celle observée chez un virus sauvage. Dans leurs quêtes de survie, les virus développent des mécanismes pour survivre malgré une concentration plasmatique d'ARV.

La résistance aux antirétroviraux est la sélection de variants portant des mutations sur les différents gènes ciblés par les traitements. Les mécanismes de résistance diffèrent d'une classe thérapeutique à une autre [60].

MATERIEL ET METHODES

4. MATERIEL ET METHODES

4.1. Cadre et lieu de l'étude

Notre étude s'est déroulée d'une part à l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou qui fut créé suivant la loi n 03-017 / du 14 juillet 2003 portant création de l'hôpital Nianankoro Fomba, établissement public hospitalier doté de personnalité morale et de l'autonomie financière et d'autre part à l'ONG-Walé.

Présentation de la région de Ségou

La région de Ségou, située à 240 km de Bamako, est la quatrième région administrative du Mali. Elle est située entre les parallèles 12°30 et 15°20 de longitude nord et est limitée au nord par la Mauritanie, à l'est par la région de Mopti et le Burkina Faso, au sud par la région de Sikasso et à l'ouest par la région de Koulikoro. Sa superficie est de 64.820 km² pour une population de 2 868 000 habitants répartis entre sept cercles (Baraouéli, Bla, Macina, Niono, San, Ségou et Tominian). Le cercle de Ségou est composé de 49 communes. Le taux de séroprévalence de la région de Ségou est de 1,2% [4,61].

La Région de Ségou compte une direction régionale de la santé, un établissement publique hospitalier EPH (Hôpital Nianankoro FOMBA), 8 (huit) centres de santé de référence ou district sanitaire (CSRef) (Ségou, Baraouéli, Bla, Macina, Niono, San, Tominian et Markala), 189 centres de santé communautaire (CSCoM) fonctionnels et 182 structures privées et parapubliques et un magasin pharmacie populaire du Mali PPM régionale dotée d'une chaîne de froid [61].

Dans le cadre de la lutte contre le VIH/SIDA la région de Ségou dispose de 14 sites de prise en charge globales fonctionnelles et de 67 sites PTME.

❖ HOPITAL

L'hôpital a pour mission de participer à la mise en œuvre de la politique nationale de santé sur l'étendue du territoire de la région de Ségou.

À cet effet il est chargé de :

- Assurer le diagnostic, le traitement des malades, des blessés et des femmes enceintes ;
- Prendre en charge les urgences et les cas référés ;
- Assurer la formation initiale et la formation continue des professionnels de la santé ;
- Conduire des travaux de recherche dans le domaine médical ;

L'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou détient en son enceinte plusieurs services suivant les activités qui sont les suivants :

- Médecine générale
- Urologie
- Traumatologie
- Ophtalmologie
- Chirurgie générale

- SAU (service d'accueil des urgences)
- Imagerie médicale
- Pharmacie
- Laboratoire avec une unité de banque de sang
- Cardiologie
- Médecine légale
- Odontostomatologie
- Gynécologie
- Pédiatrie
- Oto-rhino-laryngologie
- Chirurgie pédiatrique
- Anesthésie-réanimation
- Box de consultation

Laboratoire :

Composé d'une section de bactériologie, de parasitologie, d'hématologie, de biochimie, d'immunologie, de charge virale et de CD4, de banque de sang. Environ une centaine d'analyses y sont quotidiennement effectuées avec quatorze personnels qualifiés.

Services cliniques

Tous les différents services sont actifs du lundi au vendredi, les samedis et les dimanches la garde est assurée. Les consultations, les interventions chirurgicales et les rééducations y sont effectuées.

❖ WALE

Présentation de l'ONG Walé

L'Association Walé est une association apolitique, laïque et à but non lucratif, créée sous récépissé N°10 /GRS-CAB-DG/SPR du 19 juin 1997. Elle s'est érigé en ONG le 21 août 1997 par Accord Cadre N° 909/MATS, puis actualisé sous le N° 00455/0909 MATCLCADB, du 15 avril 2010. Sont membres de l'association Walé, les personnes ayant librement accepté les statuts et règlement de ladite association. L'association Walé regroupe en son sein des membres actifs et des personnes-ressources. Son siège social est à Ségou et elle intervient sur toute l'étendue du territoire national conformément à l'avenant N° 3323/MATCL-SG du 22 décembre 2010. Sa durée est illimitée.

Ses domaines d'intervention par rapport à l'accord-cadre sont :

- Action sociale ;
- Actions de santé ;
- Actions éducatives ;
- Actions environnementales.

Ses zones d'intervention

L'ONG Walé intervient prioritairement dans la région de Ségou et peut intervenir dans les autres régions du Mali selon les opportunités : Exemple Mopti et Tombouctou 2010-2013, et Sikasso 1998-2000.

Ses groupes cibles

Les groupes cibles sont prioritairement les personnes vulnérables aux problèmes de santé (femmes, enfants/jeunes, handicapés) et/ou celles touchées par les pathologies endémiques (VIH et le diabète).

Ses organes :

- L'Assemblée Générale de l'Association Walé (AG)
- Le Conseil d'Administration (CA) ;
- Le Bureau Exécutif de l'Association (BE) ;
- Le Commissariat aux comptes (CC).

En cas de besoin des commissions de travail peuvent être mises en place pour évacuer certaines tâches.

La vision de l'ONG Walé

À l'horizon 2020, les ressources financières de Walé ainsi que l'expertise et l'engagement de ses membres et de son personnel sont suffisants et lui permettent d'agir, en collaboration avec d'autres acteurs, pour que les problèmes de santé ne soient plus des facteurs limitant la participation active de la population au développement tant sur le plan local, national et sous-régional.

But et Objectifs de l'association Walé

L'Association Walé a pour but de contribuer à la promotion de la santé à travers la prise en charge globale, la formation, l'information, l'éducation, la sensibilisation des groupes cibles en se basant sur leur participation active. Les objectifs spécifiques de l'association sont :

- Développer et soutenir l'information, la formation, l'éducation et la communication pour améliorer le cadre de vie des populations,
- Assister les groupes, collectivités, communautés, autorités publiques et toutes autres personnes ou institutions intéressées à travers l'initiation, la conception, la réalisation et la gestion des projets visant l'amélioration de la santé,
- Soutenir la promotion socio-économique des groupes cibles spécifiques touchés par des problèmes de santé,
- Développer des stratégies de mobilisation des ressources financières.

Les missions de l'ONG Walé

- Développer le professionnalisme, les expertises et les ressources financières de Walé à travers le renforcement de ses capacités institutionnelles, organisationnelles et d'intervention ;
- Renforcer le leadership de Walé dans les alliances stratégiques autour des préoccupations de santé liée aux IST/VIH, à la santé de la reproduction et au diabète aux niveaux locaux, national et sous-régional ;
- Offrir aux populations des services appropriés de prévention et de prise en charge en matière d'IST/VIH, de la santé de la reproduction et du diabète ;
- Contribuer à bâtir avec les collectivités territoriales, les organisations de la société civile et les populations vulnérables un environnement favorable (les facteurs sociaux, politiques et juridiques) à la riposte locale et nationale face aux problèmes de santé à travers l'influence politique.

Les valeurs

- Solidarité et tolérance ;
- Confidentialité ;
- Transparence ;
- Indépendance ;
- Dialogue social [62].

Le Centre de Traitement Ambulatoire (CTA) de l'ONG Walé:

Organisation

Le CTA de l'ONG Walé est dirigé par un coordinateur chargé des activités de prise en charge globale des patients adultes et enfants infectés par le VIH. Les activités de prise en charge des patients sont assurées par le personnel technique et se composent de la prise en charge médicale et l'accompagnement psychosocial.

Personnel

Le personnel du CTA est composé d'un coordinateur local ; deux (2) médecins ; un pharmacien ; un aide pharmacien ; un technicien de laboratoire ; deux (2) infirmiers ; un assistant social ; un secrétaire ; une opératrice de saisie ; un chauffeur ; un gardien et un planton.

Mandats du CTA

- Financer par le Fonds mondial de lutte contre le sida, la tuberculose et le paludisme
- Intensifier, diversifier et améliorer l'offre des services adaptés de prévention à l'échelle nationale, particulièrement en ce qui concerne les populations vulnérables et les populations à risque.
- Consolider les acquis et étendre l'offre des services de traitement globale de qualité sur toute l'étendue du territoire.

- Renforcer l'offre à travers le pays des services de soins/soutien/accompagnement durables pour tous ce qui en a besoin.
- Renforcer les capacités nationales de coordination et de suivie évaluation

4.2. Types et périodes d'étude

Il s'agit d'une étude descriptive prospective qui s'est déroulée d'août 2016 à mars 2018 soit 20 mois.

4.3. Population d'étude

L'étude a concerné l'ensemble des patients adultes infectés par le VIH-1 et sous traitement ARV à Ségou au Mali d'au moins 6 mois.

4.4. Critère d'inclusion

Ont été inclus tous les patients:

- Infectés par le VIH-1 et sous traitement ARV à Ségou d'au moins de 6 mois,
- Ayant bénéficié d'un suivi biologique et clinique,
- Disposant de données sociodémographiques disponibles dans les dossiers cliniques,

4.5. Critère de non-inclusion

N'ont pas été inclus tous les patients :

- Ne répondant pas à un ou plusieurs critères d'inclusion,
- Infectés par le VIH-2 ou VIH-1 et 2,

4.6. Taille de l'échantillon

La taille de l'échantillon a été consécutive au recrutement du nombre de patients durant la période d'étude.

4.7. Technique utilisée pour l'étude

Cette technique est basée sur la quantification virale pour tous les patients inclus dans notre étude et cette quantification est réalisée à l'aide d'un amplificateur **Abbott HIV-1 Real Time TM Quantitative Assay**.

Les données sur les paramètres démographiques, comme l'âge et le sexe, les renseignements sur les traitements reçus ainsi que les paramètres immuno virologiques ont été obtenus à partir de la fiche de demande de charge virale et dans les dossiers des différents malades.

4.7.1. Principe de la technique d'Abbott [63].

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 rTh 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 primé 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 thermo-cycleur pour obtenir une amplification des séquences cibles d'un milliard ou plus.

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

4.7.2. Résultats du m2000rt

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).

4.7.3. Organisation du local de la charge virale

La section biologie moléculaire sise au sein du laboratoire de l'hôpital Nianankoro FOMBA de Ségou (HNFS) 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 seconde zone (Z2) est uniquement réservée à la phase d'amplification et de détection.

4.7.4. Réactifs et matériels

Réactifs et matériels

Les réactifs et matériels ont été répartis par zones.

Zone 1

Secteur 1

❖ Réactifs :

Réactifs d'extraction ARN : "Abbott mSample Préparation System Reagents" :

- Solution de lyse mLysis : 100 mmol/L de solution TRIS contenant du Thio-cyanate de guanidinium et du détergent (Tween 10%).
- Solution de lavage mWash1 : 50 mmol/L de solution acétate contenant du Thio-cyanate de guanidinium et du détergent (Tween)
- Solution de lavage mWash2 : eau sans RNases (nucléases) ;

- Tampon d'éluion 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 (portoirs) magnétiques (rouge) pour des tubes de 12 x 75 mm ;
- Supports (portoirs) magnétiques (bleu) pour tubes de 1,5 ;

- Portoirs (4) non magnétiques pour les échantillons, les contrôles, les calibrateurs, les tubes de 1,5 ml et les tubes de 12 x 75 mm ;
- Portoirs métalliques (2) pour contrôles et calibrateurs ;
- Multi-pipette plus ou micropipette à répétition ;
- Micropipette de 1000 µL fixe pour la distribution des calibrateurs, des contrôles et des échantillons (protocole 600 µL) ;
- Micropipette de 500 µL fixe uniquement pour le contrôle interne ;
- Micropipette 1000 µL pour le lavage ;
- Micropipette de 100 µL pour la distribution du tampon d'élution et de l'eau sans RNase ;
- Pipettes pasteur stériles à bout fin ;
- Supports de plaques optiques (supports anti-éclaboussures) ou « splash free support base » ;
- Films optiques ou « Optical adhesive cover » ;
- Applicateurs pour films optiques ou « adhesive cover applicator » ;
- Embouts Combitis plus de 10 ml ;
- Pointes à filtre de 1000 µL ;
- Pointes à filtre de 100 µL ;
- Tubes de 12 x 75 mm et des bouchons ;
- Tubes microfuges à bouchon à vis de 1,5 ml ;
- Tubes DNase/RNase free 1.5 ml de type Beckman ;
- Cryo-tubes 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 "StrataCooler 96" (conserver à -20°C) ;
- Portoir de travail en métal pour "StrataCooler 96" (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 Optical Réaction 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 Beckmann ;
- 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 fluorochrome dans une solution tampon ;
- 1 plaque de comptage du bruit de fond ; 96 puits, 0,05 ml/puits, solution tampon ;
- Plaques de fluorochromes purs (CyTM5, FAMTM, JOETM, NEDTM, ROXTM, SYBR®, TAMRATM et VIC®) ;
- 1 plaque par fluorochrome, 96 puits, 0,05 ml/puits, 0,2 µM de fluorochrome 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.

4.7.5. 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.
- 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), après la centrifugation et envoyer au laboratoire (patient de l'ONG WALE).
- 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.

Le transfert des échantillons (plasma ou sang total) doit se faire à une température de + 4°C jusqu'à destination (Glacière avec hicc-pack ou sac thermostable avec hicc-pack).

Dans tous les cas la fiche de demande doit être impérativement bien remplie par le médecin prescripteur et vérifiée par le technicien ou le biologiste.

❖ **Pour les patients dont le prélèvement a été déjà aliquoté**

- Vérifier les conditions de transport et de conservation avant l'arrivée au laboratoire,
- Vérifier les quantités de plasma aliquotées,
- Vérifier que les numéros sur les aliquots correspondent bien à la fiche de demande de charge virale,
- Réceptionner les prélèvements et enregistrer les données dans le registre et le tableur Excel sur l'ordinateur de charge virale.
- Attribuer un numéro du laboratoire au prélèvement
- Stocker à -20°C deux (02) tubes pour la charge virale
- Stocker à -20°C un autre tube pour la plasma-thèque

4.7.6. Procédure de la technique [63].

❖ **Consignes de sécurité**

- Prenez 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 l'enceinte dédiée pour la charge virale au sein du laboratoire.

❖ **L'extraction des ARN du VIH-1**

La préparation des échantillons a pour objectif d'extraire et d'isoler les molécules cibles d'ARN, afin de rendre les cibles accessibles pour l'amplification, et d'éliminer tout inhibiteur potentiel de l'amplification de l'extrait.

Le système de préparation des échantillons Abbott mSample Préparation system utilise la technique des particules magnétiques afin de capturer les acides nucléiques et laver les particules afin d'éliminer tout composant non lié de l'échantillon. Les acides nucléiques liés sont élués et transférés dans les tubes de 1,5 ml. Le contrôle interne est soumis à l'intégralité de la procédure de préparation des échantillons, avec les calibrateurs, les contrôles et les échantillons. Le temps moyen d'extraction quelques soit le nombre d'échantillons (24 ou 48) était de 4 heures.

4.7.7. Interprétation et rendus 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].

Le logiciel m2000 Software version 4.0 donne les résultats en copies/ml ou en Log10 (copies/ml).

La charge virale est dite indétectable lorsque sa valeur est inférieure à 40 copies /ml, détectable lorsque c'est entre 40-1000 copies/ml et en échec si sa valeur est de 1000 – 10 000 000 copies /ml cela selon l'appareil utilisé mais contrairement à la clinique du Mali qui considère comme charge virale supprimée toute valeur inférieure à 40 à 1000 copies / ml et non supprimée toute valeur supérieure à 1000 copies /ml.

Tableau VIII : Interprétation des résultats obtenus sur le m2000rt (en utilisant les volumes 1,0 et 0,6 ml)

Volume de l'échantillon	Résultats en copies/ml et log (copies/ml)	Interprétation
1,0 ml ou 0,6 ml	« Not detected »	Cible non détectée
	« < 40 copies/mL ou < 1,60 log (Copies/ml) »	Cible détectée mais concentration Inférieure à la limite inférieure de Quantification.
	« 40 à 10 000 000 copies/ml ou 1,60 à 7,00 log (copies/ml) »	Cible détectée (la concentration se situe dans les limites linéaires du Dosage.
	« >10 000 000 copies/ml ou > 7,00 log (copies/ml) »	Cible détectée mais concentration Supérieure à la limite supérieure de Quantification.

Les résultats ont été imprimés en détail (copies /ml et log [copies /ml]), recopiés sur les fiches de demande charge virale individuelle, enregistrés dans le registre, le tableur Excel de CV et le logiciel NULL Open Cline multiplié la fiche et ensuite gardés l'original de chaque fiche aux archives. Bien avant l'opération de multiplication des fiches, elles sont signées par le responsable de l'unité de laboratoire et les copies sont envoyées au site ou service de provenance de la demande.

4.7.8. Analyse des données

Nos données ont été collectées sur le logiciel ESOPE, une fiche d'enquête en Word, saisies sur Excel et analysées par le logiciel RStudio version 3.2.4. Nos références ont été insérées avec le logiciel mendeley version 1.19.3.

Les résultats sont présentés sous forme de tableaux et de figures.

Nous avons effectué une analyse descriptive des données, pour les variables qualitatives nous avons calculé les proportions quantitatives, les moyennes, les médianes et IQR, faire des représentations sous forme de tableaux et de graphiques.

Ensuite nous avons effectué une analyse bivariée de la régression logistique pour calculer les OR brut et IC 95% et estimer le P. value pour déterminer si l'association est statistiquement significative ($p < 0,05$).

Pour l'analyse multivariée de la régression logistique nous avons sélectionné les variables ayant un $p < 0,25$ à l'analyse bivariée. Ensuite nous avons appliqué la procédure de pas à pas descendant AIC afin de déterminer le meilleur modèle, nous avons aussi effectué un test de colinéarité entre les variables. Enfin nous avons calculé les OR ajustés, les IC 95% et les p. Values significatives si inférieures à 0,05.

4.8. Variables étudiées

Variable à expliquer : Le variable échec ou non (variable binaire : présence ou absence)

On parle d'échec virologique lorsqu'il y a la persistance d'une charge virale supérieure à 1000 copies/ml chez un patient sous traitement antirétroviral au moins six mois.

Les variables explicatives

Sont représentées par : l'âge, le sexe, la profession, le statut matrimonial, le statut du conjoint, l'observance au traitement ARV, le site, la durée du traitement ARV, le stade clinique, la ligne thérapeutique, la CV, le CD4, les PDV, l'Ag HBs, l'effet secondaire au traitement ARV et la zone d'habitation.

Définition opérationnelle :

Profession informelle : sans source de revenus fixe tel que de petit commerce, travaux champêtres et autres.

Profession formelle : qui se rapporte aux conventions et usage de la vie sociale (ayant des revenus fixe comme salariés).

Urbaine : résidant à Ségou et chefs lieu de cercle.

Rurale : résidant dans les villages.

Indétectable (selon la machine) : signifie que le sang ne contient pas assez de copies du virus pour que le test puisse les mesurer. Cela ne signifie pas que le patient est guéri du VIH. Le virus est toujours présent dans l'organisme, mais à un taux immesurable. Et cela selon la capacité analytique de la machine.

Charge Virale Supprimée : Toute valeur de charge virale comprise entre $< 40-1000$ copies /ml.

Charge Virale non Supprimée : Toute de charge virale comprise entre $1001 - \geq 10\ 000\ 000$ copies /ml.

RESULTATS

5. RESULTATS

Au terme de notre étude 365 patients ont été inclus selon nos critères d'inclusion et ayant bénéficié chacun au minimum d'une charge virale à Hôpital Nianankoro Fomba de Ségou durant la période allant d'aout 2016 à mars 2018.

L'Âge médian a été 40 ans avec des extrêmes de 17 et 69 ans et IQR]33-48[.

Le taux de CD4 médian a été 230 cellules / μ l avec des extrêmes 1 et 1512 cellules / μ l et IQR]103-433[.

La durée moyenne de traitement a été de 48 mois avec des extrêmes de 6 et 166 mois et IQR] 24-100[.

La cv moyenne a été 88805 copies /ml avec des extrêmes < 40 à > 10 000 000 copies/ml.

5.1. Description sociodémographique et biologique

ANALYSES DESCRIPTIVES

Tableau VIII: Répartition des patients en fonction de la profession

Profession	Effectif	Pourcentage %
Formelle	54	15%
Informelle	311	85%
Total	365	100%

85% de nos patients ont travaillé dans la profession informelle.

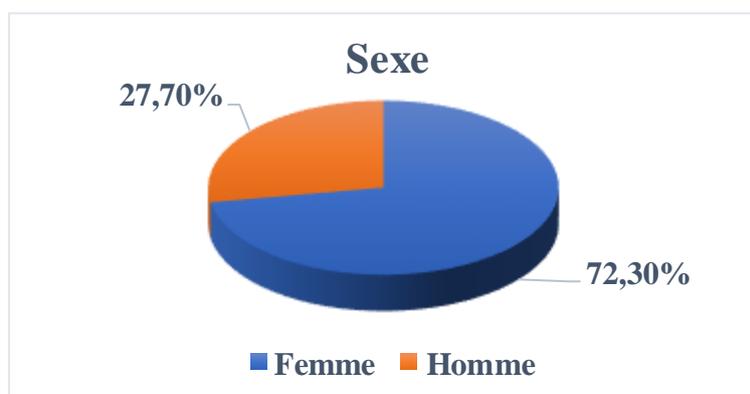


Figure 13: Représentation graphique des patients en fonction du sexe.

Le sexe féminin a été le plus dominant avec 72% et 28 % pour le sexe masculin.

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

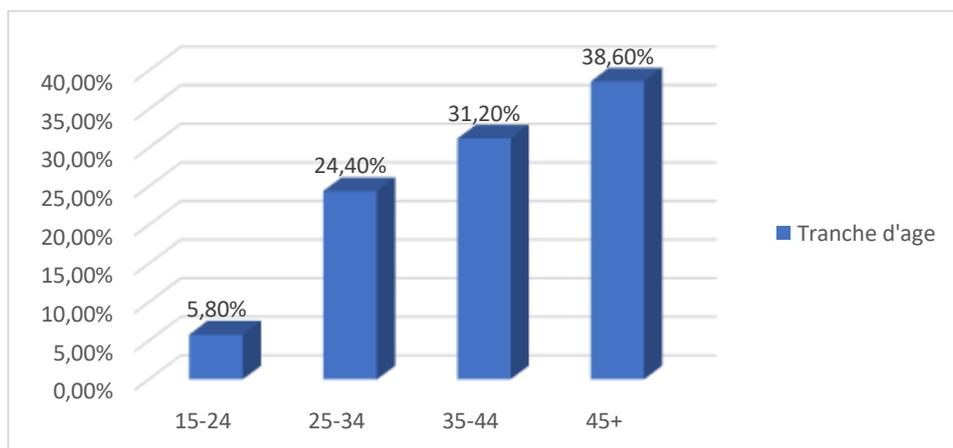


Figure 14: Représentation graphique des patients en fonction de la tranche d'âge.

Les tranches de 35-44 et de 45+ sont les plus représentés soit respectivement 31.20% et 38.60%.

Tableau IX: Répartition des patients en fonction de la résidence .

Résidence	Effectif	Pourcentage %
Urbaine	240	66%
Rurale	125	34%
Total	365	100%

Les patients sont répartis en zones urbaines pour 66% et 34% dans les zones rurales.

Tableau X: Répartition des patients en fonction du statut matrimonial.

Statut matrimonial	Effectif	Pourcentage %
Mariés	257	70%
Divorcés	14	4%
Célibataires	41	11%
Veufs	53	15%
Total	365	100%

Nos patients mariés ont représenté Soixante-dix pour cent (70%), 4% de divorcés, 15 % de veufs et 11% de célibataires.

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Tableau XI: Répartition des patients en fonction du statut du conjoint.

Statut du conjoint	Effectif	Pourcentage %
Négatif	15	4%
Positif	52	14%
Non connu	298	82%
Total	365	100%

La majorité des patients 82% ont des conjoints de statut non connu.

Tableau XII: Répartition des patients en fonction du stade clinique.

Stade clinique	Effectif	Pourcentage %
I	116	32%
II	44	12%
III	174	48%
IV	31	8%
Total	365	100%

Les patients inclus en stade III ont représenté 48% suivi de 32% en stade I 12% en stade II pour finir avec 8% en stade IV.

Tableau XIII: Répartition des patients en fonction de l'effet secondaire au traitement ARV.

Effet secondaire	Effectif	Pourcentage %
Présence	28	8%
Absence	337	92%
Total	365	100%

L'absence d'effet secondaire a été 92% et la présence d'effets secondaires a été de 8%.

Tableau XIV: Répartition des patients en fonction de l'échec virologique.

Echec	Effectif	Pourcentage %
Absence	303	83%
Présence	62	17%
Total	365	100%

L'absence d'échec virologique a été de 83% avec un taux d'échec de 17%.

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Tableau XV: Répartition des patients en fonction du taux de CD4 initial.

CD4 (cellules/μl)	Effectif	Pourcentage %
< 200	163	45%
200 – 350	71	19%
350 – 500	64	18%
>500	67	18%
Total	365	100%

Nos patients inclus avec des valeurs de CD4 inférieures à 200 cellules / μ l ont été 45 %.

Tableau XVI: Répartition des patients en fonction de la ligne thérapeutique.

Ligne thérapeutique	Effectif	Pourcentage %
1 ^{ère} ligne	307	84%
2 ^{ème} ligne	58	16%
Total	365	100%

Le maximum de patients 84 % ont été sous la première ligne.

Tableau XVII: Répartition des patients en fonction de la durée du traitement ARV.

Durée d'ARV	Effectif	Pourcentage %
>100 mois	91	25%
≤100 mois	274	75%
Total	365	100%

Ceux de moins de 100 mois de traitement ont été de 75% alors que ceux de plus de 100 mois de traitement n'ont représenté que 25%.

Tableau XVIII: Répartition des patients en fonction de l'observance au suivi thérapeutique.

Observance	Effectif	Pourcentage %
Bonne Observance	303	83%
Mauvaise Observance	62	17%
Total	365	100%

Nos patients observants ont été (83%) et 17% pour les inobservants.

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Tableau XIX: Répartition des patients en fonction de l'Ag HBs.

Ag HBs	Effectif	Pourcentage %
Négatif	356	98%
Positif	9	2%
Total	365	100%

Parmi les nos patients (98%) ont été Ag HBs négatifs et 2% de positifs.

Tableau XX: Répartition des patients en fonction du site de prise en charge.

Site	Effectif	Pourcentage %
Walé	224	61%
HNFS	141	39%
Total	365	100%

La grande majorité de nos patients sont venus de l'ONG Walé avec 61% et ceux de l'HNFS ont représenté 39%.

Tableau XXI: Répartition des patients en fonction des différents schémas thérapeutiques.

Traitements ARV	Effectifs	Pourcentage %
ABC+3TC+ATV	9	2,5%
ABC+3TC+EFV	3	0,8%
ABC+3TC+LPV	30	8,2%
ABC+3TC+NVP	1	0,3%
AZT+3TC+LPV	6	1,6%
AZT+3TC+ATV	1	0,3%
AZT+3TC+NVP	7	1,9%
AZT+3TC+EFV	4	1,1%
TDF+3TC+ATV	7	1,9%
TDF+3TC+EFV	285	78,1 %
TDF+3TC+LPV	9	2,5%
TDF+3TC+NPV	3	0,8%
Total	365	100%

Les patients sous Trioday (TDF+3TC+EFV) ont été 78.1%.

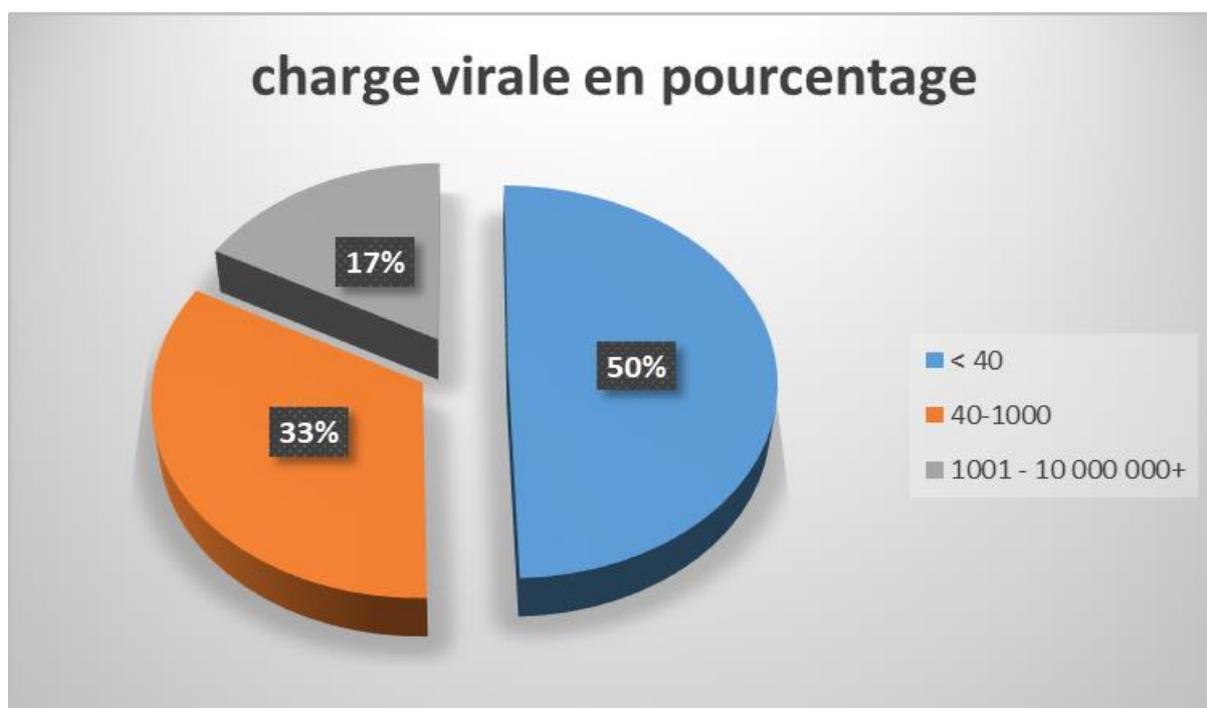


Figure 15: Représentation de la charge virale en pourcentage selon les valeurs de la machine .

L'étude nous a rapporté 50% indétectables parmi les 365 patients.

33% détectables de charge virale entre 40-1000 copies.

17% sont en échec virologique de charge virale comprise entre 1000-10 000 000 copies /ml.

Selon la politique Malienne les 83% étaient en succès thérapeutiques avec des valeurs de charge virale < 1000copies/ml.

5.2. Tableaux croisés et régression logistique bivariée

Tableau XXII: Tableau croisé de l'échec en fonction de la profession.

Echec Profession	Oui	Non	OR brut [IC 95%]	p. value
Formel	6 (10 %)	48 (16 %)	1	
Informel	56 (90 %)	255 (84 %)	1,76 [0,77-4,76]	0 ,218

La profession « informel » a été associée à une augmentation de l'échec thérapeutique, statistiquement non significatif.

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Tableau XXIII: Tableau croisé de l'échec en fonction du sexe.

Echec sexe	Oui	Non	OR brut [IC 95%]	p. value
F	48 (77%)	216 (71%)	I	
M	14 (23%)	87 (29 %)	0,72 [0,37-1,35]	0,327

Le sexe masculin est associé à une diminution de l'échec thérapeutique, statistiquement non significatif.

Tableau XXIV: Tableau croisé de l'échec en fonction de la tranche d'âge .

Echec Tranche	Oui	Non	OR brut [IC 95%]	p. value
15-24	2 (3%)	19 (6%)	I	
25-34	15 (24%)	74 (24%)	1,93 [0,49-12,88]	0,410
35-44	20 (32%)	94 (31%)	2,02 [0,53-13,32]	0,369
45+	25 (25%)	116 (39%)	2,05 [0,55-13,37]	0,355

Les tranches d'âge n'ont pas été statistiquement associées à l'échec thérapeutique.

Tableau XXV: Tableau croisé de l'échec en fonction de la résidence .

Echec Résidence	Oui	Non	OR brut [IC 95%]	p. value
Rurale	20 (32%)	105 (35%)	I	
Urbaine	42 (68%)	198 (65%)	1,11 [0,63-2,03]	0,717

La résidence a été associée à une augmentation de l'échec thérapeutique, statistiquement non significatif.

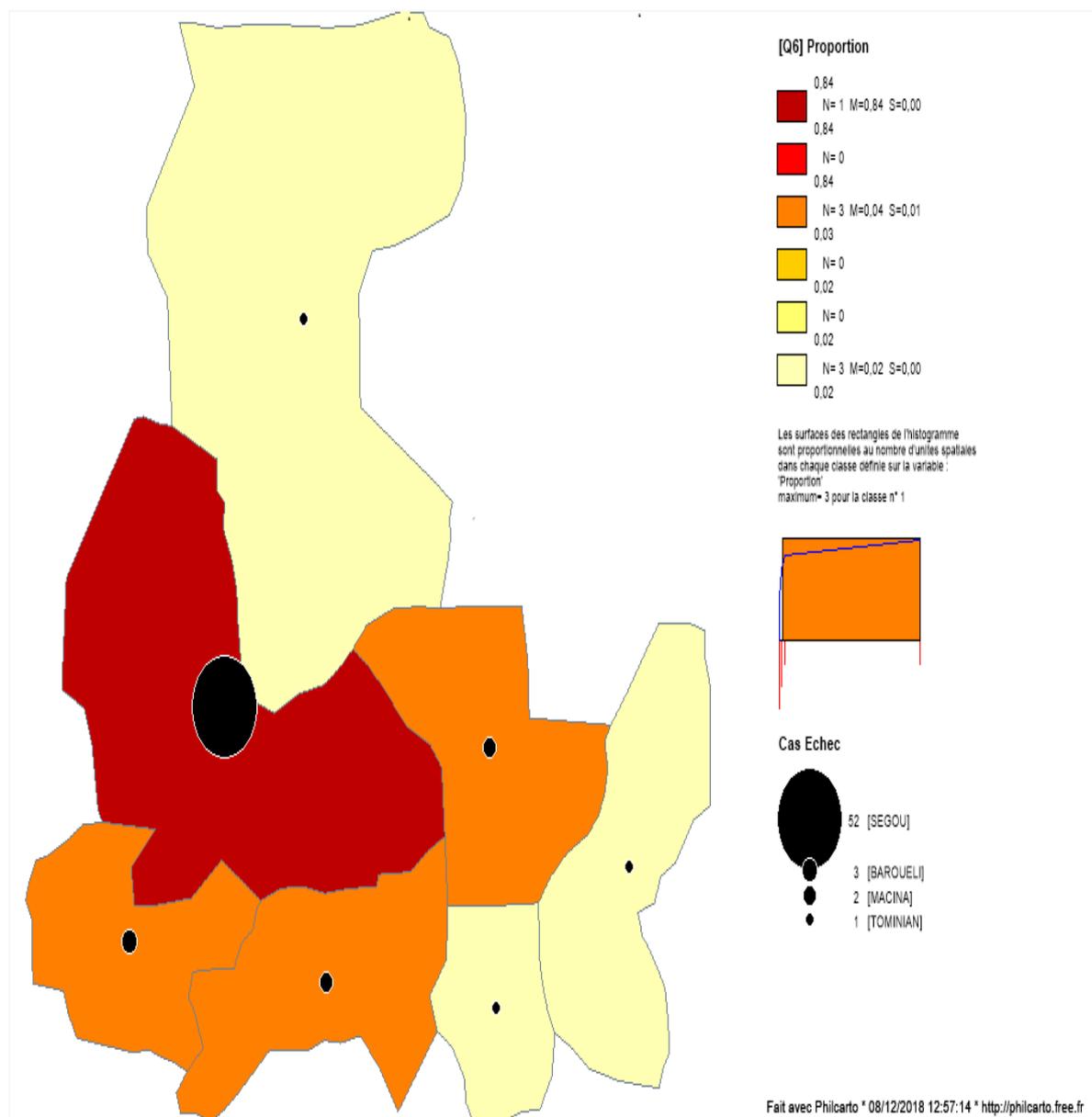


Figure 16: Répartition spatiale de la proportion des cas d'échecs.

La majeure partie des échecs a été au cercle de Ségou avec un pourcentage de 83,87 % donc géographiquement proche des sites de PEC.

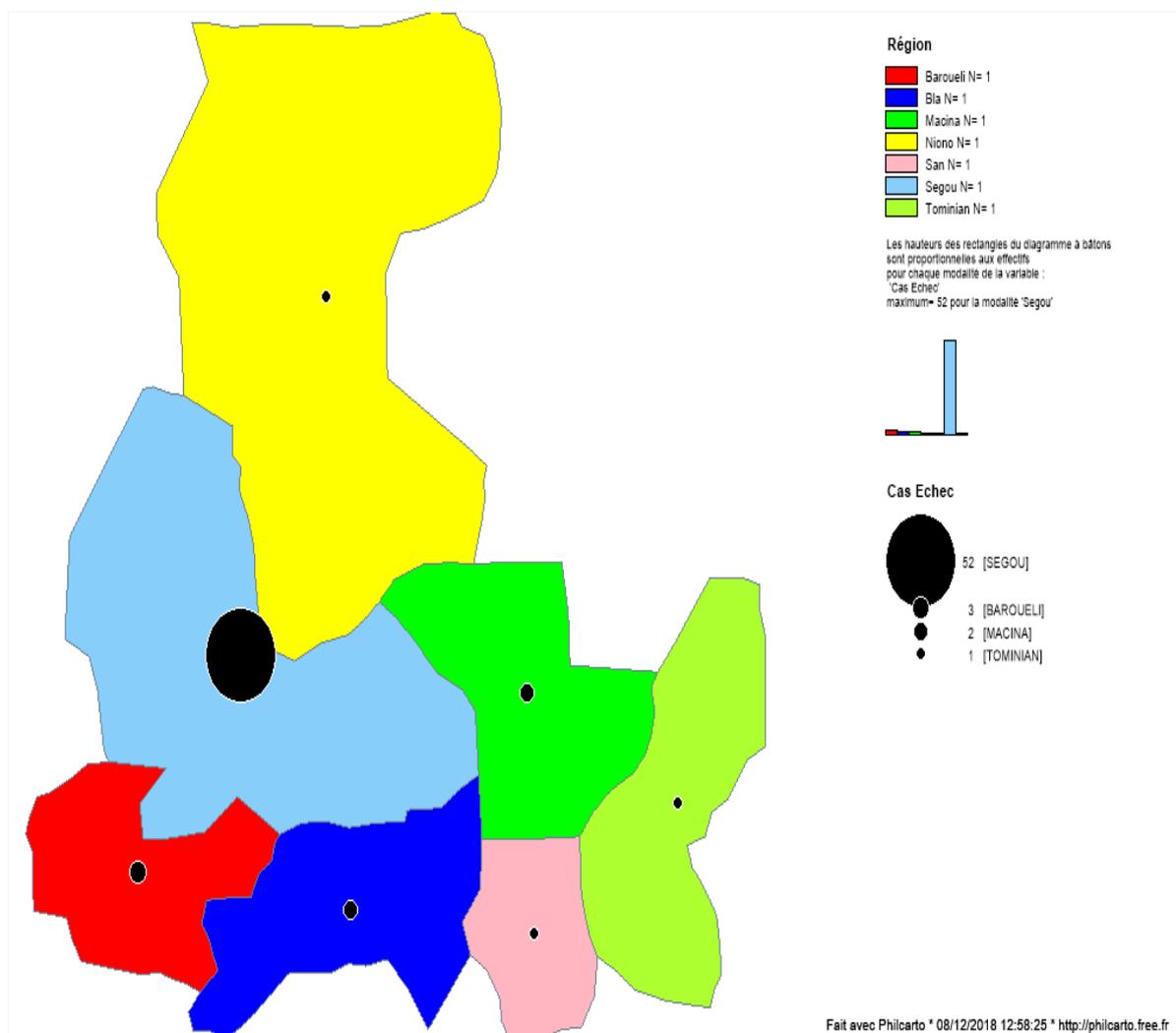


Figure 17: Répartition spatiale de l'échec en fonction des cercles de Ségou.

Tableau XXVI: Tableau croisé de l'échec en fonction du statut matrimonial.

Echec Statut matrimonial	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p- value
Non mariés	20 (32%)	89 (29%)	1	
Mariées	42 (68%)	214 (71%)	0,87 [0,49-1,60]	0,651

Les mariés ont été associés à une diminution de l'échec thérapeutique, statistiquement non significatif.

Tableau XXVII: Tableau croisé de l'échec en fonction du statut du conjoint.

Echec Statut du conjoint	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. value
Négatif	2 (3%)	13 (4%)	I	
Positif	52 (84%)	246 (81%)	1,18 [0,26-8,47]	0,844
Non connu	8 (13%)	44 (15%)	1,37 [0,37-8,96]	0,682

Les conjoints séropositifs et les conjoints de statut non connu ont été associé à une augmentation de l'échec thérapeutique, statistiquement non significatif.

Tableau XXVIII: Tableau croisé de l'échec en fonction du stade clinique.

Echec Stade clinique	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. value
I	20 (32%)	96 (32%)	I	
II	6 (10%)	38 (12%)	0,76 [0,26-1,94]	0,582
III	29 (47%)	145 (48%)	0,96 [0,52-1,81]	0,898
IV	11 (11%)	24 (8%)	1,40 [0,50-3,58]	0,497

Ceux inclus en stade clinique II et III ont été associés à une diminution de l'échec thérapeutique, et ceux inclus en stade clinique IV ont été associés à une augmentation de l'échec thérapeutique, statistiquement non significatifs.

Tableau XXIX: Tableau croisé de l'échec en fonction de l'effet secondaire au traitement ARV.

Echec Effet secondaire	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. value
Absence	55 (89%)	282 (93%)	I	
Présence	7 (11%)	21 (7%)	1,70 [0,65-4,04]	0,245

La présence d'effet secondaire a été associé à une augmentation de l'échec thérapeutique, statistiquement non significatif.

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Tableau XXX: Tableau croisé de l'échec en fonction du taux de CD4 initial.

Echec taux de CD4 cellules / μ l	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. val ue
200 – 350	12 (19%)	59 (19%)	I	
< 200	30 (49%)	133 (44%)	1,11 [0,54-2,28]	0,7 833
350 – 500	10 (16%)	54 (18%)	0,91 [0,54-2,39]	0,8 41
>500	10 (16%)	57 (19%)	0,86 [0,34-2,15]	0,7 51

Les intervalles de taux de CD4 de 350-500 cellules / μ l et >500 cellules / μ l sont associés à une diminution de l'échec thérapeutique et la tranche < 200 cellules / μ l associé à une augmentation de l'échec thérapeutique mais aucun d'eux n'a été statistiquement significative.

Tableau XXXI: Tableau croisé de l'échec en fonction de la ligne thérapeutique.

Echec Ligne	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. value
2 ^{ème} ligne	18 (29%)	40 (13%)	I	
1 ^{ère} ligne	44 (71%)	263 (87%)	0.37 [0.20-0.72]	0.0025**

La première ligne TARV a été un facteur protecteur contre l'échec de traitement et statistiquement significatif $p= 0.0025^{**}$

Tableau XXXII: Tableau croisé de l'échec en fonction de la durée du traitement ARV.

Echec Durée	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. value
>100 mois	8 (13%)	83 (27%)	I	
\leq 100 mois	54 (87%)	220 (73%)	2,55 [1,22-5,99]	0,02

Ceux qui ont eu une durée de traitement \leq 100 mois ont été associés à une augmentation de l'échec et statistiquement significatif.

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Tableau XXXIII: Tableau croisé de l'échec en fonction de l'observance au suivi thérapeutique.

Echec Observance	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. value
mauvaise	23 (37%)	39 (13%)	I	
Bonne	39 (63%)	264 (87%)	0,25 [0,14-0,47]	<0,001**

Une bonne observance a été associée à une diminution de l'échec thérapeutique, statistiquement significatif.

Tableau XXXIV: Tableau croisé de l'échec en fonction du site de prise en charge.

Echec Site	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. value
HNFS	33 (53%)	108 (36%)	I	
Walé	29 (47%)	195 (64%)	0,49 [0,28-0,84]	0,011

Le site Walé a été associé à une diminution de l'échec thérapeutique comparé au site HNFS, statistiquement significatif.

Tableau XXXV: Tableau croisé de l'échec en fonction du PDV.

Echec PDV	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. value
Présents	60 (97%)	300 (99%)	I	
Perdus	2 (3%)	3 (1%)	3,33 [0,43-20,53]	0,192

Les PDV ont été associés à une augmentation de l'échec thérapeutique, statistiquement non significatif.

Tableau XXXVI: Tableau croisé de l'échec en fonction de l'Ag HBs.

Echec Ag HBs	Présence	Absence	OR brut [IC 95%]	p. value
Négatifs	61 (98%)	295 (97%)	I	
positifs	1 (2%)	8 (3%)	0,60 [0,03-3,38]	0,638

La coinfection VIH et Ag HBs a été associée à une diminution de l'échec thérapeutique, statistiquement non significatif.

5.3. **Analyse multivariée de la régression logistique :**

Tableau XXXVII: Tableau multivarié de la régression logistique.

Variable	OR ajustés	[IC 95%]	p. value
Durée			
>100 mois		I	
≤100 mois	2,35	[1,10-5,63]	0,038*
Observance			
Mauvaise		I	
Bonne	0,27	[0,14-0,51]	0,0001***
Site			
HR		I	
WA	0,58	[0,33-1,03]	0,064

Les variables ayant un $p < 0,25$ à l'analyse bivariée de la régression logistique ont été retenues pour le modèle multivarié. Ensuite nous avons appliqué la procédure de pas à pas descendant AIC ((Akaike Information Criteria) pour retenir le meilleur modèle.

La durée ≤ 100 mois a été associée à une augmentation de l'échec thérapeutique, statistiquement significatif.

Une bonne observance a été associée à une diminution de l'échec thérapeutique, statistiquement significatif.

Le site Walé a été associé à une diminution de l'échec thérapeutique par rapport à l'HR mais statistiquement non significatif.

DISCUSSION

6. DISCUSSION

6.1. Limites de notre étude

Notre étude fait suite à un processus d'évaluation de l'échec virologique chez des patients infectés par le VIH-1 sous traitement ARV de plus de 6 mois dans la région de Ségou y compris les malades des différents cercles et communes de Ségou se rendant à l'hôpital Nianankoro Fomba pour leur suivi ou leur bilan, tout en élaborant leur suivi virologique (charge virale plasmatique).

Ce test est indispensable dans le suivi biologique des patients infectés par le VIH-1 et sous traitement ARV.

Nous avons réalisé une étude transversale, les données ont été recueillies à partir du dossier des patients et compléter par le logiciel ESOPE. C'est une étude qui a porté sur 365 patients suivis dans la région de Ségou y compris quelques cercles.

Très vite nous avons été confrontés à des problèmes tels que :

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

Ces problèmes énumérés ci-dessus ont été des facteurs qui ont contribué à limiter la taille de notre échantillon.

Dans notre étude, nous nous sommes basés sur la mesure de la charge virale, le taux de CD4 et des données biologiques recueillies sur la fiche de demande de la charge virale et /ou dans les dossiers de différents malades aussi souvent compléter par le fichier Esope des malades dans les différentes structures.

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 aux niveaux national et sous-régional. Elle a été entièrement réalisée sur place au Mali [64].

Le fait que des codes d'erreurs sont apparus au cours de nos manipulations techniques, cela pourrait s'expliquer par des défauts de manipulations pendant l'extraction manuelle et ou par une quantité de plasma insuffisante.

La technique Abbott est une technique très sensible avec une limite inférieure de détection de 40 copies/ml et 10^7 copies/ml comme limite supérieure de détection.

Les mesures des lymphocytes T CD4+ sont les moyens utilisés pour les réponses cliniques et immunitaires aux traitements antirétroviraux, la charge virale permet de mesurer l'efficacité virologique des traitements et permet aussi de prévenir le développement de la résistance aux traitements ARV.

Ces tests sont de plus en plus disponibles de nos jours particulièrement au Mali. Les nouvelles recommandations de l'OMS parues en septembre 2015 recommandent fortement le traitement pour tous quel que soit le niveau de lymphocytes T CD4+ et de l'âge. Dans ce cas la prise en charge des patients sur le plan virologique deviendrait cruciale.

Pour limiter les échecs virologiques croissants et l'émergence des virus résistant aux ARV sur une large échelle dans les pays en développement, il serait donc important de mettre l'accent sur le suivi biologique (charge virale), et de renforcer la capacité de nos laboratoires comme cela l'a été pour l'accès aux traitements ARV.

Dans notre pays des efforts considérables ont été fournis par les autorités nationales et les partenaires techniques et financiers pour la mise en place des tests de charge virale dans plusieurs laboratoires en dehors de la capitale Bamako (Kayes, Sikasso, Ségou.)

L'usage des ARV dans le traitement de l'infection à VIH a montré une réduction significative de la mortalité et de la morbidité liées au VIH dans les pays industrialisés ou la pandémie du VIH-1 de sous-type B avec une prévalence de moins de 10% [65].

Il est clairement démontré que malgré tous les efforts mis en place, les patients en Afrique démarrent tardivement les traitements ARV et cela pourrait avoir un impact sur la mortalité et la morbidité liées au VIH.

Les études de comparaison des méthodes de quantification des tests de charge virale sont très peu ou pas réalisées dans les pays à ressources limitées et particulièrement en Afrique où il y a une diversité génétique très importante de VIH.

L'usage des ARV, et les tests de charge virale de plus en plus disponibles dans le traitement de l'infection à VIH ont 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 troisième (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.

Le nouveau rapport de l'OMS publié en septembre 2015 demande de traiter tous les patients quel que soit le stade clinique de l'OMS, dans ce cas le suivi biologique (la mesure de la charge virale) devient extrêmement important, car il permettra de savoir si le traitement réussit ou pas, ainsi minimiser l'apparition des nouvelles infections grâce au contrôle de la charge virale et, ceci vient notamment appuyer la dernière prévision de l'ONUSIDA d'ici 2030 sur les trois quatre-vingt-dix pour cent, qui est de rendre la charge virale indétectable pour tous. Pour tous les échantillons, les charges virales ont été effectuées par la technique d'Abbott, « Abbott Real Time HIV-1 Quantitative Assay™ » au laboratoire de l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou, avec des kits 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 du protocole 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 [61].

6.2. Manipulations au laboratoire « Technique Abbott »

Le déroulement des manipulations techniques pour les séries de 25, 50, et 52 échantillons a été d'abord utilisé pour vérifier la possibilité d'utilisation de 2 ou de 4 échantillons en plus.

Mais l'intérêt majeur est l'utilisation des séries de 48, 50 et 52 échantillons puisque cette procédure nous a permis un gain de plaque optique et de contrôle négatifs ou positifs. En effet en procédant ainsi, nous utilisons une plaque optique et un jeu de contrôle négatif et positif au lieu de 2 plaques optiques et de 2 jeux de contrôle négatifs et positifs pour une série de 24 à 26 échantillons et pour le même nombre d'échantillons. Aussi les 3 places qu'auraient occupées les contrôles lors de la seconde manipulation de 24 échantillons pouvaient alors être attribuées à trois 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 [52].

6.3. Caractéristiques sociodémographiques, immunologiques et virologiques

❖ Sexe

Nous avons constaté une prédominance féminine soit 72%.

Ce résultat est comparable à celui de la féminisation de l'infection à VIH en Afrique et plus particulièrement au Mali où les femmes représentent 1,3% du taux d'infection [4].

Une forte prévalence des femmes a aussi été trouvée par KEITA A. dans leur étude sur les motifs des changements de traitements antirétroviraux chez les adultes vivants avec le VIH et le SIDA, soit 78,4 % de leur population d'étude [66].

Ce taux élevé du sexe féminin s'explique d'une part, par leur plus grande susceptibilité physiologique à contracter les infections et d'autre part du fait que les femmes prédominent dans la population générale mais aussi par certaines pratiques de la société malienne (polygamie...).

❖ Âge

La moyenne d'âge était de 40 ans avec des extrêmes de 17 et 69 ans. Les classes d'âge (25-34), (35-44) et (>45 ans) étaient majoritaires avec respectivement 24,40% ; 31,20% et 38,60%. Ce résultat est comparable à celui de KIBANGO au Congo [67] qui a obtenu dans son étude sur l'évolution clinique et biologique des patients sous ARV, une classe d'âge majoritaire de 29 à 51ans avec des extrêmes de 15 à 67 ans ; et aussi similaire à celui de COULIBALY B.S. qui a obtenu une moyenne d'âge de 36 ans avec des extrêmes de 18 et 68ans. Les classes d'âge (25-34) et (35-44) étaient majoritaires avec respectivement 38,8% et 27,1% [68]. Ces tranches d'âge correspondent aux couches les plus sexuellement actives de la population [69].

❖ Le statut matrimonial

Dans notre étude les patients mariés étaient majoritaires à 70%. Ce résultat est comparable avec celui de COULIBALY B.S. qui a 69,10% de sujet marié [70] , et aussi pour SANOGO M. qui a rapporté 62,4% de sujet marié.

❖ **Stade clinique**

Ainsi nous avons constaté que 48% de notre population d'étude appartenaient au stade clinique III de l'OMS. Ceci traduit alors le dépistage tardif des patients, la plupart se traitant chez des tradithérapeutes, les paramédicaux ambulants et ne se présentant dans les hôpitaux qu'en dernier recours après avoir parcouru sans succès plusieurs méthodes de traitement. Ce résultat est comparable avec celui de KANTE D. qui a obtenu une fréquence de 71,18% de patients initiés en stade III [66].

❖ **Taux de CD4**

À l'inclusion, 45% des patients étaient à un niveau d'immunodépression sévère avec un taux de CD4 < 200 cellules / μ l. Cette sévère lymphopénie CD4 serait essentiellement due à un dépistage tardif. Ce déficit immunitaire marqué a été observé par DIABY D. [71] en Côte d'Ivoire et MAIGA O.I. [72] qui ont rapporté respectivement 75% et 56,4%.

❖ **Charge virale**

Notre étude nous a rapporté 83% de succès thérapeutiques.

Laurent et col ont trouvé 80% après 6 mois de traitement [64].

Ceci montre l'efficacité du traitement ARV du point de vue virologique d'autant plus que la montée des CD4 est corrélée à la baisse de la charge virale (évolution en miroir).

Sur les 365 patients de notre étude, 303 patients avaient une charge virale supprimée < 1000copies/ ml soit 83 % et 62 patients en échec thérapeutique d'une charge virale > 1000copies /ml. contrairement à Gora et al qui ont trouvé 56,2% de charge virale supprimée et 31,2% non supprimée [73].

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 face à une CV comprise entre 40-1000 copies/ml et cela pour éviter de prendre en compte les blips [6].

En Europe et aux États-Unis tous les patients qui sont entre 40-1000 copies/ml (ce qui représente 33.42% de notre échantillon) sont considérés comme des échecs virologiques.

Les recommandations de ces pays préconisent d'intervenir dès que la charge virale est supérieure à 40 copies/ml ou de changer de traitement après évaluation de l'observance [74].

❖ **La durée du traitement ARV**

La moyenne de la durée de traitement sous ARV était de 48 mois, nos patients avaient une expérience sous ARV largement supérieure à ceux de PODSADECKI., et all qui ont trouvé une moyenne de 43 mois [58].

❖ **Traitement ARV**

La majorité des patients de cette étude étaient traités à base des combinaisons contenant 2 INTI associés à un INNTI (83%), ou à un IP (17%). La combinaison à fixe dose TRIODAY® (TDF+3TC+EFV) a été prescrit comme traitement de 1ère ligne chez 78.1% de nos patients.

D'autres combinaisons contenant 2INTI+1INNTI ont été retrouvées chez nos patients : AZT+3TC+EFV (1.1%) ; AZT+3TC+NVP (1,9%) ; ABC+3TC+EFV (0,8%) ; ABC+3TC+NVP (0.3%) ; TDF+3TC+NVP (0.8%).

Quant aux schémas de deuxième ligne, le régime Kivexa-Kaletra® (ABC+3TC+LPV/r) était le plus prescrit chez nos patients avec 8.2% suivi d'ABC+3TC+ATV et de TDF+3TC+LPV/r qui sont chacun de 2,5%.

Ces schémas sont en accord avec les nouvelles recommandations de la politique nationale du Mali de juillet 2010 et celles de l'OMS de novembre 2010. Thiam et al. Ont trouvé que la combinaison 2INTI+1INNTI était le plus observé (89,7%).

CONCLUSION

7. CONCLUSION

Nous avons mené une étude sur trois cent soixante-cinq (365) patients infectés par le VIH-1 ayant demandé un test de charge virale plasmatique dans notre laboratoire après au moins six mois de traitement ARV quel que soit leur schéma thérapeutique (1^{ère} ligne ou 2^{ème} ligne). Ses patients nous provenaient de la région de Ségou et d'autres cercles comme BLA, SAN, BRAOUELI, MACINA, NIONO, TOMINIAN.

Notre étude a concerné les sujets adultes masculins et féminins infectés par le VIH-1 sous TARV d'au moins 6 mois.

Le traitement antirétroviral a significativement réduit la mortalité et la morbidité des patients infectés par le VIH aussi bien dans les pays développés que dans les pays à ressources limitées. Sur les trois cent soixante-cinq (365) patients, cent quatre-vingt-un (303) sont indétectables selon la politique du Mali, soixante-deux (62) en échec.

La bonne observance a été associée à une diminution de l'échec thérapeutique statistiquement significatif alors que ceux qui sont à une durée de traitement ARV ≤ 100 mois ont été associés à une augmentation de l'échec thérapeutique statistiquement significatif.

Ces données nous montrent qu'il est donc important d'étendre le suivi des patients infectés par le VIH par les tests de charge virale.

Votre charge virale vous donne une idée de l'activité du VIH dans votre corps. Puisque la quantité de VIH dans votre sang change, il est nécessaire de mesurer régulièrement votre charge virale. Les résultats du test de charge virale permettent de prendre des décisions importantes au sujet de votre traitement ARV, comme le moment d'entreprendre un traitement ou de changer vos médicaments.

RECOMMANDATIONS

8. RECOMMANDATIONS

Au terme de notre étude, et au vu de nos résultats, nous formulons des recommandations suivantes :

Aux cliniciens

- ✚ Une meilleure organisation de la gestion des patients en matières de traitement antirétroviral, de suivi biologique (charge virale plasmatique), et de suivi de l'observance au traitement, respecter les recommandations de la politique nationale de prise en charge des patients infectés par le VIH.

Aux pharmaciens et biologistes

- ✚ Améliorer la communication avec les prescripteurs,
- ✚ De rendre les résultats des patients le plus tôt que possible en vue d'une éventuelle prise de décision rapide comme le recommande le groupe d'expert en virologie réuni à SALY pour l'atelier de RESAPSI en 2014.

Aux autorités sanitaires et administratives

- ✚ Rendre les moyens disponibles (ressources humaines, matérielles, financières) pour la continuité et la vulgarisation des tests de charge virale plasmatique et également des tests de séquençage,
- ✚ Faciliter l'accès des tests de charge virale plasmatique aux patients à l'inclusion, et sous traitement antirétroviral,
- ✚ Assurer la disponibilité permanente des analyses de charge virale plasmatique,
- ✚ Identifier un ou des laboratoires de référence pour la réalisation des analyses de CV même en cas de rupture dans les autres sites.

Aux partenaires techniques et financiers

- ✚ Appuyer les laboratoires et les institutions de recherche,
- ✚ Restaurer formation continue en biologie moléculaire du personnel, la mise en place interne, et externe du contrôle de qualité,
- ✚ Encourager ce type d'étude.

Aux patients

- ✚ Etre courageux, réguliers au rendez-vous,
- ✚ Informer le plus vite possible le soignant de tout effet indésirable sans l'interruption du traitement.

Aux Hôpitaux

- ✚ Améliorer l'accueil des PVVIH au sein des hôpitaux,
- ✚ Organiser des groupes de paroles pour les PVVIH,
- ✚ Mettre à disposition des agents psycho-sociaux parmi les associations de PVVIH.

REFERENCES

9. REFERENCES

1. **OMS. OMS | VIH/sida [Internet]. WHO World Health Organization; 2018.** [cited 2019 Feb 13]. Available from: https://www.who.int/topics/hiv_aids/fr/
2. **Lurton G. Les perdus de vue de la région de Ségou, au Mali [Internet].** [cited 2019 Feb 13]. Available from: <https://solthis.org/wp-content/uploads/2015/10/15.-Les-perdus-de-vue-de-la-region-de-Segou-au-Mali.pdf>
3. **OMS. Fiche d'information — Dernières statistiques sur l'état de l'épidémie de sida [Internet].** Jan 10, 2017. Available from: <http://www.unaids.org/fr/resources/fact-sheet>
4. **CPS/SSDSPF. Enquête Démographique et de Santé au Mali 2012-2013 [Mali DHS 2012-2013] [Internet].** 2014 [cited 2019 Feb 13]. Available from: <http://www.dhsprogram.com>.
5. **Espérance de vie prolongée pour les personnes séropositives en Amérique du Nord | CATIE - La source canadienne de renseignements sur le VIH et l'hépatite C [Internet].** [cited 2019 Feb 15]. Available from: <https://www.catie.ca/fr/traitementactualites/traitementsida-200/agents-anti-vih/esperance-vie-prolongee-les-personnes-seropositive>
6. **Hamar P, Traore A, Traore B. Politique et protocoles de prise en charge antirétrovirale du VIH et du SIDA 351 0000 0003 [Internet]. Mali; 2010 [cited 2019 Feb 13].** Available from: <http://preventcrypto.org/wp-content/uploads/2015/10/MaliARTguidelines20131413102690.pdf>
7. **ONUSIDA. La CROI montre l'importance des objectifs 90-90-90 | ONUSIDA [Internet].** Aug 11, 2017. Available from: http://www.unaids.org/fr/resources/presscentre/featurestories/2017/february/20170221_CROI
8. **A.Blanc, F.Boue, M.L'henaff, M.Guillon, G.Molinier, F.Pilorege, I.Poizot-Martin, F.Thune.** Suivi de l'adulte vivant avec le VIH et organisation des soins [Internet]. 2018 [cited 2019 Feb 18]. Available from: https://cns.sante.fr/wp-content/uploads/2018/05/experts-vih_suivi.pdf
9. **Marcelin AG1, Jarrousse B, Derache A, Ba M, Dakouo ML, Doumbia A, Haidara I, Maïga A, Carcelain G, Peytavin G, Katlama C, Calvez V.** HIV drug resistance after the use of generic fixed-dose combination stavudine/lamivudine/névirapine as standard first-line regimen. [Internet]. 2007 nov 12 [cited 2019 jul 09]; 21 (17) pp: 2341-2343; Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18090283>.
10. **M. Drabo, M. Traoré, A. Malle, A. Keita, K. Sogoba, I. Sogodogo and AI. Maiga.** Profil des patients en échec thérapeutique de première ligne ARV au Centre de Traitement Ambulatoire (CTA) de l'ONG Walé, Ségou, Mali publié par la 7^{ème} Conférence Internationale Francophone sur le VIH et les Hépatites. AFRAVIH; 2014 [cité le 09/07/2019], Montpellier disponible sur: http://react-profile.org/ebook/AFRAVIH/programme_final/files/assets/common/downloads/AFRAVIH%202014_for%20Programme%20Final.pdf

11. **BRUNO M. Je connais les 3 phases de l'évolution naturelle de l'infection au VIH - Docvadis** [Internet]. Le site du Docteur Bruno MASI Nov 8, 2017. Available from: <https://www.docvadis.fr/bruno-masi/mon-guide-medical/infectiologie/je-connais-les-3-phases-de-l-evolution-naturelle-de-l-infection-au-vih>
12. **Historique du VIH [Internet]. [cited 2019 Feb 13].** p. 1,2,3. Available from: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://www.unilu.ac.cd/wp-content/uploads/2015/12/historique.pdf>
13. **Un historique du VIH et du sida [Internet]. [cited 2019 Feb 13].** Available from: http://www.reseausidami.quebec/media/cms_page_media/127/catie_historique.pdf
14. **INFECTION A VIH ET SIDA INFORMATIONS [Internet]. [cited 2019 Feb 13].** Available from: http://www.unaids.org/barcelona/presskit/french/barcelona-report/contents_html.html
15. **Virus de l'immunodéficience humaine [Internet]. Wikipédia Aug 3, 2017. [cited 2019 Feb 13].** Available from: https://fr.wikipedia.org/w/index.php?title=Virus_de_l%27immunod%C3%A9ficience_humaine&oldid=138789999
16. **CATIE. Cycle de réplication virale du VIH [Internet]. [cited 2019 Feb 13].** Available from: <https://www.catie.ca/ga-pdf.php?file=sites/default/files/viral-replication-slides-fre.pdf>
17. **Un exemple de Retrovirus : le VIH -genie -bio.ac-versailles [Internet]. [cited 2019 Feb 13].** Available from: www.genie-bio.ac-versailles.fr/resources/viro/HI.ppt
18. **Jean-Marie H, Jean-Claude N, Henri A, Hélène P-L. Traité de virologie médicale - 9782843712036 Estem, Bactériologie - Virologie [Internet].** 20th ed. ESTEM, editor. Paris; 2003 [cited 2019 Feb 13]. Available from: https://www.unitheque.com/Livre/estem/Traite_de_virologie_medicale-2722.html
19. **B-S F. Virologie fondamentale de l'infection à VIH.** struture p. DOIN, editor. Paris; 3-9 p.
20. **Arhel NJ, Souquere-Besse S, Munier S, Souque P, Guadagnini S, Rutherford S, et al. HIV-1 DNA Flap formation promotes uncoating of the pre-integration complex at the nuclear pore. EMBO J [Internet].** 2007 Jun 20 [cited 2019 Feb 12];26(12):3025–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17557080>
21. **Bukrinskaya AG. HIV-1 assembly and maturation. Arch Virol [Internet].** 2004 Jun 1 [cited 2019 Feb 13];149(6):1067–82. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00705-003-0281-8>
22. **GAEL VIDRICAIRE. Étude des étapes précoces du cycle de réplication du virus d'immunodéficience humaine de type 1 dans les cellules trophoblastiques: vers une compréhension de la transmission materno-foetale. 2006 [cited 2019 Feb 13];25.** Available from: <https://www.collectionscanada.gc.ca/obj/s4/f2/dsk3/QQLA/TC-QQLA-23548.pdf>

23. **LJA. actu HIV infection and cells susceptible to HIV infection ;**AS Washing. 1998.
24. **Quels sont les modes de transmission du VIH ?** [Internet]. [cited 2019 Feb 13]. Sida Info Service Mar 20, 2015. Available from: <https://www.sida-info-service.org/generalites-sur-la-transmission-du-VIH>.
25. **Plantier J-C, Leoz M, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, Lemée V, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas.** *Nat Med* [Internet]. 2009 Aug 2 [cited 2019 Feb 13];15(8):871–2. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19648927>
26. **Bocket L, Cheret A, Deuffic-Burban S, Choisy P, Gerard Y, de la Tribonnière X, et al. Impact of human immunodeficiency virus type 1 subtype on first-line antiretroviral therapy effectiveness.** *Antivir Ther* [Internet]. 2005 [cited 2019 Feb 13];10(2):247–54. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15865219>
27. **Brenner BG, Routy J-P, Petrella M, Moisi D, Oliveira M, Detorio M, et al. Persistence and fitness of multidrug-resistant human immunodeficiency virus type 1 acquired in primary infection.** [Internet]. [cited 2019 Feb 13]. *Journal of virology*. 2002. p. 1753–61. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11799170>.
28. **HIV Circulating Recombinant Forms (CRFs).** [cited 2019 Feb 13]. Disponible sur: www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs.html [Internet]. Available from: [files/239/Pnads111.pdf](http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs.html)
29. **Classification de l’OMS et du CDC des stades cliniques du VIH.** [cited 2019 Feb 13]; Available from: https://pdf.usaid.gov/pdf_docs/Pnads111.pdf
30. **CLASSIFICATION DES MANIFESTATIONS CLINIQUES ET ANOMALIES BIOLOGIQUES** [Internet]. [cited 2019 Feb 13]. Available from: [https://www.chu-clermontferrand.fr/Documents/file/CoreVIH/Onglet PRISE EN CHARGE/Protocoles de soins à l’attention des professionnels/CLASSIFICATION-DES-MANIFESTATIONS-CLINIQUES-ET-ANOMALIES-BIOLOGIQUES.pdf](https://www.chu-clermontferrand.fr/Documents/file/CoreVIH/Onglet%20PRISE%20EN%20CHARGE/Protocoles%20de%20soins%20à%20l%27attention%20des%20professionnels/CLASSIFICATION-DES-MANIFESTATIONS-CLINIQUES-ET-ANOMALIES-BIOLOGIQUES.pdf)
31. **Roquebert B, Damond F, Brun-Vézinet F, Descamps D. Diversité génétique des VIH et ses conséquences.** *Pathol Biol* [Internet]. 2009 Mar [cited 2019 Feb 13];57(2):142–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18511216>
32. **Calvez V, Gautheret-Dejean A. Virologie médicale et infection VIH.** 2011th ed. 2011. 13-25 p.
33. **BOGARD M, LAMORIL J, AMEZIANE N. Biologie moléculaire et biologie clinique: Méthodes.** Elsevier, editor. Paris; 1998.
34. **Holodniy M, Katzenstein DA, Sengupta S, Wang AM, Casipit C SD et al., Holodniy M, Katzenstein DA, Sengupta S, Wang AM, Casipit C, et al. Detection and quantification of human immunodeficiency virus RNA in patient serum by use of the polymerase chain reaction.** [Internet]. Vol. 163, *The Journal of infectious diseases*. *J Infect Dis.*; 1991 [cited 2019 Feb 13]. 862-6 p. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2010639>
35. **Cavé H, Acquaviva C, Bièche I, Brault D, de Fraipont F, Fina F, et al. [RT-PCR**

- in clinical diagnosis]. *Ann Biol Clin (Paris)* [Internet]. [cited 2019 Feb 15];61(6):635–44. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14711604>
36. **World Health Organization. Lignes directrices unifiées relatives à l'utilisation de médicaments antirétroviraux pour le traitement et la prévention de l'infection à VIH. Dernières informations** [Internet]. 2015 [cited 2019 Feb 13]. Available from: www.who.int.
37. **DIAWARA M. Résistance aux antirétroviraux chez les patients i infectés par le VIH-1 et sous traitement de première ligne a près au moins 36 mois »,** université des sciences techniques et technologiques de Bamako. USSTTB; 2013.
38. **Skowron G, Ogden RC. Reverse transcriptase inhibitors in HIV/AIDS therapy.** Humana Press; 2006. 527 p.
39. **Johnson AA, Ray AS, Hanes J, Suo Z, Colacino JM, Anderson KS, et al. Toxicity of Antiviral Nucleoside Analogs and the Human Mitochondrial DNA Polymerase.** *J Biol Chem* [Internet]. 2001 Nov 2 [cited 2019 Feb 13];276(44):40847–57. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11526116>
40. **Lalezari JP, Latiff GH, Brinson C, Echevarría J, Treviño-Pérez S, Bogner JR, et al. Safety and efficacy of the HIV-1 attachment inhibitor prodrug BMS-663068 in treatment-experienced individuals: 24 week results of AI438011, a phase 2b, randomised controlled trial.** *Lancet HIV* [Internet]. 2015 Oct [cited 2019 Feb 13];2(10):e427–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26423650>
41. **Margolis L, Shattock R. Selective transmission of CCR5-utilizing HIV-1: The “gatekeeper” problem resolved?** [Internet]. Vol. 4, *Nature Reviews Microbiology*. 2006 [cited 2019 Feb 13]. p. 312–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16541138>
42. **Greenberg ML, Cammack N. Resistance to enfuvirtide, the first HIV fusion inhibitor.** *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2004 Jul 1 [cited 2019 Feb 13];54(2):333–40. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15231762>
43. **Lataillade M, Kozal MJ. The Hunt for HIV-1 Integrase Inhibitors.** *AIDS Patient Care STDS* [Internet]. 2006 Jul [cited 2019 Feb 13];20(7):489–501. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16839248>
44. **Affiche-ARV.** [cited 2019 Feb 13]; Available from: <http://www.actions-traitements.org/wp-content/uploads/2014/06/Affiche-590-x-630.pdf>
45. **Sax PE, Zolopa A, Brar I, Elion R, Ortiz R, Post F, et al. Tenofovir Alafenamide Vs. Tenofovir Disoproxil Fumarate in Single Tablet Regimens for Initial HIV-1 Therapy.** *JAIDS J Acquir Immune Defic Syndr* [Internet]. 2014 Sep 1 [cited 2019 Feb 13];67(1):52–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24872136>
46. **Kramer VG, Hassounah S, Colby-Germinario SP, Oliveira M, Lefebvre E, Mesplede T, et al. The dual CCR5 and CCR2 inhibitor cenicriviroc does not redistribute HIV into extracellular space: implications for plasma viral load and intracellular DNA decline.** *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2015 Mar 1 [cited

- 2019 Feb 13];70(3):750–6. Available from:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25433008>
47. **Chong H, Yao X, Zhang C, Cai L, Cui S, Wang Y, et al. Biophysical property and broad anti-HIV activity of albuvirtide, a 3-maleimidopropionic acid-modified peptide fusion inhibitor. PLoS One [Internet]. 2012 [cited 2019 Feb 13];7(3):e32599. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22403678>**
48. **OMS. OMS | Trois médicaments contre le SIDA seront retirés de la liste des produits présélectionnés cette semaine. WHO [Internet]. 2010 [cited 2019 Feb 13]; Available from: <https://www.who.int/mediacentre/news/releases/2004/pr53/fr/>**
49. **Greder Belan A, Chaplain C, Boussairi A. Suivi biologique de l'infection à VIH chez l'adulte. Immuno-analyse Biol Spécialisée [Internet]. 2008 Apr [cited 2019 Feb 15];23(2):95–102. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0923253208000501>**
50. **OMS | Récapitulatif des nouvelles recommandations. WHO [Internet]. 2014 [cited 2019 Feb 18]; Available from: <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/intro/rag/fr/index5.html>**
51. **BONNET CHU Bordeaux Françoise BRUN-VEZINET CHU Bichat-Claude Bernard F, DELOBEL CHU Toulouse Albert FAYE CHU Robert Debré P, Hugues FISCHER TRT- P, Up A, Cécile GOUJARD CHU Bicêtre P, Kremlin-Bicêtre L, et al. Prise en charge des situations d'échec virologique [Internet]. [cited 2019 Feb 18]. Available from: https://cns.sante.fr/wp-content/uploads/2017/01/experts-vih_echec.pdf**
52. **G B. Implémentation de la PCR en temps réel pour la mesure de la charge virale plasmatique du VIH-1 au laboratoire de biologie moléculaire du CHU Yalgado Ouédraogo(CHUYO) de Ouagadougou, Burkina Faso. 2007.**
53. **Bastard J, Chambert S, Ceppa F, Coude M, Grapez E, Loric S, et al. Les méthodes d'extraction et de purification des ARN. Service de Biochimie et de génétique moléculaire. Hôpital Co. Paris; 1998. 8 p.**
54. **Cissé C. Division Moléculaire Abbott, Afrique de l'Ouest et Centrale. Vue d'ensemble du module m2000rtNo Title. Kinshasa 10-13 Mars; 2008.**
55. **C T, J C. Quantification des acides nucléiques par PCR quantitative en temps réel. [Internet]. Vol. 61, Annales de Biologie Clinique. Elsevier; 2003 [cited 2019 Feb 13]. 279-293 p. Available from: https://www.jle.com/fr/revues/abc/e-docs/quantification_des_acides_nucleiques_par_pcr_quantitative_en_temps_reel__261839/article.phtml**
56. **Gazzola L, Tincati C, Bellistri GM, d'Arminio Monforte A, Marchetti G. 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 [Internet]. 2009 Feb 1 [cited 2019 Feb 13];48(3):328–37. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19123868>**
-

57. **Hunt PW, Martin JN, Sinclair E, Bredt B, Hagos E, Lampiris H, et 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** [Internet]. Vol. 187, The Journal of Infectious Diseases. 2003 [cited 2019 Feb 13]. Available from: <https://pdfs.semanticscholar.org/db37/6f77d743654ca15d20ce69de0c4eac8665c2.pdf>
58. **Podsadecki TJ, Vrijens BC, Tousset EP, Rode RA, Hanna GJ. Decreased Adherence to Antiretroviral Therapy Observed prior to Transient Human Immunodeficiency Virus Type 1 Viremia. J Infect Dis** [Internet]. 2007 Dec 15 [cited 2019 Feb 13];196(12):1773–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18190257>
59. **Grover D, Allen L, Edwards S, Green H, Copas A, Forsyth S, et al. Predictors of death, and response to therapy in patients with multi (three)-class drug resistant (MDR) HIV in the UK. Antivir Ther (pp S7 - S7) INT Med Press LTD** [Internet]. 2005 [cited 2019 Feb 18]; Available from: <http://discovery.ucl.ac.uk/145032/>
60. **Maiga AI. Caractérisation des bases moléculaires de la résistance des virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) de sous-type non-B aux antirétroviraux** [Internet]. <http://www.theses.fr>. Paris 6; 2010 [cited 2019 Feb 13]. Available from: <http://www.theses.fr/2010PA066304>
61. MALI Un Peuple -Un But-Une Foi ----- R DU. |**Annuaire Statistique 2016 des Ressources Humaines du secteur Santé, Développement Social et Promotion de la Famille** [Internet]. [cited 2019 Feb 15]. Available from: <http://www.drh.sante.gov.ml/docs/Annuaire-Statistique-2016-VF.pdf>
62. **Walé ONG. Plan Strategique.**
63. **Guide abrégé de preparation manuelle des échantillons pour les dosages Abbott RealTime HIV-1/HCV.**
64. **Laurent C, Kouanfack C, Koulla-Shiro S, Nkoué N, Bourgeois A, Calmy A, et al. Effectiveness and safety of a generic fixed-dose combination of nevirapine, stavudine, and lamivudine in HIV-1-infected adults in Cameroon: open-label multicentre trial. Lancet** [Internet]. 2004 Jul [cited 2019 Feb 13];364(9428):29–34. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15234853>
65. **Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining Morbidity and Mortality among Patients with Advanced Human Immunodeficiency Virus Infection. N Engl J Med** [Internet]. 1998 Mar 26 [cited 2019 Feb 13];338(13):853–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9516219>
66. **Kanté ID. Profil immunologique et thérapeutique des patients adultes VIH + à l'initiation et au traitement ARV de juin 2010 à juin 2013 au CHU Gabriel Touré de Bamako. USTTB;**
67. **M S, S M, A.A O, O M, R S, E M. Tolérance biologique de laTriomune®**

- (D4T+3TC+NVP) chez les personnes vivant avec le VIH-1 traitées à Sikasso, Mali. 2010** [cited 2019 Feb 14];51. Available from: https://www.researchgate.net/publication/298787013_Tolerance_biologique_de_laTrio_muneR_D4T3TCNVP_chez_les_personnes_vivant_avec_le_VIH-1_traitees_a_Sikasso_Mali
68. **Coulibaly B. Suivi du bilan biologique chez les personnes vivant avec le VIH et le SIDA sous traitement antirétroviral au CESAC de Bamako du 1 janvier 2009 au 31 janvier 2010** [Internet]. USTTB; 2010 [cited 2019 Feb 18]. Available from: <http://www.keneya.net/fmpos/theses/2010/pharma/pdf/10P62.pdf>
69. **MEDA N.** Epidémiologie de l'infection à VIH dans le Monde et en Afrique Burkina 2012. burkina; 2012.
70. **COULIBALY BS.** Aspects épidémiologiques, cliniques et biologiques du VIH/SIDA avant l'inclusion ARV de JANVIER A DECEMBRE 2010 A L'USAC/CV DE BAMAKO [Internet]. USTTB; 2013 [cited 2019 Feb 13]. Available from: <http://www.keneya.net/fmpos/theses/2013/med/pdf/13M229.pdf>
71. **DIABY D.** Evaluation de l'efficacité immuno-virologique des traitements antirétroviraux en usage dans trois centres accrédités de Cote d'Ivoire, bilan de 36 mois de prescription. 2002.
72. **Maiga O.** ETUDE DE QUELQUES PARAMETRES BIOLOGIQUES CHEZ LES PERSONNES VIVANT AVEC LE VIH TRAITES AVEC L'ASSOCIATION (D4T+3TC+ NVP), A L'HOPITAL DE SIKASSO ET AU CERKES [Internet]. UNIVERSITE DE BAMAKO; 2008 [cited 2019 Feb 14]. Available from: <http://www.keneya.net/fmpos/theses/2009/pharma/pdf/09P59.pdf>
73. **[Lô G, Diawara P, N'Dèye C, M'Boup S.** Efficacité virologique du traitement antirétroviral dans un contexte de moyens limités, expérience d'un Hôpital décentralisé de Dakar. [Addis ABABA 2011]; 2011.
74. **Yeni.P** Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH.Recommandation du groupe d'experts.Pdf [Internet]. Rapport 2010 [cited 2019 Feb 13]. p. 2,33. Available from: www.sante.gouv.fr

ANNEXES

10. ANNEXES

Fiche de renseignement

Nom : _____ Prénom : _____ Age : _____

Sexe : F M Provenance : _____

Profession : _____ n° fuchia :

Statut : Marie(e) Célibataire Veuf(ve)

Statut du conjoint : Positif Négatif

Stade clinique : I II III IV

Traitement : 1ere ligne 2eme ligne 3eme ligne

Schéma 1er ligne actuel :

Schéma 2eme ligne actuel :

Autre traitement ARV reçu (antérieurs) :

Durée du traitement en mois : 1ere ligne 2eme ligne

Infection opportuniste : Oui Non

Suivi biologique :

Charge virale : Oui Non

Valeur de la c v : Antérieure Récente

CD4 : Oui Non

Valeur de la CD4 : Antérieure Récente

Observance : Oui Non

Si non le problème à évoquer :
.....
.....
.....

Effet secondaire : Oui Non

Molécule à signaler :

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Ministère de la Santé

Hôpital Nianankoro Fomba de Ségou

Tel :21 320 051/21 320 866 Fax :21 321 866

hopitalfonba@yahoo.fr



République du Mali

Un Peuple-Un But-Une Foi

Demande de Numération Lymphocytaire CD4

Date de prescription : /...../.....

Nom :

Prénom :

Age :ou

date de Naissance :/...../.....

Sexe

Profession :

Lieu de Résidence

Statut Matrimonial :

Site Prescripteur : HR CSR Famory walé Aprofem Autre

Médecin prescripteur.....

Identifiant FUCHIA :/...../.....

Date de dépistage VIH :/...../..... Type : VIH1 VIH2

Traitement ARV : Oui Non ligne thérapeutique reçue :

Nom PTME

Suivi CD4 J0 M6 M12 M18 M24 M30 Autre

Résultats : Lymphocytes totaux : % total leucocytes :

Lymphocytes CD4 (%):

Lymphocytes CD8 (%):

Lymphocytes CD3 (%):

Rapport CD4/CD8 :

Rapport CD4/CD3 :

Commentaires :

.....

.....

.....

Plasmathèque : oui Nom

Boite N° :

Tube N°1 :

Tube N°2 :

Validé le :

Le chef du Laboratoire

Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitements ARV à Ségou au Mali.

Ministère de la Santé

Hôpital Nianankoro Fomba de Ségou

Tel :21 320 051/21 320 866 Fax :21 321 866

hopitalfonba@yahoo.fr



République du Mali
Un Peuple-Un But-Une Foi

CHARGE VIRALE DU VIH-1

Patient
Nom.....
Prénom.....
AGE.....
Sexe : M O F O N°FUCHIA.....

Prescripteur
Centre.....
Nom.....
Plasmathèque.....

Date de la Demande :

date de Prélèvement

RESULTATS SEROLOGIE : Date
Dernière num CD4 Date

Prélèvement : 1tube EDTA 7 ml (bouchon violet)
Typage O VIH-1 O VIH-2 O VIH-1+2
CD4/mm3 :Soit en%.....

MOTIF DE LA DEMANDE

- Suivi thérapeutique
- Grossesse (PME)
- Autre à préciser

- Premier bilan
- Suspicion de primo-infection
- Protocole : o non o oui lequel ?

MODIFICATION DU TRAITEMENT

- Non oui si oui ; date
- Motif à préciser
-
-

Fenêtre thérapeutique du ___/___/___ au ___/___/___

TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL EN COURS : non oui Date de début TTT : .../.../....

- | | | |
|--|--|---|
| <input type="checkbox"/> AZT (Retrovir) | <input type="checkbox"/> saquinavir(Inrase) | <input type="checkbox"/> Nevirapine(Viramune) |
| <input type="checkbox"/> DDI (Vdex) | <input type="checkbox"/> Ritonavir (Norvir) | <input type="checkbox"/> Efavirenz (Sustiva) |
| <input type="checkbox"/> 3TC (Epivir) | <input type="checkbox"/> Indinavir (Crixivan) | |
| <input type="checkbox"/> FTC (Emtriva) | <input type="checkbox"/> Nelfinavir (Viracept) | |
| <input type="checkbox"/> ABC (Ziagen) | <input type="checkbox"/> Lopnavir /r (kaletra) | |
| <input type="checkbox"/> D4T (Zerit) | <input type="checkbox"/> Triomune 30mg | |
| <input type="checkbox"/> CBV (Combivir) | | |
| <input type="checkbox"/> TZV (Trizivir) | | |
| <input type="checkbox"/> Tenofovir (Viread)) | | Autre : |

Résultat

Charge virale ARV VIH-1 : _____ copies ARN/ml soit _____ log10

Technique utilisée : NUCLISENS EASY Q

Seuil 25 copies ARV VIH-1/ml –linéarité : 50 à 3.000.000 copies ARV VIH-1/ml

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%. Utiliser du papier buvard pour le nettoyage ;
2. Allumer les bains à sec chauffant : régler le bain des tubes de 12 x 75 mm à 50°C et celui des tubes de 1,5 ml à 75°C ;
3. Décongeler les échantillons, les contrôles, les calibrateurs et le contrôle interne s'ils sont congelés à une température comprise entre 15 et 30°C ou 2 et 8°C (vérifier toujours l'absence de cristaux dans les réactifs, sinon amener les solutions à température ambiante jusqu'à ce qu'ils disparaissent) :
 - Passer les échantillons 3 fois au vortex;
 - Pour les contrôles, les calibrateurs et le contrôle interne, mélanger le contenu des flacons en les passant au vortex et tapoter les flacons afin d'en faire tomber le contenu au fond.
 - Si les échantillons, les contrôles et les calibrateurs ne sont pas immédiatement traités, conserver-les à une température entre 2 et 8°C pendant maximum 6 heures, le contrôle interne pouvant atteindre 24 heures au maximum ;
4. Etiqueter tous les tubes (nombre requis pour la manipulation, de 24 à 52) : pour chaque échantillon, un tube de 12 x 75 mm et un tube 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 mélanger 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 600 µL des échantillons (prélèvements, calibrateurs et contrôles) vers les tubes de lyse;
 - Mélanger les échantillons avec le tampon de lyse par aspiration-refoulement ;(Utiliser des embouts à filtre et changer d'embouts après chaque transfert de liquide)
 - Placer les tubes de lyse dans le bain sec chauffant à 50°C pendant 20 minutes.

9. Retirer les tubes du bain sec chauffant et placer-les dans le support de capture magnétique des tubes de 12 x 75 mm (rouge) pendant 2 mm ;
10. Retirer soigneusement le lysat de chaque tube à l'aide de pipettes pasteur stériles à bout fin. N'ouvrir qu'un tube à la fois, retirer autant de fluide que possible et éviter de toucher les microparticules avec le bout des pipettes pasteur ;
11. Premier lavage Wash 1 : Transférer les tubes de 12 x 75 mm vers un support non magnétique immédiatement après le retrait du tampon de lyse :
 - Ajouter 700 µL de solution **mWash 1** dans chaque tube et remettre les particules magnétiques en suspension par aspiration-refoulement, rincer les particules des parois du tube si nécessaire ;
 - Transférer le liquide de lavage et les particules dans un tube microfuge à bouchon à vis de 1,5 ml étiqueté ;
 - Placer les tubes de 1,5 ml dans un support de capture magnétique (bleu) pendant une minute ;
12. Retirer avec soins la solution de **mWash 1** de chaque tube à l'aide d'embouts de pipettes à filtre. N'ouvrir qu'un tube à la fois et changer d'embouts après tout transfert de liquide ;
13. Second lavage Wash 1 : Transférer les tubes 1,5 ml vers un portoir non-magnétique :
 - Ajouter 700 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 jeter 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 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 ;

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 après avoir 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 éluâts vers les tubes 1.5 ml DNase /RNase free de type Beckmann correspondants en faisant attention à ne pas toucher aux microparticules.

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

Préparation des réactifs d'amplification

Cette étape se déroule au niveau du **secteur 2**.

Changer de gants après l'étape 2.

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

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

2. Préparation du master mix

- Tapoter les flacons sur la paillasse afin d'en faire tomber le contenu au fond ;
- Mélanger par aspiration et ajouter 271 μ L du réactif d'activation VIH-1 (Réactif 1) dans le flacon d'enzyme ADN rTth polymérase thermostable (Réactif 3) puis mélanger ;
- Mélanger par aspiration et ajouter 949 μ L du réactif d'oligonucléotides VIH-1 (Réactif 2) dans le flacon d'enzyme ADN rTth polymérase thermostable (Réactif 3), puis mélanger ;
- 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

- Retirer la base et couvercle "StrataCooler 96" (conserver à -20°C) et Porter de travail en métal pour "StrataCooler 96" (conserver à +4°C) du réfrigérateur et les monter ;
- Placer une plaque de réaction optique à 96 puits Abbott dans le "StrataCooler 96" ;
- 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 ;
- Vérifier visuellement le niveau de remplissage, que 50 µL (et pas plus) ont bien été distribués dans chaque puits et transférer le "StrataCooler 96" avec la plaque à 96 puits dans la zone de préparation des échantillons (Secteur 1).

❖ **Préparation de l'amplification**

Cette étape est réalisée dans le secteur 1.

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 les puits 3 à 5 fois ; utiliser un embout de pipette différent pour chaque transfert d'éluât d'échantillon ;
- Vérifier visuellement le niveau de remplissage (qu'un total de 100 µL et pas plus a bien été distribué dans chaque puits ;
- Sceller la plaque à 96 puits : utiliser un couvercle adhésif optique et fixer-le à l'aide de l'applicateur pour couvercles adhésifs optiques. Ne toucher en aucun cas la surface du film adhésif sinon changer de film adhésif ;
- Séparer les bandes situées sur les bords en utilisant la ligne perforée ;
- Retirer la plaque à 96 puits du "StrataCooler 96" et placer-la sur la base de support anti éclaboussures et transférer vers la zone d'amplification (zone 2).

❖ **Amplification/détection**

- **Amplification**

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

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

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

- **Détection**

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

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

Si des séquences 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 calibreurs 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 (mSample Préparation System).

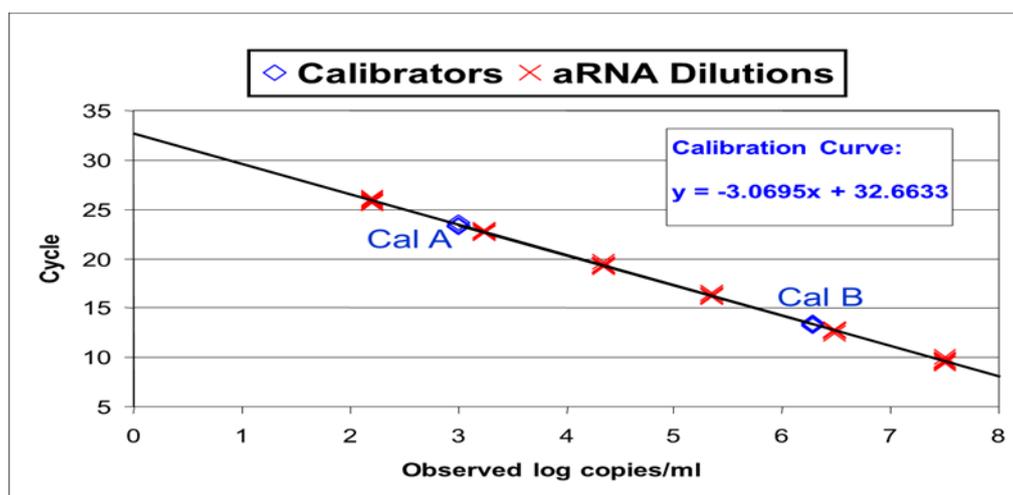


Figure 18: Courbe de calibration du dosage [61].

❖ 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, tapez le nom d'utilisateur et le mot de passe. Dans l'écran principal, cliquez sur <Start> pour lancez 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 calibreurs (si calibration il y'a), contrôle, échantillon patient, ou non utilisé.

- Sélectionner <Orders> (demandes) dans la barre de menu puis <Test Orders> (demandes de dosage), dans le menu <Create Tasks> (créer opérations) de l'écran <Pending Test Orders> (demandes de dosage en attente), sélectionner <New Order> (nouvelle demande). Ensuite sélectionner l'application spécifique devant être utilisée dans la liste <Select Application Specification> qui est "Assay HIV RNA";
- Saisir les informations suivantes:
- <PCR Plate ID>: Identification de la plaque de PCR ;
- <Reagents> : pour <Sample Preparation> (réactifs d'extraction) taper le numéro de lot et la date d'expiration (facultatif) et pour <PCR Assay> (réactifs d'amplification) taper également le numéro de lot et la date d'expiration.

- <Plate Comment> (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 (d'A à H);
- Sélectionner <Next>

2. Démarrez l'amplification et la détection

- Ouvrir le tiroir plateau de l'appareil (m2000rt);
- Retirer la plaque optique du support anti éclaboussures et charger-la dans le portoir de plaque du tiroir plateau de l'appareil;
- Fermer le tiroir et sélectionner <Start> pour lancer l'analyse.

❖ Procédures post-traitement

Zones de préparation des échantillons et des réactifs

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

❖ Zone d'amplification

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

❖ Elimination et destruction des produits d'amplification

Les sacs plastiques, après manipulation sont acheminés à l'incinération.

FICHE SIGNALÉTIQUE :

Nom : SOW

Ville de soutenance : Bamako/Mali

Prénom : Mariam

Section : Pharmacie

Nationalité : Malienne

E-mail : miriasow@yahoo.com

Contact (00223) 77 77 77 35 / 67 77 77 35

Année universitaire : 20-20

Lieu de dépôt : bibliothèque de la faculté de pharmacie, et de la faculté de médecine et d'odontostomatologie

Secteur d'intérêt : Santé publique, Epidémiologie, charge virale, Echec virologique, Maladie infectieuses, sérologie -immunologie

Titre : Fréquence des échecs virologiques chez les patients adultes infectés par le VIH-1 sous traitement ARV à Ségou au Mali.

Résumé :

VIH a été découvert il y'a trois décennies et il continue de faire des ravages. SIDA est la première cause de décès prématurés en Afrique subsaharienne et la quatrième dans le monde.

La charge virale (CV) reste actuellement la seule source de suivi de l'efficacité thérapeutique et la détection d'échec virologique.

Cependant la charge virale et la numération (CD4) restent souvent restreintes suite à des problèmes d'approvisionnement de réactifs, des pannes techniques, des pertes de vues de certains malades

Notre étude s'est déroulée à l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou établissement public hospitalier et a concerné 365 patients obtenus suite à une étude rétro-prospective.

Evaluer la prévalence des échecs virologiques chez les patients infectés par le VIH-1 sous traitement ARV à Ségou nous a servi comme objectif générale.

Les opérations se sont effectuées avec le m2000RT une des automates de charge virale.

Au terme de cette étude, les résultats suivants ont été obtenus :

Les tranches de 35-44 et de 45+ sont les plus représentées soit respectivement 31.20% et 38.60%. Le sexe ratio le plus dominant représentait 72% en faveur du sexe féminin.

La durée ≤ 100 mois a été associée à une augmentation de l'échec thérapeutique, statistiquement significatif. Une bonne observance a été associée à une diminution de l'échec thérapeutique, statistiquement significatif.

Ce travail nous a permis d'obtenir un taux d'échecs de 17% (qui s'avère être une élévation modérée de l'échec et qu'il est nécessaire d'avoir de l'amélioration quant au suivi des patients par les prescripteurs et aux patients de persévérer leur observance).

Mots clés : Fréquence, VIH, SIDA, Charge virale, Echec

IDENTIFICATION SHEET

Last name: SOW

City of defense: Bamako/Mali

First name: Mariam

Section: pharmacy

Nationality: Malian

E-mail: miriasow@yahoo.com

Contact: 77 77 77 35 / 67 77 77 35

Academic Year: 20-20

Place of deposit: library of the faculty of Medicine, pharmacy, and dentistry odonto

Focus Area: Public Health, Epidemiology, Viral Load, Virologic Failure, Infectious Diseases, Serology-Immunology

Title: Frequency of virologic failures in adult HIV-1 infected patients receiving ARV treatment in Segou, Mali.

Summary

HIV was discovered three decades ago and continues to take its toll. AIDS is the leading cause of premature death in sub-Saharan Africa and the fourth largest in the world.

Viral load (CV) is currently the only source for monitoring therapeutic efficacy and virological failure detection.

However, the viral load and the number (CD4) remain often-limited following problems of supply of reagents, technical breakdowns, the loss of views of certain patients

Our study was conducted at the hospital Nianankoro Fomba Ségou public hospital and involved 365 patients obtained following a retrospective study.

To evaluate the prevalence of virological failures in patients infected with HIV-1 on ARV therapy in Segou served us as a general objective.

The operations were carried out with the m2000RT one of the automatons of viral load.

At the end of this study, the following results were obtained:

The 35-44 and 45+ bands are the most represented, at 31.20% and 38.60% respectively. The most dominant sex ratio was 72% in favor of females.

Duration ≤ 100 months was associated with an increase in therapeutic failure, statistically significant. Good compliance has been associated with a decrease in therapeutic failure, statistically significant.

This work allowed us to achieve a failure rate of 17% (which proves to be a moderate increase in failure and that it is necessary to have improvement in the follow-up of patients by the prescribers. and patients to persevere with their compliance).

Key words: Frequency, HIV, AIDS, Viral load, Failure



SERMENT DE GALIEN



*Je jure, en présence des maitres de la faculté, des conseillers de
l'Ordre des pharmaciens, et mes condisciples :*

*D'honorer eux 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(e) d'opprobres et méprisé de mes confrères
si j'y manque !*

Je le jure !