

Ministère de l'Enseignement

Supérieur et de la Recherche

Scientifique



République du Mali

Un Peuple- Un But- Une Foi



UNIVERSITE DES SCIENCES DES TECHNIQUES

ET DES TECHNOLOGIES DE BAMAKO

Faculté de Pharmacie

(FAPH)

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2018 – 2019

N° /P

THESE

**SUIVI VIROLOGIQUE DES ENFANTS INFECTES PAR LE VIH-1 ET
SOUS TRAITEMENT ARV AU CHU-GABRIEL TOURE**

Présentée et soutenue publiquement le 19/12/ 2019 devant la Faculté de pharmacie

Par

Mlle Zeïna MOHAMED

Pour obtention du grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

Jury

Président: Pr Fatoumata DICKO TRAORE

Membres : Pr Alhassane BA

Dr Ibréhima GUINDO

Dr Yacouba Aba COULIBALY

Co-directeur: Dr Almoustapha I MAIGA

Directeur : Pr Daouda Kassoum MINTA

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE**ANNÉE UNIVERSITAIRE : 2018-2019****ADMINISTRATION :**

DOYEN : M. Boubacar TRAORE, Professeur

VICE-DOYEN : M. Ababacar MAIGA, Professeur

SECRÉTAIRE PRINCIPAL : M. Seydou COULIBALY, Administrateur Civil

AGENT COMPTABLE : M. Famalé DIONSAN, Inspecteur des Finances.

PROFESSEURS HONORAIRES

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Boubacar Sidiki	CISSE	Toxicologue
2	Mahamadou	CISSE	Biologie
3	Daouda	DIALLO	Chimie Générale et Minérale
4	Souleymane	DIALLO	Bactériologie – Virologie
5	Kaourou	DOUCOURE	Physiologie
6	Ousmane	DOUMBIA	Chimie thérapeutique
7	Boukassoum	HAÏDARA	Législation
8	Gaoussou	KANOUTE	Chimie analytique
9	Alou A.	KEÏTA	Galénique
10	Mamadou	KONE	Physiologie
11	Mamadou	KOUMARE	Pharmacognosie
12	Brehima	KOUMARE	Pharmacognosie
13	Abdourahamane S.	MAÏGA	Parasitologie
14	Elimane	MARIKO	Pharmacologie

DER : SCIENCES BIOLOGIQUES ET MEDICALES**1. PROFESSEURS /DIRECTEURS DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mounirou	BABY	Hématologie
2	Bakary Mamadou	CISSE	Biochimie
3	Abdoulaye	DABO	Biologie/Parasitologie
4	Mahamadou	DIAKITE	Immunologie-Génétique
5	Alassane	DICKO	Santé Publique
6	Abdoulaye	DJIMDE	Parasitologie – Mycologie
7	Amagana	DOLO	Parasitologie – Mycologie
8	Akory Ag	IKNANE	Santé Publique / Nutrition
9	Ousmane	KOITA	Biologie-Moléculaire
10	Boubacar	TRAORE	Parasitologie-Mycologie

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Flabou	BOUGOUDOOGO	Bactériologie – Virologie
2	Aldjouma	GUINDO	Hématologie
3	Kassoum	KAYENTAO	Santé /Bio-Statistique
4	Bourèma	KOURIBA	Immunologie Chef de DER
5	Ousmane	TOURE	Santé Publique/Santé environnement
6	Issaka	SAGARA	Bio-statistique
7	Mahamadou Soumana	SISSOKO	Bio-statistique

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mohamed	AG BARAIKA	Bactériologie-virologie
2	Charles	ARAMA	Immunologie
3	Boubacar Tiétiè	BISSAN	Biologie clinique
4	Djibril Mamadou	COULIBALY	Biochimie clinique
5	Seydou Sassou	COULIBALY	Biochimie clinique
6	Souleymane	DAMA	Parasitologie Entomologie méd.
7	DjénébaKoumba	DABITAO	Biologie moléculaire
8	Laurent	DEMBELE	Biotechnologie Microbienne
9	Kléligui Casimir	DEMBELE	Biochimie clinique
10	Seydina S. A.	DIAKITE	Immunologie
11	Yaya	GOÏTA	Biochimie clinique
12	Ibrahima	GUINDO	Bactériologie-virologie
13	Antoine	DARA	Biologie Moléculaire
14	Aminatou	KONE	Biologie moléculaire
15	BiramaApho	LY	Santé publique
16	Dionkorma	OUOLOGUEM	Biologie cellulaire
17	Almoustapha Issiaka	MAIGA	Bactériologie-Virologie
18	Oumar	SANGARE	Epidémiologie
19	Fanta	SANGHO	Santé Publique/Santé communautaire

4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Djénéba	COULIBALY	Nutrition/Diététique
2	Issa	DIARRA	Immunologie
3	Fatou	DIWARA	Epidémiologie
4	Merepen dit Agnès	GUINDO	Immunologie
5	Falaye	KEÏTA	Santé publique/Santé Environnement
6	N'DeyeLallah Nina	KOITE	Nutrition
7	Amadou Birama	NIANGALY	Parasitologie-Mycologie
8	Djakaridia	TRAORE	Hématologie

DER : SCIENCES PHARMACEUTIQUES**1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Drissa	DIALLO	Pharmacognosie
2	Saïbou	MAÏGA	Législation
3	Rokia	SANOGO	Pharmacognosie Chef de DER

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
-	Néant	-	-

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Loséni	BENGALY	Pharmacie hospitalière
2	Bakary Moussa	CISSE	Galénique
3	Yaya	COULIBALY	Législation
4	Issa	COULIBALY	Gestion
5	Balla Fatogoma	COULIBALY	Pharmacie hospitalière
6	Mahamane	HAIDARA	Pharmacognosie
7	Hamma Boubacar	MAÏGA	Galénique
8	Moussa	SANOGO	Gestion
9	Adiaratou	TOGOLA	Pharmacognosie

4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Lahaye	COULIBALY	Gestion pharmaceutique
2	Daouda Lassine	DEMBELE	Pharmacognosie
3	Adama	DENOU	Pharmacognosie
4	Sékou	DOUMBIA	Pharmacognosie
5	Assitan	KALOGA	Législation
6	Ahmed	MAÏGA	Législation
7	Aïchata Ben Adam	MARIKO	Galénique
8	Aboubacar	SANGHO	Législation
9	Bourama	TRAORE	Législation
10	Karim	TRAORE	Sciences pharmaceutiques
11	Sylvestre	TRAORE	Gestion pharmaceutique
12	Aminata Tiéba	TRAORE	Pharmacie hospitalière
13	Mohamed dit Sarmoye	TRAORE	Pharmacie hospitalière

DER : SCIENCES DU MÉDICAMENT**1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Ousmane	DOUMBIA	Pharmacie chimique
2	Benoît Yaranga	KOUMARE	Chimie Analytique
3	Ababacar I.	MAÏGA	Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES/MAITRE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Sékou	BAH	Pharmacologie Chef de DER

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Dominique Patomo	ARAMA	Pharmacie chimique
2	Mody	CISSE	Chimie thérapeutique
3	Ousmane	DEMBELE	Chimie thérapeutique
4	Tidiane	DIALLO	Toxicologie
5	Madani	MARIKO	Chimie Analytique
6	HamadounAbba	TOURE	Bromatologie

4. ASSISTANTS/ATTACHES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mahamadou	BALLO	Pharmacologie
2	Dalaye Bernadette	COULIBALY	Chimie analytique
3	Blaise	DACKOUO	Chimie analytique
4	Fatoumata	DAOU	Pharmacologie
5	Abdourahamane	DIARA	Toxicologie
6	Aiguerou dit Abdoulaye	GUINDO	Pharmacologie
7	Mohamed El Béchir	NACO	Chimie analytique
8	Mahamadou	TANDIA	Chimie analytique
9	Dougoutigui	TANGARA	Chimie analytique

DER : SCIENCES FONDAMENTALES**1. PROFESSEURS/DIRECTEURS DE RECHERCHE**

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mouctar	DIALLO	Biologie/ Chef de DER
2	Cheick F.	TRAORE	Biologie/ Entomologie
3	Mahamadou	TRAORE	Génétique

2. MAITRES DE CONFÉRENCES/MAITRES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Lassana	DOUMBIA	Chimie appliquée

3. MAITRES ASSISTANTS/CHARGES DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Mamadou lamine	DIARRA	Botanique-Biologie végétale
2	Abdoulaye	KANTE	Anatomie
3	Boureima	KELLY	Physiologie médicale

4. ASSISTANTS/ATTACHE DE RECHERCHE

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Seydou Simbo	DIAKITE	Chimie organique
2	Modibo	DIALLO	Génétique
3	Moussa	KONE	Chimie Organique
4	Massiriba	KONE	Biologie Entomologie

CHARGES DE COURS (VACATAIRES)

N°	PRENOMS	NOM	SPECIALITE
1	Cheick Oumar	BAGAYOKO	Informatique
2	Babou	BAH	Anatomie
3	Adourahamane	COULIBALY	Anthropologie médicale
4	Souleymane	COULIBALY	Psychologue
5	Bouba	DIARRA	Bactériologie
6	Modibo	DIARRA	Nutrition
7	Moussa I	DIARRA	Biophysique
8	Babacar	DIOP	Chimie
9	Atimé	DJIMDE	Bromatologie
10	Yaya	KANE	Galénique
11	Boubacar	KANTE	Galénique
12	Aboubakary	MAÏGA	Chimie organique
13	Massambou	SACKO	SCMP/SIM
14	Modibo	SANGARE	Anglais
15	Sidi Boula	SISSOKO	Histologie-embryologie
16	Mme Fatoumata	SOKONA	Hygiène du milieu
17	Fana	TANGARA	Maths
18	Abdel Kader	TRAORE	Pathologies médicales
19	Djénébou	TRAORE	Sémiologie et Pathologie médicale
20	Boubacar	ZIBEÏROU	Physique

DEDICACES :

Je dédie humblement ce travail à :

A mon très cher Papa Mahamar Hamida TOURE, celui qui m'a toujours encouragé et soutenu.

A ma très chère mère Saouda Harouna TOURE, celle qui s'est toujours dévouée et sacrifiée pour moi.

A mes très chers pères : Feu Alassane HAMIDA, Lamine HAMIDA, Abdou HAMIDA, Assagaye HAMIDA, qui m'ont énormément aidé et aux quels je témoigne mon affection et ma profonde reconnaissance.

A ma tante : feu Daoulata HAMIDA, merci pour tout.

A mes mamans : Harerata HAROUNA, Adizatou HAROUNA, feu Habibatou HAROUNA, feu Haoua HAROUNA, merci pour tous les soutiens que vous m'avez apportés durant ce travail.

A mes oncles : Moussa Harouna, Soumma Harouna et Chafiyou Harouna, je vous souhaite longue vie.

A mes frères et sœurs : Fatoumata, Aichata, Safietou, Alhabibou, Lamine, Alassane et Abdou, qui m'ont toujours aidé et accompagné. Je vous souhaite beaucoup de courage et de succès. Que Dieu vous garde en bonne santé et vous donne longue vie.

A mes cousins et cousines

A mes grands parents disparus : feu Hamida ALKISSAHI, feu Harouna DALLO, feu Jaoujata SALLA, feu Nafissatou IDRISSE, que vos âmes reposent en paix. Amen.

REMERCIEMENTS :**A Allah et son prophète Mohamed : (PSL)**

Je rends grâce à Dieu (loué soit-il) et son prophète Mohamed (paix et salut sur lui), de m'avoir donné l'opportunité de réaliser ce travail qui me tenait tant à cœur. Puisse Allah continuer à nous assister et nous guider sur le droit chemin. Amine.

A mon père Mahamar HAMIDA:

Infatigable travailleur au service de la famille, ta patience et ton dévouement pour la famille constituent un exemple pour tous. Tu as cédé à beaucoup de mes caprices et tu m'as toujours conseillé que seul le travail paie en me montrant le droit chemin, celui de la réussite qui ne se gagne qu'à la sueur du front. Merci papa, tu as toujours aimé avoir un docteur et bon voilà un. Que Dieu te donne longue vie et une bonne santé, et que cette thèse m'offre l'occasion de me rendre digne de tes conseils, ton estime et ta confiance. Sois rassuré de mon profond respect.

A ma maman Saouda HAROUNA :

Merci maman pour toute l'attention que tu m'as apportée durant cette étape de ma vie. Tu m'as soutenue, accompagnée durant ce travail. Tu as toujours été une femme forte et battante, toujours prête à aider les autres. Tu t'es toujours sacrifiée pour qu'on avance. Une maman que tous les enfants rêveraient d'avoir. Une maman qui est toujours à l'écoute. Il n'y a même plus de mots pour qualifier ta gentillesse et ton amour pour moi. Chère mère, nous avons enfin compris ton combat, tes paroles sans cesse qui avaient pour objectifs notre réussite. C'est le moment d'implorer ton pardon pour toutes les peines que nous t'avons fait subir, et reçois l'assurance de mon amour et de mon entière disponibilité. Puisse Dieu le Tout Puissant te donner une très bonne santé et une très longue vie pour goûter aux fruits de ton labeur.

A mon papa : Lamine HAMIDA

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

A la pharmacie SIDI BOUKENEM**A tout le corps professoral de la FAPH et de la FMOS :**

Ce travail est avant tout le votre.

Au Docteur Almoustapha I MAIGA :

Cher maître, je ne saurai comment vous remercier pour votre patience, compréhension et votre disponibilité, merci pour l'encadrement et les leçons.

A tout le personnel du laboratoire et de la banque de sang du CHU-Gabriel Touré :

Youssef Touré (ex major), Mme Sidibé (majore), Dienta, Zali, Traoré, Nana, Mme Koné, Mme Diarra, Ina, tanti Kadi, Adama, Diarra, Sylla, Lalla, madame Coulibaly, Waraba, vous m'aviez initié et vous m'aviez donné goût de la recherche. Recevez par cette thèse l'expression de mes sentiments les plus distingués.

A tout le personnel du laboratoire CVD du CHU-Gabriel Touré : Dr TOURE, Dr NAMORY, COULIBALY, DOUMBIA, merci pour votre disponibilité.

Aux Docteurs : Josué, Dolo, Tata au laboratoire SEREFO.

A mes meilleures amies : Aicha Maiga, tu es plus qu'une amie, tu es ma jumelle, ma grande sœur, ma moitié, mais aussi ma petite esclave, merci pour votre confiance. Assetou Keita, Josefina Perou, merci pour votre disponibilité, confiance et soutien.

A mes collègues, amis de groupe d'exercice à l'école fondamentale : Aicha, Bintou, Mahaoua, Halima, KELLY, Fousseini, merci pour ce moment passé ensemble.

A tous mes camarades de la dixième promotion du numéris clausus Albert DEMBELE

A toutes les personnes vivants avec le VIH

A tous ceux dont j'ai omis le nom ici

Je vous remercie pour votre soutien et vos conseils.

A notre Maître et Présidente du jury

Professeur Fatoumata DICKO TRAORE

- ✓ **Professeur titulaire de pédiatrie à la FMOS**
- ✓ **Chef de service de néonatalogie au CHU-GT**
- ✓ **Secrétaire générale de l'Association Malienne de pédiatrie**
- ✓ **Secrétaire générale de l'Association des Pédiatres d'Afrique Noire Francophone**

Honorable maître

Nous sommes honorés de la confiance que vous nous avez accordée en acceptant la présidence du jury.

Vos qualités scientifiques, votre sens de la perfection, et votre rigueur pour le travail bien fait font de vous un maître exemplaire.

Permettez-nous en ce jour, vous adresser nos vifs remerciements et notre profonde reconnaissance.

Que DIEU vous donne longue vie qu'on puisse longtemps profiter de votre savoir.

A notre Maître et juge
Professeur BA Alhassane

- ✓ **Pharmacien militaire**
- ✓ **Agrégé du Val-de-Grâce**
- ✓ **Titulaire d'un Doctorat (PhD) d'Aix-Marseille Université**
- ✓ **Directeur général Adjoint du Centre National de Transfusion Sanguine de Bamako.**

Honorable maître

C'est un grand honneur et un réel plaisir de vous compter parmi les membres du jury malgré vos multiples et importantes occupations.

Vos nombreuses qualités humaines, votre disponibilité, votre amabilité, votre rigueur dans la démarche scientifique nous ont beaucoup marqué. Avec tout le respect et toutes les considérations, nous vous prions de bien vouloir recevoir nos humbles remerciements pour la qualité de l'encadrement.

A notre Maître et juge

Docteur Ibréhima GUINDO

- ✓ **Pharmacien biologiste**
- ✓ **Chef du service de bactériologie virologie INRSP**
- ✓ **Responsable du service des IST/VIH de l'INRSP**
- ✓ **Maitre-assistant de Bactériologie Virologique à la Faculté de Pharmacie de Bamako.**

Honorable maître

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites, en acceptant de siéger dans ce jury. Vos nombreuses qualités humaines, votre disponibilité, votre amabilité, votre rigueur dans la démarche scientifique nous ont beaucoup marqué. Trouvez ici l'expression de notre profonde reconnaissance.

A notre Maître et juge

Docteur Aba Yacouba COULIBALY

- ✓ **Médecin pédiatre à la néonatalogie du CHU-GT**
- ✓ **Pédiatre responsable de la PEC des enfants infectés et exposés au VIH au CEP du CHU-GT**
- ✓ **Master en SP option Epidémiologie**

Honorable maître

C'est un grand honneur et un réel plaisir de vous compter parmi les membres du jury malgré vos multiples et importantes occupations.

Vos nombreuses qualités humaines, votre disponibilité, votre amabilité, votre rigueur dans la démarche scientifique nous ont beaucoup marqué.

Avec tout le respect et toutes les considérations, nous vous prions de bien vouloir recevoir nos humbles remerciements pour la qualité de l'encadrement.

A notre Maître et Co-directeur de thèse

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 aux Antimicrobiens (AARAM)**
- ✓ **Membre de plusieurs sociétés savantes internationales sur le VIH dans le monde**
- ✓ **Enseignant vacataire à la Faculté de Pharmacie**
- ✓ **Charge de Recherche, CHU Gabriel Touré**

Honorable maître,

Nous sommes très fiers de vous avoir comme co-directeur et d'avoir bénéficié de votre apport, et conseil pour l'amélioration de ce travail.

Votre disponibilité, votre générosité, votre attention et votre modestie ne nous a pas laissé indifférentes, nous en somme touche. Veuillez accepter cher maître, le témoignage de notre profond respect, notre sincère gratitude et nos remerciements pour les conseils prodigués tout au long de ce travail.

A notre Maître et Directeur de thèse

Professeur 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 FMOS**
- ✓ **Vice-président de la Société Africaine de Pathologies Infectieuses**

Honorable maître

Vos compétences professionnelles, vos qualités scientifiques et humaines, votre disponibilité, votre amabilité, font de vous un maître unique. Veuillez agréer honorable maître l'assurance de notre profonde reconnaissance. Nous sommes remplis d'une immense joie de vous avoir comme encadreur. Recevez cher maître avec tout le respect et toutes les considérations nos humbles remerciements.

SommaireTA TABLE DES MATIERES

Liste des sigles et abréviations.....	XIX
Liste des figures	XVIII
Liste des tableaux	XIX
1. INTRODUCTION :	1
2. OBJECTIFS :	3
2.1. Objectif général :	3
2.2. Objectifs spécifiques :	3
3. GENERALITES:	4
3.1. Historique :	4
3.2. Structure et génome:	6
3.3. Stabilité physico-chimique :	8
3.4. Physiopathologie de l'infection a VIH :	8
3.4.1. Les cellules cibles du VIH :	8
3.4.2. Evolution naturelle et mode de transmission :	9
3.4.3. Cycle de réplication :	11
3.5. Diagnostics biologiques au laboratoire :	12
3.5.1. Diagnostic indirect :	12
3.5.2. Diagnostic direct :	13
3.5.2.1. Détection de l'antigène p24 :	13
3.5.2.2. Isolement du VIH en culture de cellule :	13
3.5.2.3. Détection des acides nucléiques viraux :	13
3.5.2.4. "Polymérase Chain Réaction" (PCR) ou "Réaction de Polymérisation en Chaîne"	14
3.5.2.5. RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymérase Chain Réaction):	17
3.5.3. Séquençage de l'ADN :	17
3.5.3.1. Objet de la bio-information :	17
3.5.3.2. Analyse des séquences :	18
3.6. Epidémiologie du VIH :	18
3.7. Variantes génétiques et origines du VIH :	18
3.8. Répartition géographique :	20
3.9. Protocole de prise en charge chez l'enfant :	21
3.9.1. Diagnostic et classification du VIH/SIDA chez l'enfant :	21

3.9.2. Indication du traitement antirétroviral :.....	24
3.10. Définition des ARV :.....	25
3.10.1. Historique :	25
3.10.2. Différentes classes thérapeutiques :.....	26
3.10.3. Nouvelles molécules antirétrovirales :.....	29
3.10.4. Stratégies de traitement antirétroviral :	30
3.10.5. Echec thérapeutique :	35
3.10.5.1. Echec clinique :	36
3.10.5.2. Echec immunologique :.....	36
3.10.5.3. Echec virologique :	36
3.10.5.3.1. Observance :	36
3.10.5.3.2. Résistance aux ARV :	37
4. METHODOLOGIE :.....	39
4.1. Cadre et lieu d'étude :.....	39
4.2. Type et période d'étude :	39
4.2.1. Calcul de l'échantillon :.....	39
4.2.2. Critères d'inclusion :	39
4.2.3. Critères de non inclusion :	39
4.3. Aspects Ethiques :.....	39
4.4. Méthode utilisée :.....	40
4.4.1. Technique Abbott HIV-1 Real Time TM :	40
4.4.1.1. Principe:.....	40
4.4.1.2. Organisation du local de la charge virale :.....	41
4.4.1.3. Procédure de prélèvement de sang pour la charge virale	44
4.4.1.4. Procédure de la technique :.....	45
4.4.1.5. Analyse des données :	52
5. RESULTATS :	53
6. COMMENTAIRES ET DISCUSSION :.....	58
6.1. Limites de l'étude :	58
6.2. La technique utilisée:.....	59
6.2.1. Manipulations techniques au laboratoire:.....	59
6.2.2. Les contrôles de qualité:	59
6.3. Données sociodémographiques :.....	60
6.4. Traitement antirétroviral :	60

6.5. Mesure des lymphocytes TCD4 :	60
6.6. Charge virale :	61
7. CONCLUSION	63
8. RECOMMANDATIONS	64
9. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES :	66

Liste des figures

Figure 1: structure morphologique du VIH-1	7
Figure 2: Représentation schématique du génome du VIH-1.	8
Figure 3: Evolution dans le temps des marqueurs biologiques lors d'une infection VIH.....	9
Figure 4 : Cycle de réplication des VIH.....	12
Figure 5 : Courbe de température par cycle pendant la PCR.	15
Figure 6: Représentation schématique des trois (03) étapes de la PCR.	16
Figure 7 : Amplification exponentiel : Nombre de copies par cycle pour 35 cycles.	16
Figure 8 :Arbre phylogénétique du VIH et du VIS.	18
Figure 9: Distribution géographique des VIH-1 dans le monde.	21
Figure 10: Répartition des enfants en fonction des lignes thérapeutiques.	54
Figure 11: Répartition des enfants en fonction des schémas thérapeutiques.	55
Figure 12: Répartition de la charge virale des enfants en fonction des lignes thérapeutiques.....	55
Figure 13: répartition de la charge virale des enfants en fonction de la tranche d'âge.	56
Figure 14: Répartition de la charge virale des enfants en fonction du sexe.....	56
Figure 15: répartition de la charge virale des enfants en fonction du taux de CD4.	57

Liste des tableaux

Tableau I: Classification OMS du SIDA.....	22
Tableau II : Déficit immunitaire associé au VIH selon l'âge de l'enfant.....	24
Tableau III: Critères immunologiques d'initiation du traitement antirétroviral : CD4.....	25
Tableau IV: Critères immunologiques d'initiation du traitement antirétroviral : Lymphocytes totaux (à considérer uniquement si le comptage CD4 n'est pas disponible) : ..	25
Tableau V: liste des molécules ARV commercialisées(27).....	28
Tableau VI : Toxicité des antirétroviraux de première ligne et substitutions recommandées (OMS) :.....	31
Tableau VII: les alternatives de seconde ligne possibles en fonction des schémas utilisés en première ligne et en cas de contre-indication ou toxicité de l'une des molécules du schéma préférentiel :.....	34
Tableau VIII: Répartition des enfants en fonction de l'âge.....	53
Tableau IX: Répartition des enfants en fonction du sexe	53
Tableau X: Répartition des enfants en fonction du service demandeur.....	53
Tableau XI: Répartition des enfants en fonction du taux de lymphocyte T CD4+.....	54
Tableau XII: Répartition des enfants en fonction de la charge virale plasmatique.	54

Liste des sigles et abréviations :

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNc : Acide Désoxyribonucléique complémentaire

ARN: Acide Ribonucléique

ARV: Antirétroviraux

bDNA: branched Desoxynucleic Acid

CD: Cluster of Differentiation

CDC: Centers of Disease Control and prevention

CCR5: CC Chemokine Receptor 5

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

CV: Charge Virale

CRF: Circulating Recombinant Form

CXCR4: CXC Chemokine Receptor 4

EDTA : Ethylène Diamine Tétra Acétique

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Env : Enveloppe

FAM: 5-Carboxyfluorescein (Bleu)

Fret: Fluorescence resonance energy transfert

Gag: Group antigen

Gp : Glycoprotéine

IMAARV : Initiative Malienne d' Accès aux Antirétroviraux

INNTI : Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

INTI : inhibiteur Nucléosidique de la Transcriptase Inverse

IP : Inhibiteur de la protéase

LTR: Long Terminal Repeat

NASBA: Nucleic Acid Sequence Based Amplification

OMS : Organisation mondiale de la Santé

ONUSIDA : Organisation des Nations-Unis contre le SIDA

Pol : Polymerase

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

ROX: Carboxy-X-rhodamine (Rouge)

RT-PCR: Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction

rTth: enzyme Thermus thermophilus

SIV: Simian Immunodeficiency Virus

TAMRA: 5-Carboxytetramethylrhodamine (jaune)

Taq: Thermus aquaticus

TARV: Traitement antirétroviral

URF: Unique Recombinant Form

VIC: 6- Carboxy-1, 4-dichloro 2'-7'dichlorofluorescein (Verte)

ABREVIATIONS DES ANTIRETROVIRAUX:

ABC : Abacavir

APV : Amprénavir

/r : boosté par le ritonavir

3TC : Lamivudine

ATV: Atazanavir

AZT: Zidovudine

ddI : Didanosine

d4T : Stavudine

DRV : Darunavir

DTG : Dolutégravir

EFV : Efavirenz

ETV : Etravirine

EVG : Elvitégravir

FTC : Emtricitabine

IDV : Indinavir

LPV : Lopinavir

NVP : Névirapine

RAL : Raltégravir

SQV : Saquinavir

TDF : Ténofovir

TPV : Tipranavir

1. INTRODUCTION :

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) antérieurement appelé LAV (Lymphadenopathy Associated Virus), est un rétrovirus humain particulier découvert en 1983 par Françoise Barré-Sinoussi, Luc Montagnier et son équipe à l'Institut Pasteur, responsable du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA). Deux types ont été identifiés à ce jour : VIH-1 et VIH-2. L'infection à VIH constitue de nos jours un problème majeur de Santé Publique dans le monde(1).

Selon le rapport de Décembre 2019 de l'ONUSIDA : 37,9 millions de personnes dans le monde vivaient avec le VIH en 2018 ; 770 000 personnes sont décédées de maladies liées au sida en 2018 ; 1,7 million de personnes ont été nouvellement infectées par le VIH en 2018 ; 32,0 millions de personnes sont décédées de suite de maladies liées au sida depuis le début de l'épidémie. Parmi les 37,9 millions de personnes vivant avec le VIH en 2018, on compte 36,2 millions d'adultes et 1,7 millions d'enfants (< 15 ans)(2). La Région africaine de l'OMS, où 25,7 millions de personnes vivaient avec le VIH en 2017, est la région la plus touchée. Elle concentre également plus des deux-tiers des nouvelles infections par ce virus survenant dans le monde.

En 2016, le Mali a enregistré 5900 nouvelles infections à VIH et 6100 décès liés au sida. Il y avait 110 000 personnes vivant avec le VIH en 2016, dont 35% avaient accès à un traitement antirétroviral. Parmi les femmes enceintes vivant avec le VIH, 35% avaient accès à un traitement ou à une prophylaxie afin de prévenir la transmission du VIH à leurs enfants. Environ 1600 enfants ont été nouvellement infectés par le VIH en raison de la transmission mère-enfant. Parmi les personnes vivant avec le VIH, environ 9% avaient une charge virale supprimée(3).

L'accès aux traitements ARV s'est nettement amélioré au cours des dernières années avec 23,3 millions des personnes sous traitement ARV dans le monde en 2018, soit une augmentation de 7,7 millions par rapport à 2010. Mais le diagnostic, le suivi et le traitement des enfants infectés par le VIH posent un énorme problème en général dans le monde et en particulier en Afrique. Le taux de couverture mondiale par le traitement antirétroviral des femmes enceintes et des femmes allaitantes vivant avec le VIH s'élève à 80%.

L'objectif du traitement antirétroviral est de rendre et maintenir durablement la charge virale (CV) indétectable afin de restaurer l'immunité, permettant d'augmenter l'espérance de vie et d'améliorer la qualité de vie des patients.

Le régime de première intention est deux Inhibiteurs Nucléotidiques de la Transcriptase Inverse + un Inhibiteur Non Nucléotidique de la Transcriptase Inverse ou un Inhibiteur de la Protéase dans certains cas(4). Le schéma de deuxième ligne doit inclure au moins deux nouvelles

molécules dont l'une issue d'une famille différente des familles utilisées en première ligne. La lamivudine (3TC) doit être toujours maintenue en deuxième ligne(4). En cas d'échec thérapeutique confirmé VIH 1 et 2 de la 1^{ère} Ligne, le schéma préférentiel de deuxième ligne est recommandé: 2INTI+IP(4).

Un suivi des personnes sous traitement antirétroviral (TAR) est important pour assurer la réussite du traitement, identifier les problèmes d'observance et déterminer s'il est nécessaire de changer le schéma d'ARV en cas d'échec thérapeutique et par quel schéma de TAR le substituer, le cas échéant. La mesure de la charge virale est la méthode de suivi privilégiée pour faire le diagnostic de l'échec du TAR et pour confirmer ce type d'échec .Si la mesure de la charge virale n'est pas disponible en routine, le diagnostic de l'échec thérapeutique doit être fait par un suivi du nombre de CD4 et un suivi clinique.

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 50copies/ml est le plus souvent utilisé et constitue l'objectif à atteindre pour toute intervention thérapeutique quelle que soit la situation thérapeutique : traitement initial ou traitements de ligne ultérieure(5). Au Mali, l'échec virologique est défini comme étant l'impossibilité de réduire la charge virale à un niveau indétectable après six mois de traitement bien conduit. Il est caractérisé par une charge virale plasmatique supérieure à 1000 copies/ml après renforcement de l'observance(6).

Pour une amélioration de la charge virale, l'accès aux traitements ARV, la lutte contre la stigmatisation et les discriminations, l'OMS propose que dès l'horizon 2020 ,90% des personnes infectées par le VIH connaissant leur statut ,90% sous traitement ARV et 90% avec une charge virale indétectable.

Après l'accès élargi aux ARV, l'implantation des techniques virologiques, il est donc important d'évaluer la prévalence des échecs dans les protocoles thérapeutiques au Mali, d'où l'intérêt de cette étude qui a pour objectif principal d'évaluer la prévalence de l'échec virologique des enfants infectés par le VIH-1 et sous ARV reçu au laboratoire du CHU-GABRIEL TOURE.

2. OBJECTIFS :

2.1. Objectif général :

Evaluer la prévalence de l'échec virologique des enfants infectés par le VIH-1 sous traitement ARV reçus au laboratoire du CHU GABRIEL TOURE.

2.2.Objectifs spécifiques :

- ❖ Décrire les caractéristiques sociodémographiques des enfants.
- ❖ Déterminer la prévalence de l'échec virologique chez les enfants VIH-1 sous traitement ARV.
- ❖ Déterminer la prévalence de l'échec virologique en fonction des lignes thérapeutiques.
- ❖ Evaluer le dernier 90% de l'ONUSIDA au CHU Gabriel Touré.

3. GENERALITES:

3.1.Historique :

Les débuts de l'épidémie datent du 5 juin 1981, quand le CDC américain annonce une recrudescence, dans les villes de Los Angeles, San Francisco et New York, de cas de pneumonies à *Pneumocystis carinii* et de sarcomes de Kaposi. Ces deux maladies ont pour particularité d'affecter les personnes immunodéprimées. Il est justement remarqué que, chez ces patients, le taux de lymphocytes T₄ est en chute libre. Ces cellules jouent un rôle essentiel dans le système immunitaire. Les premiers malades sont tous homosexuels, ce qui fait que ce syndrome, qui ne portait pas encore le nom de sida, est provisoirement appelé le *syndrome gay*. Une des premières causes suggérées de cette immunodépression est le Popper, un vasodilatateur très utilisé chez les homosexuels. Mais, dans les mois qui suivent, d'autres personnes sont infectées, des toxicomanes par injections, des hémophiles et des Haïtiens. Cette découverte révèle que le Popper n'est pas la cause, et une origine infectieuse est de plus en plus admise. Il reste alors à trouver l'agent infectieux(7).

L'origine virale est privilégiée, eu égard aux modes de transmission alors identifiés (sanguin et sexuel). Plusieurs virus sont mis en cause, mais on s'aperçoit qu'ils ne sont qu'une conséquence. Robert Gallo et son équipe, qui ont découvert le premier rétrovirus humain, le HTLV-1, pensent qu'un mutant de ce dernier est la cause du sida. Il explique cela par le fait que le HTLV-1 fait proliférer les lymphocytes T₄, cet agent infectieux faisant l'inverse, une mutation peut donc en être la cause. Cette hypothèse est renforcée par le fait que certains des cas haïtiens sont positifs à un test de dépistage du HTLV-1. Cette positivité se révélera être causée par un biais, le HTLV-1 étant très présent à Haïti.

À partir de 1982, avec les premiers cas identifiés en France, la recherche française débute. Willy Rozenbaum, médecin à l'hôpital Bichat de Paris, veut inciter les chercheurs à étudier plus en avant le sida et à en trouver la cause. Par l'entremise de Françoise Brun-Vézinet, une collègue médecin, Willy Rozenbaum contacte Jean-Claude Chermann, Françoise Barré-Sinoussi et Luc Montagnier, de l'unité d'oncologie virale de l'Institut Pasteur, qui avaient les outils pour étudier les rétrovirus. Ces derniers acceptent de commencer les recherches.

En 1983, Robert Gallo n'est pas parvenu à isoler le virus dans les échantillons sanguins de patients atteints du sida. Willy Rozenbaum pense alors que, chez les malades du sida, la plupart des cellules infectées sont détruites et que c'est la raison du manque de résultats dans ces tentatives d'isolement du virus.

Il a alors l'idée de chercher le virus dans un organe riche en lymphocytes, les ganglions lymphatiques de personnes malades mais qui ne sont pas encore en phase de sida. En janvier 1983, Willy Rozenbaum prélève un échantillon d'un patient atteint d'une lymphadénopathie, pathologie identifiée comme une maladie opportuniste du stade présida. L'échantillon est mis en culture et Françoise Barré-Sinoussi découvre une activité de transcriptase inverse, confirmant la présence d'un rétrovirus. Une apoptose apparaît et l'adjonction de globules blancs à la mise en culture relance alors l'activité de transcriptase inverse. Un examen au microscope électronique a permis de visualiser, pour la première fois, le virus, le 4 février 1983.

Après une prise de contact avec Robert Gallo pour un échange d'informations, l'équipe de l'Institut Pasteur confirme que le virus identifié chez le patient lymphadénopathique n'est pas le HTLV-1. Ce nouveau rétrovirus est alors appelé *Lymphadenopathy Associated Virus* (LAV) et les résultats sont publiés dans *Science* le 20 mai 1983. À ce stade, le lien entre le LAV et le sida n'est pas clairement établi par l'équipe de Luc Montagnier. Celui-ci et David Klatzmann découvrent que ce virus détruit les lymphocytes T₄ (LT₄) avec lesquels il est mis en culture. On savait que le nombre de LT₄ diminuait beaucoup chez les malades atteints de sida. Le LAV était donc sûrement l'agent provoquant le sida.

L'équipe de Robert Gallo publie le 4 mai 1984, dans *Science*, les résultats de l'isolement d'un virus qu'elle considère comme responsable du sida, et le nomme HTLV-3, qui s'avérera, bien plus tard, provenir d'un échantillon envoyé par l'Institut Pasteur. L'équipe de Jay A. Levy à San Francisco fait de même le 24 août 1984, et trouve plusieurs rétrovirus qu'elle nomme *AIDS-associated retroviruses* (ARV). Pendant un temps, les trois dénominations HTLV-3, LAV et ARV cohabiteront. En 1986, le sigle VIH (HIV en anglais) est choisi.

Le Pr Montagnier et son équipe de l'Institut Pasteur isolent un deuxième virus, le VIH 2, en collaboration avec les chercheurs et médecins de l'Hôpital Claude Bernard de Paris et l'Hôpital Ega Moniz de Lisbonne(7).

En 1988, l'OMS déclare le SIDA comme « grande cause nationale » et institue le 1^{er} Décembre comme « journée nationale du SIDA ».

Le 11 juillet 1994, le conseil d'administration de la fondation Franco-américaine pour le SIDA (FAAF) reconnaît la paternité de l'équipe française quant à la découverte du virus du SIDA.

Et ces dernières années, on a assisté à une forte mobilisation nationale et Internationale au niveau institutionnel, politique, scientifique et associatif. Les associations des personnes infectées et affectées font leur apparition et prennent une place active à tous les niveaux.

Les Nations Unies ont créé une agence mondiale chargée de la lutte contre la Pandémie, l'ONUSIDA.

Un peu partout dans le monde des programmes nationaux de lutte contre le SIDA sont créés. Le VIH 2, découvert peu après en Afrique, ne diffère surtout du VIH 1 que par ses protéines d'enveloppe ; il est aussi responsable du SIDA chez l'homme (Sénégal, Guinée-Bissau, etc.).

Le VIH1 est certainement apparu avant le déclenchement de l'épidémie de SIDA. La date d'apparition de cette épidémie est méconnue. Il semble que des cas sporadiques aient pu survenir avant le déclenchement de cette épidémie (ainsi, certains ont avancé qu'Érasme de Rotterdam, l'auteur de l'Éloge de la folie", serait décédé en 1536 du SIDA; cette hypothèse repose sur le fait que les symptômes qui ont précédé son décès ont fait l'objet d'une description précise qui permet de les rattacher à des infections opportunistes définissant le SIDA).

3.2. Structure et génome:

Le VIH est un rétrovirus du genre des lentivirus (du latin *lenti*, signifiant lent), qui se caractérisent par une longue période d'incubation avec, par conséquent, une évolution lente de la maladie. Les VIH-1, après leur libération par bourgeonnement à la surface des cellules qui les reproduisent, sont des particules sphériques (formes immatures) de 90 à 120 nanomètres ou 139 ± 16 nanomètres de diamètre. Dans sa forme mature, le virion se présente comme un virus sphérique de 145 ± 25 nanomètres de diamètre. Comme de nombreux virus infectant les animaux, il dispose d'une enveloppe composée d'une double couche lipidique formée d'un fragment de la membrane de la cellule infectée et de glycoprotéines virales. Dans cette enveloppe lipidique sont insérés des trimères de glycoprotéine d'enveloppe (Env.). Chaque protéine Env. est formée de deux sous-unités : une sous-unité de surface gp120 et une sous-unité transmembranaire gp41. La surface d'un VIH contiendrait en moyenne seulement 14 trimères Env(7).

Lors de l'attachement du virus à la cellule, la protéine Env. gp120 se lie à un récepteur CD4 présent à la surface des cellules CD4+ du système immunitaire. C'est pour cette raison que le VIH n'infecte que des cellules ayant ce récepteur à leur surface, qui sont en très grande majorité les lymphocytes CD4+.

À l'intérieur de l'enveloppe se trouve une matrice protéique (MA) composée de protéines p. 17 et, encore à l'intérieur, la capsid (CA) composée de protéines p. 24. C'est ce dernier type de protéines qui, avec gp41 et gp120, sont utilisés dans les tests VIH western blot. Les protéines nucléocapsid 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 capside.

Ces trois enzymes sont les principales cibles des traitements antirétroviraux, car elles sont spécifiques aux rétrovirus.

Les manuels de biologie ont longtemps écrit que le génome du VIH était composé de neuf gènes. Les trois principaux sont *gag*, *pol* et *env*, qui définissent la structure du virus et sont communs à tous les rétrovirus. Les six autres gènes sont *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr* et *vpu* (ou *vpx* pour le VIH-2), qui codent des protéines régulatrices. L'existence d'un dixième gène (débat sur l'unité de ce gène en chevauchement du gène *en*. qui code l'enveloppe virale), suggérée en 1988, est confirmée en 2016 par des chercheurs du CNRS et de l'université de Montpellier : nommé *asp*, il code la protéine ASP (AntiSense Protein). Voir les figures ci-dessous :

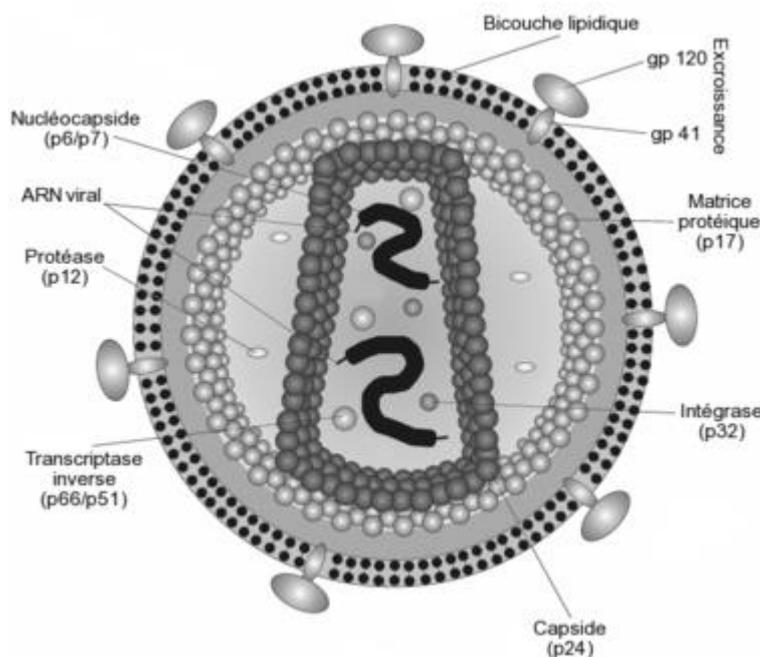


Figure 1: structure morphologique du VIH-1(8).

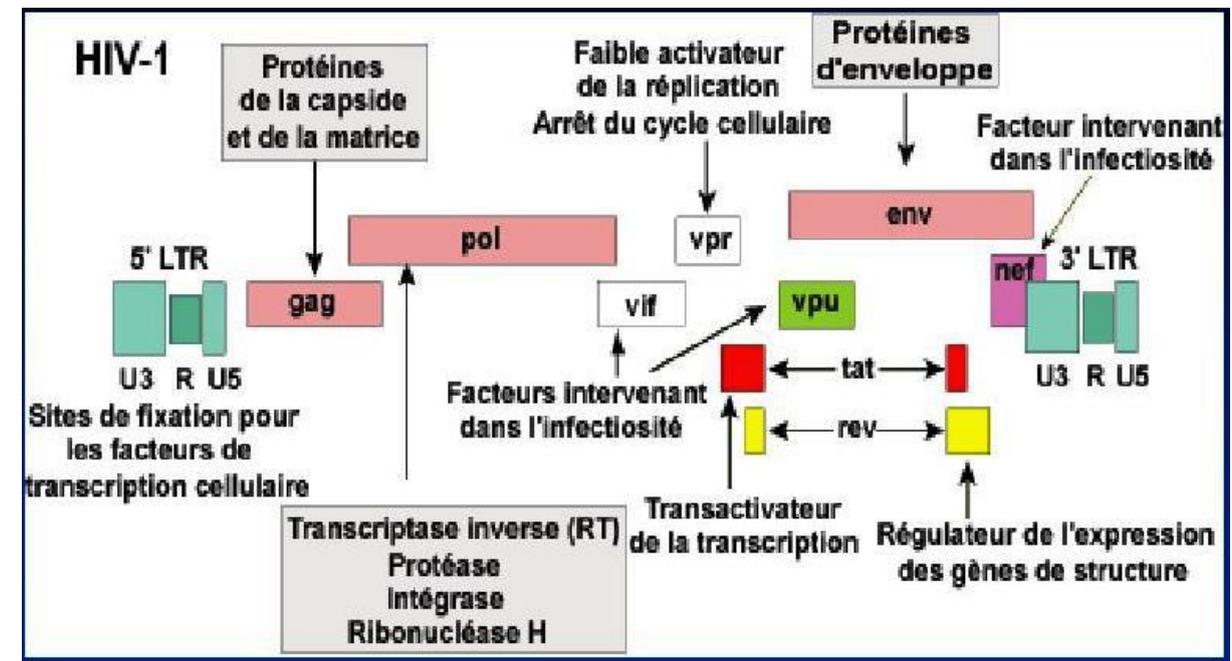


Figure 2: Représentation schématique du génome du VIH-1(9) .

3.3. Stabilité physico-chimique :

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

3.4. Physiopathologie de l'infection a VIH :

3.4.1. Les cellules cibles du VIH :

Le VIH est, tout comme les autres virus, un parasite intracellulaire : isolée, la particule virale est inerte. Elle ne nuit que lorsqu'elle pénètre dans la cellule. Les cellules cibles du VIH sont celles présentant des récepteurs CD4 à leur surface. Ainsi, les lymphocytes CD4+, les macrophages, les cellules dendritiques et les cellules micro gliales cérébrales peuvent être infectés par le VIH. Ainsi, la réplication virale a lieu dans plusieurs tissus.

Le VIH peut cependant infecter des cellules ne possédant pas la molécule CD4 : astrocytes, cellules hématopoïétiques, myocytes, hépatocytes.

3.4.2. Evolution naturelle et mode de transmission :

Évolution naturelle de l'infection à VIH :

L'infection par le VIH aboutit à la destruction progressive des lymphocytes T CD4+ via différents mécanismes, l'effet cytopathogène du virus et la réponse immune cytotoxique en faisant partie. L'évolution naturelle de la maladie se déroule en plusieurs phases. La phase de primo-infection, symptomatique ou non, se caractérise par une forte réplication virale, ayant pour conséquence une destruction massive des lymphocytes T CD4+. Cette destruction peut être due soit à l'effet cytopathogène du virus, soit à la lyse induite par les lymphocytes T CD8+. La primo-infection est ensuite suivie par la mise en place de la réponse immunitaire spécifique, induisant ainsi une diminution de la charge virale. Pendant cette phase asymptomatique, dont le temps varie entre 8 et 12 ans, ont lieu simultanément la réplication virale et la destruction progressive du système immunitaire. Pendant plusieurs années, les lymphocytes T CD4+ sont rapidement renouvelés jusqu'à ce que l'altération des organes lymphoïdes centraux ne permette plus leur régénération. S'ensuit ainsi une phase présida où le système immunitaire affaibli ne peut plus combattre les infections opportunistes qui émergent, avant d'aboutir à la phase Sida.

Les mesures de la charge virale (quantification de l'ARN VIH plasmatique) et du taux de CD4 sont des valeurs fortement corrélées à l'évolution de la maladie, et sont les outils de suivi d'un patient. Quant aux anticorps anti-VIH, dont la détection est encore utilisée pour le diagnostic d'une infection VIH, ils ne sont détectables qu'à partir du 21ème jour après l'infection, et l'Ag p24 dès le 14ème jour (10).

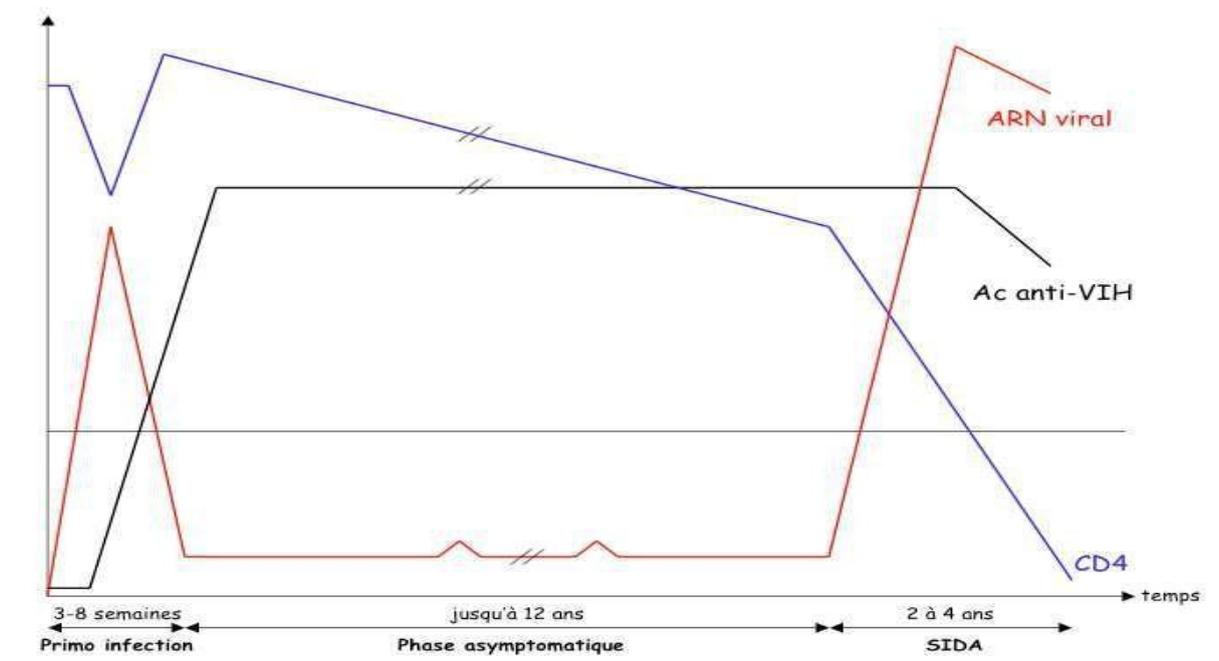


Figure 3: Evolution dans le temps des marqueurs biologiques lors d'une infection VIH(10).

Lors de la primo-infection a lieu une forte production virale (courbe rouge) accompagnée d'une chute de lymphocytes T CD4+ (courbe bleue). La phase asymptomatique est caractérisée par une stabilisation de la CV, avec quelques pics de réplication, ainsi que par une baisse continue du nombre de lymphocytes T CD4+. Au stade SIDA, le système immunitaire en déficit ne contrôle plus la CV qui augmente fortement (11).

Mode de transmission :

Le VIH est présent dans de nombreux fluides organiques. On en a trouvé dans la salive, les larmes et l'urine, mais en des concentrations insuffisantes pour que des cas de transmission soient enregistrés. La transmission par ces fluides est ainsi considérée comme négligeable. Par contre, des quantités de VIH assez importantes pour une infection ont été détectées dans le sang, le lait maternel, les sécrétions vaginales, le sperme, ainsi que le liquide précédant l'éjaculation. La concentration du virus dans les sécrétions génitales (sperme chez l'homme, sécrétions au niveau du col de l'utérus chez la femme) est de bons prédateurs du risque de transmission du VIH à une autre personne(7).

Par voie de conséquence, les trois modes de contaminations sont :

- les rapports sexuels non protégés, qu'ils soient hétérosexuels ou homosexuels, qui représentent la part la plus importante des contaminations
- le contact avec le sang ou avec du matériel contaminé chez :
 - les toxicomanes, par injection
 - les tatouages, par une mauvaise hygiène du matériel
 - les transfusés
 - le personnel de santé
- La transmission mère-enfant, durant la grossesse, pendant l'accouchement et lors de l'allaitement. Sans traitement et avec un accouchement naturel, le taux de transmission varie, selon les études, entre 10 et 40 %. C'est durant l'accouchement que les risques d'infection sont les plus élevés (65 % de tous les cas d'infection). Un traitement et la pratique éventuelle d'une césarienne peuvent faire baisser ce chiffre à 1 %.

3.4.3. Cycle de réplication :

Les principales étapes du cycle de réplication du VIH sont communes à tous les 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'il y a peu de temps, il était acquis que la transcription inverse de l'ARN viral n'avait lieu qu'après la décapsidation. Or, des études ont montré que cette étape pouvait avoir lieu également dans la capsid, présente dans le cytoplasme(12).

L'ARN génomique y est ainsi rétrotranscrit en ADN par la TI.

L'ADN migre ensuite dans le noyau sous forme de complexe de pré-intégration pour être intégré dans le génome de la cellule hôte sous forme pro-virale grâce à l'intégrase. L'ADN pro-viral reste ensuite soit à l'état latent, soit est transcrit en ARN par la machinerie cellulaire.

Les ARN produits sont destinés à plusieurs étapes : certains serviront de matériel génétique pour les nouveaux virions, d'autres seront traduits en polyprotéines, en ayant subi une étape d'épissage au préalable ou non.

Les polyprotéines produites vont subir certaines modifications ; la gp160 est clivée par une protéase cellulaire en gp120 et gp41, protéines qui vont ensuite migrer vers la membrane cellulaire. Le précurseur gag et gag-pol vont ensuite être clivés par la protéase virale, qui se sera auto-clivée de gag-pol au préalable. Tous ces éléments vont ensuite se rapprocher de la membrane cellulaire pour être empaquetés.

Le virion ainsi formé, après bourgeonnement, entre dans un processus de maturation grâce à la protéase pour aboutir à un virus mature dont la capsid est définitivement assemblée (12). Voir la figure 4 ci-dessous :

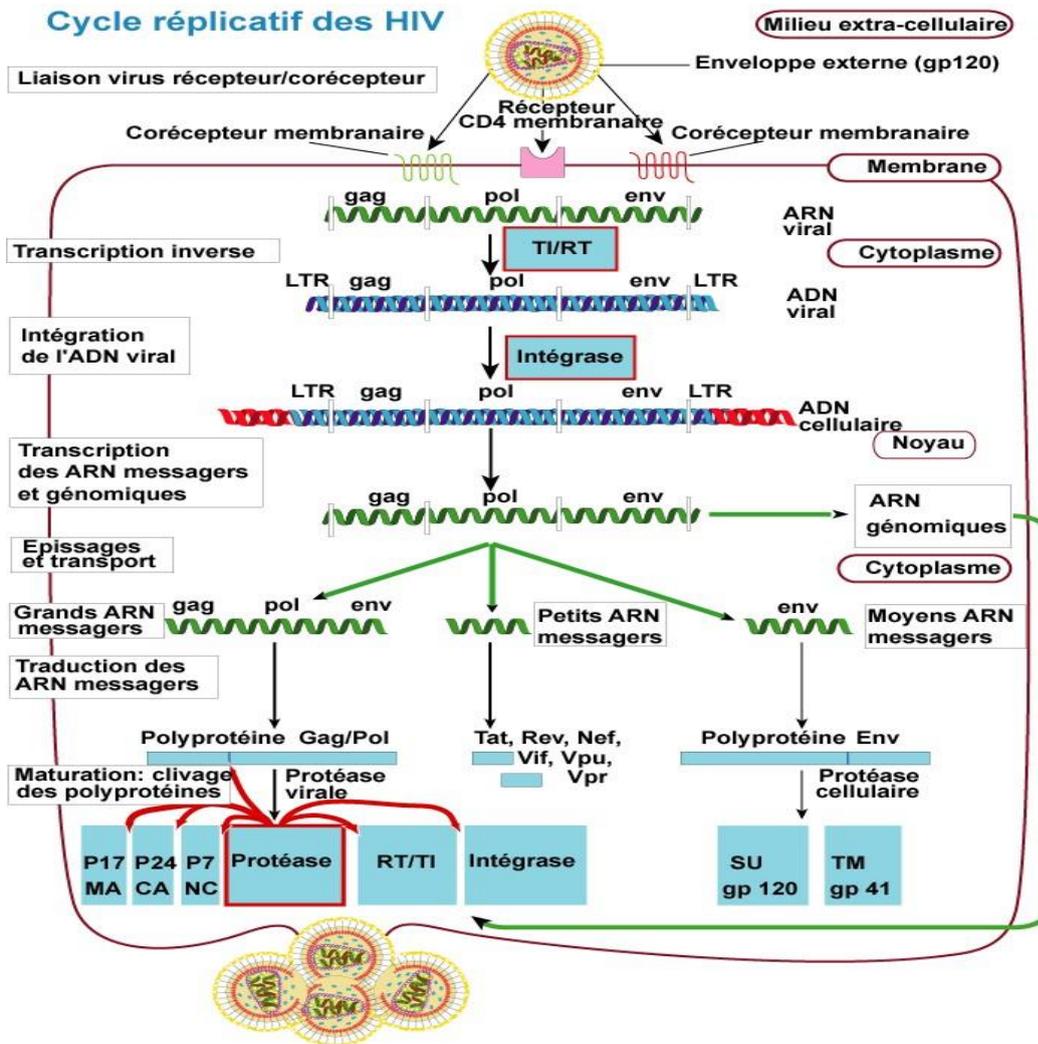


Figure 4 : Cycle de réplication des VIH(9).

3.5. Diagnostics biologiques 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 (13) :

Dépistage :

Les tests de dépistage de l'infection par le VIH reposent, d'une part, sur la mise en évidence des anticorps anti-VIH-1 et VIH-2 par méthode immuno-enzymatique de type ELISA ou par test rapide, et, d'autre part, sur la mise en évidence couplée des anticorps anti-VIH1 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.

Confirmation :

La technique de référence utilisant 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.

Des tests comparables au western-blot, fabriqués à partir de protéines recombinantes et de peptides de synthèse déposés en bandes séparées sur un support, sont agréés comme réactifs de confirmation. Leur sensibilité est un peu supérieure à celle des Western-blot mais des informations qu'ils apportent sont moins fines.

3.5.2. Diagnostic direct (13) :**3.5.2.1. Détection de l'antigène p24 :**

Les méthodes ELISA commercialisées détectent essentiellement la protéine p24 du VIH-1, même si des réactivités croisées avec la p26 du VIH-2 sont parfois observées. La positivité de la réaction doit être confirmée par un test de neutralisation de l'antigène et permet ainsi d'exclure un possible faux positif. La recherche isolée de l'antigène p24 dans le sérum est aujourd'hui pratiquée en cas de suspicion de primo-infection et lors de la qualification des donneurs d'organes, de tissus et de cellules. Comme indiqué plus haut, la recherche de l'antigène p24 est associée à celle des anticorps anti-VIH-1 et VIH-2 dans les tests ELISA combinés.

3.5.2.2. Isolement du VIH en culture de cellule :

L'isolement viral se fait à partir de cellules mononuclées sanguines ou du plasma du sujet infecté grâce à l'adjonction de cellules mononuclées de donneurs sains qui servent de support pour la multiplication virale. Une variante particulière est fondée sur la purification des cellules CD4+ du sujet infecté et leur activation avant Co-culture : cette approche permet de détecter le virus qui constituerait les cellules réservoirs de l'infection VIH(14) .

Dans tous les cas, la multiplication virale est détectée par l'apparition de l'antigène p24 et/ou d'une activité enzymatique de transcriptase inverse dans le milieu de culture. La culture cellulaires est entretenue et étudiée pendant plusieurs semaines.

Le VIH-2 est isolé par une procédure identique et détecté par son activité transcriptase inverse ; du fait des réactions croisées, il est souvent détecté par les techniques ELISA de mise en évidence de l'antigène p24 du VIH-1.

3.5.2.3. Détection des acides nucléiques viraux :

L'amplification génique (PCR ou amplification multienzymatique de type NASA) permet de détecter l'ADN proviral intégré dans l'ADN cellulaire et, après une étape supplémentaire de transcriptase inverse, l'ARN génomique contenu dans les particules virales.

Cette technique est intrinsèquement plus sensible que l'isolement viral et, effectuée dans les meilleures conditions, cette approche moléculaire présente l'avantage d'être bien adaptée à l'étude de prélèvements congelés pour lesquels l'isolement viral est plus difficile ainsi que d'être rapide et automatisable.

3.5.2.4. "Polymerase Chain Reaction" (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 précis, 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 Oligo-nucléotides.

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, l'ADN Polymérase qui est une ADN polymérase thermorésistante extraite de la bactérie *Thermus aquaticus*.

La température optimale d'action de la Taq est de 72° et elle est capable de résister à des passages successifs à 95°, 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 permet une meilleure dissociation de l'ADN double brin et fidélise l'action de la polymérase (15).

❖ Principe de la PCR

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 Oligo-nucléotide 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 trinuécléotidiques (dATP, dCTP, dTTP, dGTP), le cation Mg²⁺ indispensable au bon fonctionnement de l'enzyme et à l'incorporation correcte des précurseurs, l'ADN polymérase et les amorces. A ce milieu, est ajouté l'ADN extrait du milieu

biologique à étudier (16).

❖ Réaction de PCR

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 leur brin respectif.
- Elongation ou extension des amorces (72°): la Taq Polymérase permet d'ajouter des nucléotides aux amorces hybridées, dans le sens 5'-3'(15).

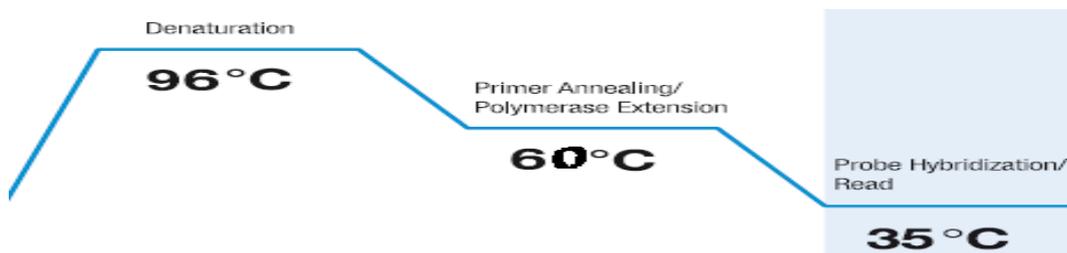


Figure 5 : Courbe de température par cycle pendant la PCR(15).

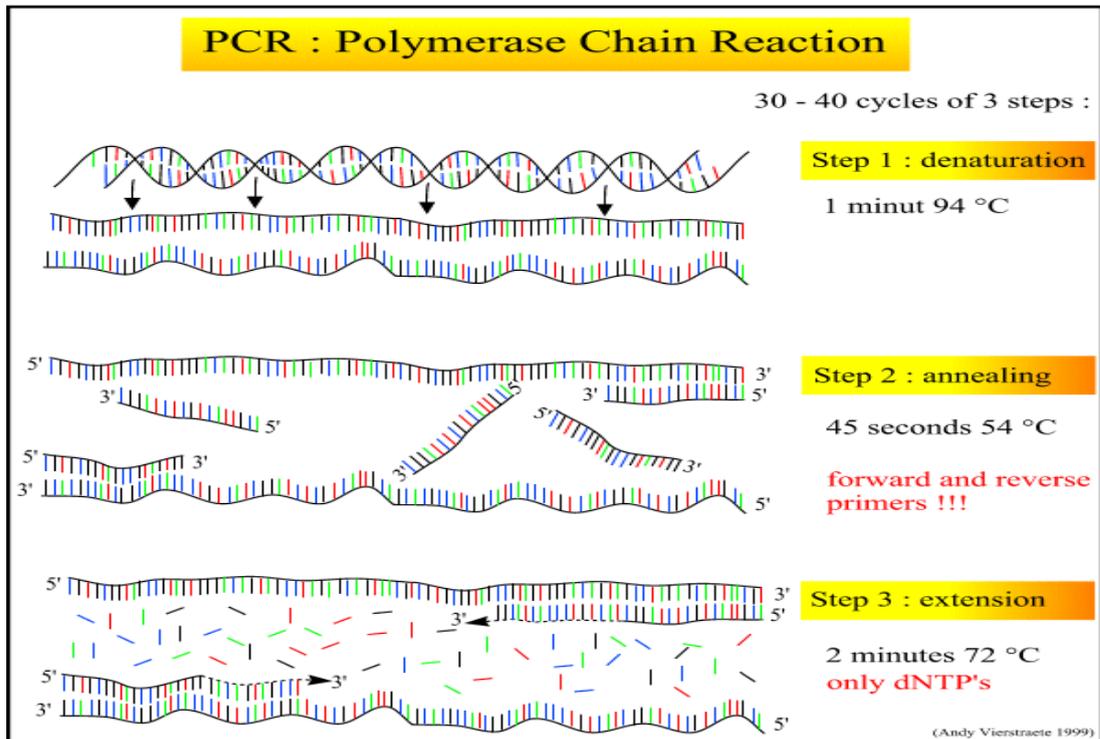


Figure 6: Représentation schématique des trois (03) étapes de la PCR(15).

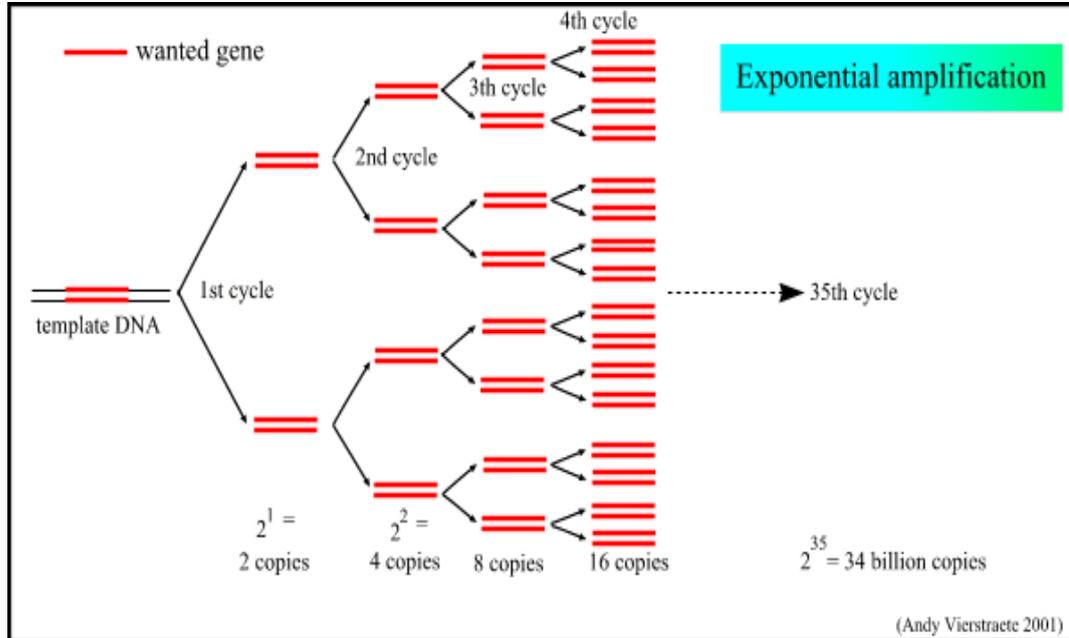


Figure 7 : Amplification exponentiel : Nombre de copies par cycle pour 35 cycles(15).

3.5.2.5. RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymérase Chain Réaction):

La PCR est une technique qui amplifie 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 (17).

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(18) .

3.5.3. Séquençage de l'ADN :**❖ Principe :**

Le séquençage de l'ADN consiste à déterminer l'ordre des nucléotides sur la molécule d'ADN. C'est le niveau de résolution le plus élevé pour rechercher la présence de mutations ponctuelles dans un gène. La méthode utilisée aujourd'hui, proposée par F. Sanger en 1977 (prix Nobel de chimie en 1980), repose sur l'utilisation de nucléotides particuliers appelés di-désoxynucléotides, qui bloquent la synthèse d'ADN par les ADN polymérases après leur incorporation. Ce blocage est dû à l'impossibilité qu'ont ces nucléotides de former une liaison phosphodiester avec un autre nucléotide en raison de l'absence du groupement hydroxyle sur le carbone 3'. Depuis 1977, la méthode a considérablement évolué grâce à la mise au point de séquenceurs automatiques et de marquages des nucléotides à l'aide de fluorochromes. Elle est devenue aujourd'hui une technique rapide et fiable utilisée fréquemment dans le diagnostic de certaines maladies héréditaires mais, reste néanmoins coûteuse et réservée à certains gènes en nombre limités et de petites tailles.

3.5. 3.1. Objet de la bio-informatio n :

La bio-informatique est une discipline basée sur les acquis de la biologie, des mathématiques, et de l'informatique. Elle consiste en l'ensemble des méthodes et programmes pour gérer, organiser, comparer, analyser, explorer, l'information génique et génomique stockée dans les bases de données dans le but de prédire et produire de nouvelles connaissances et de développer aussi de nouveaux concepts (19).

3.5.3.2. Analyse des séquences :

L'analyse bioinformatique fondamentale et principale réalisée sur les séquences d'ADN est l'alignement. Il s'agit de comparer des séquences grâce à des algorithmes.

L'objet d'un alignement de séquences est en général pour :

- Quantifier et localiser la similarité
- Trouver la meilleure mise en correspondance des résidus qui conservent l'ordre des séquences. (Score de l'alignement)
- Prendre en compte des mutations ponctuelles qui se résument en trois événements majeurs : Insertion, Délétion et Substitution.

3.6. Epidémiologie du VIH :

La croissance globale de l'épidémie mondiale de sida semble s'être stabilisée. Le nombre annuel de nouvelles infections à VIH recule régulièrement depuis la fin des années 1990 et l'on note une diminution du nombre de décès liés au sida grâce à un élargissement et à une intensification significatifs de l'accès au traitement antirétroviral au cours des dernières années. Bien que le nombre des nouvelles infections ait diminué, leurs niveaux généraux demeurent élevés et le nombre de personnes vivant avec le VIH a augmenté dans le monde du fait de la réduction significative de la mortalité. En 2017 on estime que 36,9 millions de personnes dans le monde vivent avec le VIH ; 1,8 million de personnes ont été nouvellement infectées par le VIH ; 35,4 millions de personnes décédées de suite de maladies liées au sida depuis le début de l'épidémie. L'Afrique subsaharienne reste l'un des pays les plus touchés, où l'on continue d'enregistrer la majeure partie des nouvelles infections.

3.7. Variantes génétiques et origines du VIH :

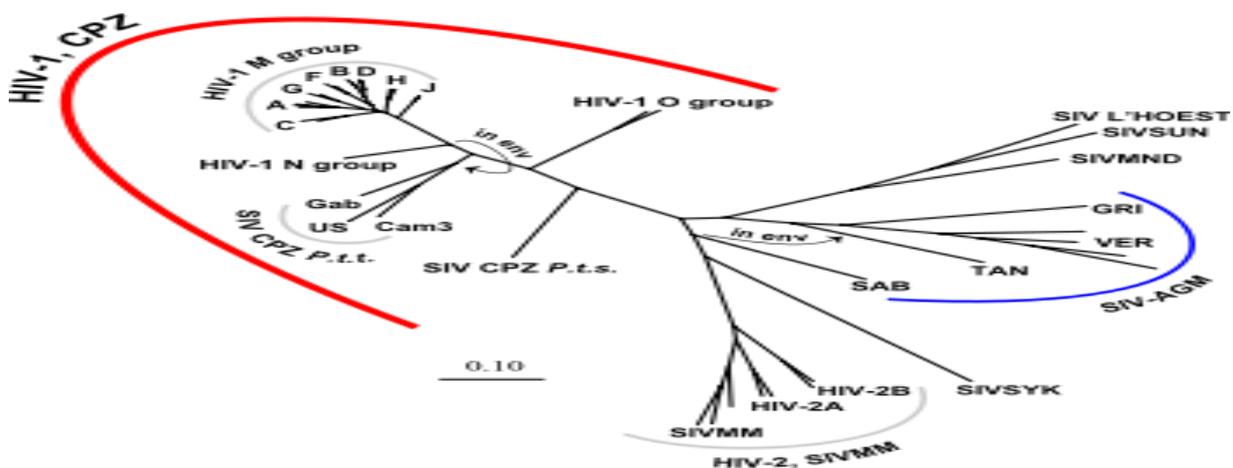


Figure 8 :Arbre phylogénétique du VIH et du SIV(20).

Le VIH est un virus qui a une très importante variabilité génétique et présente ainsi une très grande diversité. Deux sous-types du VIH (en) ont été découverts :

- VIH-1, le plus présent dans le monde
- VIH-2, moins coVIH-2, moins contagieux que VIH-1. Il sévit principalement en Afrique de l'Ouest. Il comprend le VIH-2A et le VIH-2B.

Au sein de chaque type existent plusieurs groupes qui, à leur tour, comportent des sous-types.

Depuis 1998, le VIH-1 est classé en quatre groupes auquel s'ajoute un quatrième identifié en 2009 chez une femme camerounaise résidant en France :

- groupe M (pour *major group*)
- groupe O (pour *outlier group*)
- groupe N (pour *non-M, non-O group*)
- groupe P (lettre choisie après la séquence M, N, O) fortement apparenté.
- Les trois premiers groupes (les M, O et N) sont proches du VIS_{cpz} infectant le chimpanzé et correspondraient chacun à une transmission indépendante du chimpanzé à l'Homme. Le dernier groupe (le P) cependant est fortement apparenté au VIS infectant le gorille (VIS_{gor}) et le chimpanzé (VIS_{cpz}).

Le groupe M prédomine largement avec plus de 40 millions de personnes contaminées, contre un peu plus de 500 pour le groupe O et seulement 7 pour le groupe N. Non seulement le groupe M est de loin le groupe le plus important en nombre de personnes contaminées, mais il est également celui qui est le plus répandu de par le monde, en étant présent sur tous les continents, alors que les autres groupes sont uniquement présents en centrale. Le groupe M comprend neuf sous-types ou clades (de A à D, de F à H, J et enfin K). S'ajoutent plusieurs formes recombinantes (en anglais *circulating recombinant form* ou CRF), qui ont pour origine la multiple infection d'une cellule par des sous-types différents, ce qui entraîne des mélanges dans le génome viral. Les sous-types et formes recombinantes du groupe M ne sont pas réparties uniformément sur toute la planète. Ainsi, en Europe, dans les Amériques et en Australie, c'est le sous-type B qui est le plus présent, alors qu'en Afrique c'est, selon les régions, le A et le C et, en Asie, toujours selon les régions, les groupes C et E. Bien que la variabilité génétique au sein d'un même groupe ne semble pas modifier, de manière significative, la pathogénicité ni la progression de l'infection, elle pose tout de même de sérieux problèmes pour la mise au point d'un vaccin efficace sur tous les groupes et souches du VIH, pour les mesures de la charge virale et dans certains cas particuliers de test VIH.

Dans ce dernier cas, c'est ainsi que les tests de dépistage basés sur des antigènes du VIH-1 de sous-type B et du VIH-2 de sous-type A peuvent présenter une sensibilité moindre pour la reconnaissance des autres sous-types, particulièrement lors de la primo-infection ou d'une

infection par des variants comme les VIH-1 du groupe O. Le virus de groupe O est surtout présent en Afrique de l'Ouest et Afrique centrale. Ce groupe se subdivise en 01, 02, telle la souche virulente en Sibérie 02_AG/A qui est un virus recombinant de deux souches africaines, 02 avec le sous-type A du groupe M.

3.8. Répartition géographique :

Le VIH est très répandu au niveau mondial, les VIH-1 de sous types non B représentent au moins 90% des virus circulants. Les sous types prédominants sont le sous type C, responsable de 50 % des infections, principalement en Afrique de l'Est, en Asie, le sous type A et le D en Afrique de l'Est, le sous type CRF02_AG en Afrique de l'ouest et le sous type B aux Etats-Unis, en Europe et en Australie.

En Afrique centrale, circulent les différents groupes du VIH-1 (M, N et O), l'ensemble des sous-types du groupe M et la majorité des formes recombinantes.

La 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 % de patients infectés par le virus de 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.

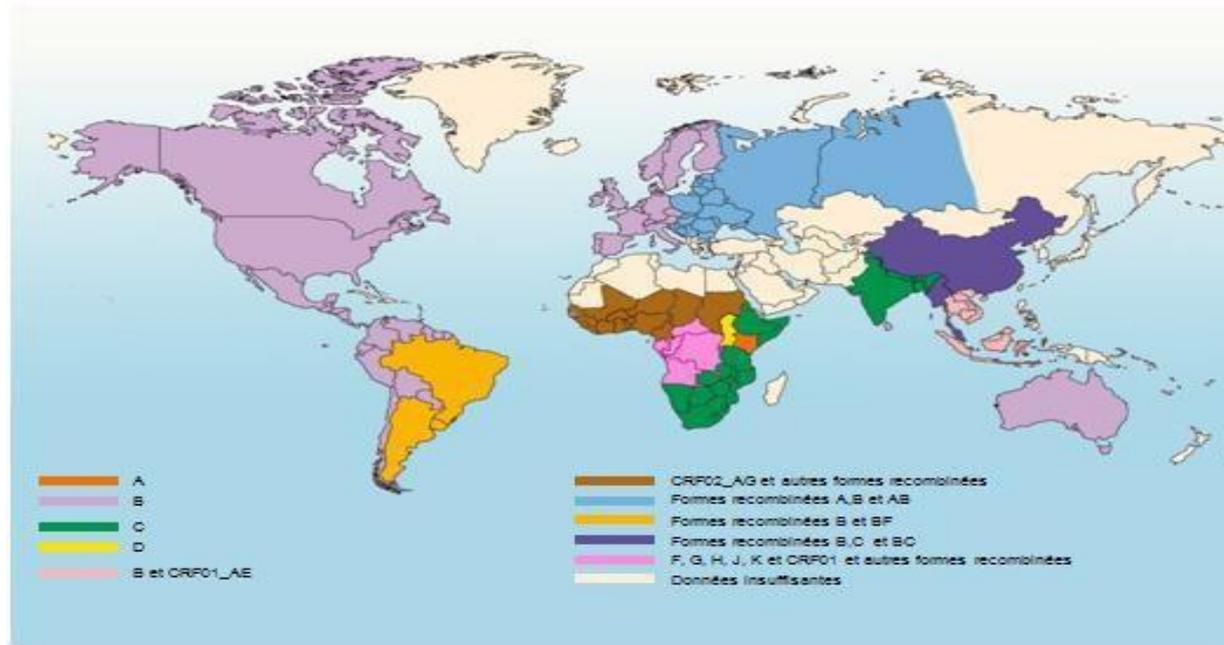


Figure 9: Distribution géographique des VIH-1 dans le monde.

Les sous-types les plus fréquents de façon décroissante sont : C, A, B, CRF02-AG et CRF01-AE

3.9. Protocole de prise en charge chez l'enfant (21) :

3.9.1. Diagnostic et classification du VIH/SIDA chez l'enfant :

Diagnostic du VIH :

✓ Chez les enfants de plus de 18 mois :

Le diagnostic est sur la base de tests sérologiques positifs selon les mêmes modalités que chez les adultes.

✓ Chez les enfants de moins de 18 mois :

Chez les enfants de moins de 18 mois, les tests sérologiques ne permettent pas d'affirmer l'infection à VIH. La démarche diagnostique dépendra alors de la disponibilité des tests virologiques.

✓ Les tests virologiques disponibles :

Le diagnostic est établi sur la base de deux tests ou plus (PCR ADN ou ARN VIH ou Antigène P24) réalisé sur deux échantillons différents à partir de 4 à 6 semaines d'âge. Chez les enfants sous allaitement, les tests devront être réalisés 8 semaines après l'arrêt de l'allaitement.

Un seul test PCR négatif permettra d'affirmer l'absence d'infection.

Lorsque les tests virologiques ne sont pas accessibles, le diagnostic présomptif d'infection VIH doit être évoqué chez un nourrisson avec sérologie VIH positive confirmé sur un deuxième prélèvement associé à :

- Un signe du stade IV OMS (Pneumopathie à *Pneumocystis jirovecii*,

Cryptococcose neuroméningée, cachexie ou malnutrition sévère, sarcome de Kaposi, Tuberculose pulmonaire)

- Deux ou plus des signes suivants : muguet, pneumopathie sévère, septicémie.
- Le décès maternel récent lié au VIH, une infection opportuniste sévère liée au VIH chez la mère, un taux de CD4 <20% chez le nourrisson sont aussi en faveur du diagnostic présomptif.
- Il est nécessaire de confirmer le diagnostic le plus tôt possible. Ce diagnostic présomptif devra être confirmé par des tests sérologiques, au plus tard à 18 mois d'âge.

Classification du VIH/SIDA :

L'appréciation du stade de l'affection VIH/SIDA est basée sur des critères cliniques et immunologiques selon la classification OMS révisée. Elle permet de suivre l'évolution de l'affection et de poser les indications des traitements prophylactiques et antirétroviraux.

Clinique :

La détermination de la sévérité clinique de l'infection VIH/SIDA repose sur la survenue chez d'évènements cliniques précis (cf. annexe), dont le diagnostic sera présomptif ou confirmé.

Tableau I: Classification OMS du SIDA

	Stade OMS
Asymptomatique	I
Modérée	II
Avancée	II
Sévère	IV

Classification clinique OMS révisée (21) :

Stade clinique 1 :

- Asymptomatique
- Lymphadénopathie généralisée

Stade clinique 2 :

- Hépatosplénomégalie
- Prurigo
- Dermatite séborrhéique

- Infection extensive à papillomavirus humain
- Infection extensive à molluscum contagiosum
- Infections fongiques des ongles
- Ulcérations orales récidivantes
- Erythème gingival linéaire
- Perlèche
- Hypertrophie parotidienne
- Zona
- Infections chroniques ou récidivantes des voies aériennes (otite moyenne,

Otorrhée, sinusite).

Stade clinique 3 :

Affections pour lesquelles le diagnostic présomptif peut être fait sur la base des signes cliniques ou d'examens simples :

- Malnutrition modérée inexpliquée répondant mal à la prise en charge standard
- Diarrhée persistante inexpliquée de 14 jours ou plus
- Fièvre prolongée inexpliquée (intermittente ou constante) de plus de 1 mois
- Candidose orale (en dehors de la période néonatale)
- Leucoplasie chevelue de la langue
- Gingivite/périodontite aiguë ulcéronécrosante
- Tuberculose pulmonaire
- Pneumonie bactérienne sévère récidivante
- Affections pour lesquelles le diagnostic doit être confirmé
- Affections pulmonaires chroniques associées au VIH incluant une atteinte des petites voies aériennes à type de bronchiectasie
- Pneumonie interstitielle lymphoïde
- Anémie inexpliquée (<8 g/dl) et/ou neutropénie (<1000/mm³) et/ou thrombocytopénie (<50 000 /mm³) pendant plus d'un mois.

Stade clinique 4 :

Affections pour lesquelles le diagnostic présomptif peut être fait sur la base des signes cliniques ou d'examens simples

- Syndrome cachectique ou malnutrition sévère inexpliqué ne répondant pas correctement à un traitement adapté
- Pneumonie à *Pneumocystis jirovecii*
- Infections bactériennes récurrentes présumées sévères (ex. empyème, pyomyosite, infections osseuses ou articulaires, méningite, à l'exclusion des pneumonies)

- Herpès chronique (orolabial ou cutané d'une durée de plus de un mois)
- Tuberculose extra pulmonaire
- Sarcome de Kaposi
- Candidose de l'œsophage
- Toxoplasmose cérébrale (en dehors de la période néonatale)
- Encéphalopathie à VIH
- Affections pour lesquelles le diagnostic doit être confirmé
- Infection à cytomégalovirus (rétinite ou d'un organe autre que le foie, la rate ou les ganglions ; début à un mois ou plus)
- Cryptococcose extra pulmonaire y compris méningite
- Mycose disséminée (ex: histoplasmose, coccidioidomycose, pénicilliose,...)
- Cryptosporidiose
- Isosporose
- Infection disséminée à mycobactéries atypiques
- Candidose de la trachée, des bronches ou des poumons
- Infection herpétique viscérale
- Fistule rectale acquise associée au VIH
- Lymphome (cérébral ou non hodgkinien à cellule B)
- Leucoencéphalopathie multifocale progressive
- Cardiomyopathie ou néphropathie associée au VIH

Immunologique

Chez l'enfant, la sévérité du déficit immunitaire induite par le VIH est appréciée sur la base du pourcentage des lymphocytes CD4 par rapport aux lymphocytes totaux.

Tableau II : Déficit immunitaire associé au VIH selon l'âge de l'enfant

Déficit immunitaire associé au VIH	Age de l'enfant			
	<11m	12-35m	36-59m	>5ans
Non significatif	>35%	>30%	>25%	$\geq 500 \text{ mm}^3$
Modéré	30-35%	25-30%	20-25%	$499-350 \text{ mm}^3$
Avancé	25-30%	20-25%	15-20%	$200-349 \text{ mm}^3$
Sévère	<25%	<20%	<15%	$<200 \text{ mm}^3$ ou <15%

3.9.2. Indication du traitement antirétroviral :

Chez les enfants et nourrissons pour lesquels l'infection est confirmée :

Le traitement est débuté dans les cas suivants :

- Stade OMS pédiatrique IV, quel que soit le taux de lymphocytes CD4.

- Stade OMS pédiatrique III, quel que soit le taux de CD4 ou de lymphocytes totaux chez les enfants de plus de 12 mois présentant une tuberculose, pneumopathie interstitielle, lymphoïde, leucoplasie chevelue de la langue, une thrombopénie, le traitement sera guidé par le taux de CD4.
- Stade OMS pédiatrique II, en fonction du taux CD4 ou de lymphocyte totaux.
- Stade OMS pédiatrique I en fonction du taux CD4.

Les critères immunologiques d'initiation du traitement sont rappelés ci-dessous :

Tableau III: Critères immunologiques d'initiation du traitement antirétroviral : CD4

CD4	Age de l'enfant			
	<11 mois	12-35 mois	36-59 mois	>5 ans
Pourcentage	<25%	<20%	<15%	<15%
Nombre de CD4	<1500/mm³	<750mm³	<350mm³	<200 mm³

Tableau IV: Critères immunologiques d'initiation du traitement antirétroviral : Lymphocytes totaux (à considérer uniquement si le comptage CD4 n'est pas disponible) :

Lymphocytes	Age de l'enfant			
	<11 mois	12-35 mois	36-59 mois	5 -8ans
Nombre de lymphocytes	<4000/mm³	<3000/mm³	<2500/mm³	<2000/mm³

Chez les enfants de moins de 18 mois avec infection non confirmée :

Avec une sérologie VIH positive, pour lesquels l'infection n'est confirmée sur le plan virologique, le traitement ne sera débuté qu'en cas d'infection VIH sévère présumé. (cf.ci dessus)

3.10. Définition des ARV :

Les ARV constituent un groupe de médicaments anti-infectieux antiviraux actifs sur les virus du SIDA (VIH1 et VIH2). Il s'agit de médicaments essentiellement virostatiques qui agissent par inhibition enzymatique (22).

3.10.1. Historique :

La Zidovudine (AZT), premier ARV à avoir été mis sur le marché, est connue depuis 1964 (étudiée pour ses propriétés anticancéreuses). Son activité ARV (sur le virus du Friend) fut démontrée en 1975 ; celle contre le VIH a été démontrée au National Cancer institutes (NCI) aux USA puis son développement clinique subventionné conduit dans un temps record à une autorisation de mise sur le marché (AMM) en 1987. Molécule simple dérivée de la thymidine,

extraite de la laitance de hareng, l'AZT a bénéficié rapidement de mode de production moins coûteux, à partir de D-xylose.

En 1987, Food and Drug Administration aux USA a homologué la Zidovudine (AZT).

Les années suivantes, d'autres nouveaux médicaments de la même famille ont été introduits (Didanosine, Stavudine, Abacavir, Lamivudine).

Les principaux problèmes rencontrés avec tous ces produits, y compris l'AZT sont leur activité limitée, leur toxicité et leur intérêt diminuant avec le temps à cause de l'apparition de résistances.

En 1996 une autre famille d'antirétroviraux fut disponible, les inhibiteurs de la protéase (IP) qui feront naître de nouveaux espoirs par la trithérapie (23).

3.10.2. Différentes classes thérapeutiques :

Appartenant à six classes d'ARV, plus d'une vingtaine (20) de molécules sont disponibles actuellement.

❖ Les inhibiteurs de la transcriptase inverse

✓ Les inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidique (INTI) :

Les INTI (ou NRTI pour nucléoside reverse transcriptase inhibitor) sont des pros médicaments qui doivent être triphosphorylés dans la cellule pour être actifs. Ils subissent une activation en nucléoside triphosphate par les kinases cellulaires.

Les formes triphosphates (et diphosphate pour le ténofovir) possèdent une forte affinité pour la transcriptase inverse du virus VIH-1 et entrent en compétition avec les désoxynucléosides 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 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 nucléotide en formation. Une fois phosphorylée, ces analogues trompent la transcriptase inverse en la faisant incorporer dans la chaîne de nucléotides en formation où ils servent de terminateur de chaîne (24).

Les analogues nucléosidiques 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 polyviscérales par acidose lactique, parfois fatales. Des rares cas de mitochondriopathies sévères ont été observés chez les enfants exposés aux antirétroviraux pendant la grossesse (25).

✓ Les inhibiteurs non nucléosidiques de la Transcriptase inverse (INNTI) :

Ces sont des composés de structure chimique complètement différentes 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 inactif (26).

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 de groupe O et du VIH-2.

❖ **Les inhibiteurs de la protéase (IP) :**

Les inhibiteurs de la protéase (IP ou PI pour protease 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 sont l'objet d'interactions avec d'autres médicaments utilisant les mêmes voies métaboliques.

Certains de ces 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 (26).

❖ **Les inhibiteurs d'entrée :**

Les inhibiteurs d'entrée ont plusieurs avantages sur les inhibiteurs de la transcriptase inverse et les inhibiteurs de la protéase principalement parce qu'ils agissent de façon extracellulaire.

Par conséquent, ils n'ont pas besoin de traverser la membrane cellulaire, ni besoin d'une 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 chimiokines, en particulier le CCR5 et le CXCR4 (27).

Sur la partie transmembranaire du corécepteur et induisent alors une modification des domaines extracellulaires du corécepteur qui empêche la fixation de la gp120 (28).

❖ **Les inhibiteurs de 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'ectodomaine (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 chémokines. 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 la gp41 sous sa conformation de « repos » et l'empêcherait ainsi d'adopter une conformation en épingle à cheveux favorable à la fusion (29).

❖ 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 (30).

Les inhibiteurs de l'intégrase sont actifs sur les virus résistants aux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI), aux inhibiteurs non nucléosidiques 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 V: liste des molécules ARV commercialisées(30).

Dénomination Commune Internationale (DCI)	Abréviation	Nom Commer- cial	Autorisation de mise sur le marché
Inhibiteurs Nucleosidiques de la Transcriptase Inverses			
Zidovudine	AZT	Retrovir	1987
Lamivudine	3TC	Epivir	1996
Stavudine	d 4T	Zerit	1996
Didanosine	ddI	Videx	1992
Abacavir	ABC	Ziagen	1999
Emtricitasine	FTC	Emtriva	2003
Inhibiteurs Nucleosidiques de la Transcriptase Inverses			
Tenofovir	TDF	Viread	2002
Inhibiteurs Non Nucleosidiques de la Transcriptase Inverses			
Nevirapine	NVP	Viramune	1998

Efavirenz	EFP	Sustiva	1999
Etravirine	ETR	Emtelence	2008
Rilpivirine	RPV	Edurant	2013
Combinaison d’Inhibiteurs de la Transcriptase Inverses			
Zidovudine / Lamivudine	AZT/3TC	Combivir	1998
Tenofovir / Emtricitasine	TDF/ FTC	Truvada	2005
Abacavir Lamivudine	ABC/3TC	Kivexa	2004
Zidovudine/ Emtricitasine Efavirenz	AZT/ FTC/ EFP	Trivizir	2000
Stavudine/ Lamivudine Nevirapine	d 4T/3TC/ NVP	Triomune	2001
Inhibiteurs de la protease			
Indinavir	IDV	Crixivan	1996
Ritonavir	RTV	Norvir	1996
Saquinavir	SQV	Invirase	1996
Nelfinavir	NFV	Viracept	1998
Fosamprenavir	FosAPV	Telzir	2004
Atazanavir	ATV	Reyataz	2004
LopinavirRitonavir	LPV/r	Kaletra	2001
Tipranavir	TPV	Aptivus	2005
Darunavir	DRV	Prezista	2008
Inhibiteurs d’entrée			
Enfuvirtide	T20	Fuzeon	2003
Maraviroc	MRV	Celsentri	2008
Inhibiteur d’intégrase			
Raltégravir	RGV	Isentress	2008
Elvitegravir	EVG	Vitekta	2013
Dolutegravir	DTG	Tivicay	2013

3.10.3. Nouvelles molécules antirétrovirales :

La CROI 2011 (Conférence sur les Rétrovirus et les Infections Opportunistes 2011) à Boston (USA) du 27 Février au 2 Mars a permis de faire le point sur *la Rilpivirine*, un non nucléosidique, *le Dolutégravir*, une anti-intégrase, et *le BMS-068*, un inhibiteur d’attachement.

La rilpivirine proche du niveau structural de l'étravirine a été développée par Jansen. Elle a été approuvée en Mai 2011 aux Etats-Unis par la Food and Drug Administration, elle est en cours d'évaluation en Europe (31).

Le dolutégravir est un nouvel inhibiteur développé récemment par ViiV Healthcare. Les résultats d'étude de phase IIb permettront de mieux conclure sur l'efficacité du dolutégravir chez les patients infectés par un virus résistant au raltégravir.

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.

Une revue systématique de l'OMS actualisée mise à jour en 2019 pour soutenir les lignes directrices réaffirme qu'un schéma thérapeutique de première intention du DTG combiné à deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) conduit à une suppression virale plus élevée et à un risque moindre d'interrompre le traitement et développer une résistance aux médicaments anti-VIH comparés aux schémas à base de EFV chez les patients adultes naïfs traités. DTG présente d'autres avantages par rapport à EFV, notamment: potentiel d'interactions médicamenteuses plus faible, virus plus rapide, suppression et barrière génétique plus élevée au développement du VIH résistance aux médicaments. Le DTG est également actif contre le VIH-2 infection, qui est naturellement résistant à la EFV. Cependant, un risque accru de troubles du sommeil et d'un gain de poids a également été détecté.

Les avantages et les risques de l'utilisation de DTG à la conception ont été évalués en examinant les dernières données du Botswana, d'autres pays et la modélisation des risques au niveau de la population et avantages de l'utilisation de DTG chez les femmes en âge de procréer. Le risque d'anomalies du tube neural associé à l'utilisation de DTG à la conception a diminué depuis le rapport initial publié en mai 2018 mais reste statistiquement significative plus élevé que dans les autres groupes exposés aux ARV. Une surveillance continue est nécessaire pour confirmer plus définitivement ou réfuter le signal de défaut du tube neural, et plusieurs études sont en cours pour y remédier. Les femmes devraient recevoir des informations sur les avantages et les risques de faire un choix éclairé concernant l'utilisation de DTG ou autre TAR(32).

3.10.4. Stratégies de traitement antirétroviral :

En l'absence de vaccin anti-VIH, le traitement antirétroviral comme outil de prévention de la transmission est une évolution récente et majeure, avec plusieurs études qui démontrent le rôle bénéfique des ARV non plus seulement au niveau de la santé de l'individu mais aussi dans la réduction drastique de la contagiosité lorsque la charge virale plasmatique est contrôlée sous traitement (33).

Ainsi l'OMS recommandent l'initiation du traitement chez les patients symptomatiques (infection opportuniste majeure, autre affection de la catégorie C de la classification CDC 1993 ou symptômes marqués ou récidivants de la catégorie B) et chez les sujets asymptomatiques ayant un nombre de lymphocytes CD4 < 500 / mm³.

Schémas thérapeutiques :

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

Au Mali, les régimes préférentiels en première intention ou schéma de 1ère ligne et en deuxième intention ou de 2ème ligne chez l'adulte et l'adolescent sont les suivants(6).

❖ Schémas de 1ère ligne

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

Le régime préférentiel en première intention est le suivant :

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

Les régimes alternatifs suivants sont possibles :

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

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

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

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

Selon la revue systématique de l'OMS actualisée mise à jour en Juillet 2019, les schémas de première ligne suivants sont proposés(32):

- Les schémas thérapeutiques antirétroviraux de première intention préférés et alternatifs :

Chez les adultes et les adolescents : TDF + 3TC (ou FTC) + DTG

Chez les enfants : ABC + 3TC + DTG

Chez les nouveau-nés : AZT + 3TC + RAL

- Régime de première ligne préféré par la population Alternative en première ligne :

Chez les adultes et adolescents : TDF + 3TC + EFV 400 mg

Chez les enfants : ABC + 3TC + LPV / r

ABC + 3TC + RAL

TAF + 3TC (ou FTC) + DTG

Chez les nouveau-nés : AZT + 3TC + NVP

- Régime Circonstances spéciales :

Chez les adultes et adolescents : TDF + 3TC (ou FTC) + EFV 600 mg

AZT + 3TC + EFV 600 mg

TDF + 3TC (ou FTC) + PI / RB

TDF + 3TC (ou FTC) + RAL

TAF+ 3TC (ou FTC) + DTG

ABC + 3TC + DTG

Chez les enfants : ABC + 3TC + EFV (ou NVP)

AZT + 3TC + EFV(ou NVP)

AZT + 3TC + LPV / r (ou RAL)

Chez les nouveau-nés : AZT + 3TC + LPV / r

Tableau VI : Toxicité des antirétroviraux de première ligne et substitutions recommandées (OMS) :

ARV 1ère ligne	Toxicité la plus fréquente	Changement
ABC	Réaction d'hypersensibilité	AZT ou TDF
AZT	Anémie sévère ou neutropénie <500mm ³ Intolérance gastro-intestinale sévère Acidose lactique	TDF ou ABC ABC TDF ou ABC
TDF	Toxicité rénale	AZT ou ABC
EFV	Toxicité du système nerveux central	NVP ou TDF ou

NVP	Hépatite	EFV ou TDF ou ABC
	Réaction d'hypersensibilité Rash sévère mettant la vie en danger	TDF ou ABC

NB : Pour les enfants âgés de moins de 18 mois :

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

En alternatif, on pourra utiliser la névirapine. L'efavirenz ne doit pas être utilisé chez les enfants âgés de moins de 3 ans ou pesant moins de 10 kg. Abacavir chez les enfants de moins de 3 ans ou moins de 10 kg.

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.

DTG est approuvé pour une utilisation chez les enfants de plus de six ans et pesant plus de 15 kg et est largement disponible pour les enfants pesant au moins 20 kg et pouvant prendre 50 mg de comprimés adultes enrobés. Dosage DTG pour les enfants pesant moins de 20 kg est prévu pour fin 2019, et un comprimé dispersible pour les enfants est en cours de développement, avec l'approbation attendue dans mi-2020. Parmi les enfants pour qui le dosage approuvé de DTG n'est pas disponible, le raltégravir (RAL) est considéré comme un médicament efficace. Cette option est approuvée dès la naissance. RAL avec succès réduit la charge virale chez les nourrissons très virémiques et est sans danger et bien toléré chez les nouveau-nés et les nourrissons à haut risque d'infection.

❖ Schémas de 2ème ligne

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

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

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

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

Les schémas suivants sont proposés.

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

Schéma 1 ^{ère} ligne	Schéma 2 ^{ème} ligne	
	INTI	IP
TDF +3TC + (EFV ou NVP)	AZT+3TC	LPV/r ou ATV/r
AZT + 3TC + (EFV ou NVP)	TDF+3TC	
ABC+ 3TC + (EFV ou NVP)	TDF+3TC AZT+3TC	

Selon la revue systématique de l'OMS actualisée mise à jour en Juillet 2019, les schémas de seconde ligne suivants sont proposés(32):

- Schémas thérapeutiques antirétroviraux préférés et alternatifs des populations en échec du schéma thérapeutique de première intention :

Chez les adultes et adolescents : TDF+ 3TC (ou FTC) + DTG

TDF + 3TC (ou FTC) + EFV(ou NVP)

AZT + 3TC + EFV (ou NVP)

Chez les enfants et les nouveau-nés : ABC + 3TC + DTG

ABC (ou AZT) + 3TC + LPV / r

ABC (ou AZT) + 3TC + EFV

AZT + 3TC + NVP

- Schéma préféré de deuxième intention

Chez les adultes et adolescents : AZT + 3TC + ATV / r (ou LPV / r)

AZT + 3TC + DTG

TDF+ 3TC (ou FTC) + DTG

Chez les enfants et les nouveau-nés : AZT + 3TC + LPV / r (ou ATV / r)

AZT (ou ABC) + 3TC + DTG

AZT (ou ABC) + 3TC + DTG

ABC + 3TC + DTG

- Schémas alternatifs de deuxième intention

Chez les adultes et adolescents : AZT + 3TC + DRV / r

AZT + 3TC + ATV / r (ou LPV / r ou DRV / r)

TDF+ 3TC (ou FTC) + ATV / r(ou LPV / r ou DRV / r)

Chez les enfants et les nouveau-nés : AZT + 3TC + DRV / r

AZT (ou ABC) + 3TC + RAL

AZT (ou ABC) + 3TC + LPV / r (ou ATV / r)

ABC + 3TC + LPV / r (ou ATV / r ou DRV / r)

Schémas de 3ème ligne

Choix des molécules de 3e ligne :

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

Optimisation de la nouvelle combinaison thérapeutique de 3ème ligne

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

Le schéma de troisième ligne recommandé sera :

Darunavir/r (DRV/r)+ 1INTI sensible + Raltégravir (RLT) (6).

Echec thérapeutique :

L'échec thérapeutique regroupe différentes situations.

3.10.4.1. Echec clinique :

Il se caractérise par la survenue de manifestations cliniques témoins de la progression de la maladie VIH (symptômes liés au VIH, nouvelle infection opportuniste ou rechute d'une infection préexistante, survenue de tumeurs(34).

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

3.10.4.2. Echec immunologique :

Il est défini par l'absence d'ascension des lymphocytes 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 préthérapeutique bas, un âge plus avancé. Cet échec peut s'accompagner d'un succès ou d'un échec virologique(34).

3.10.4.3. Echec virologique :

L'échec virologique constitue la situation la plus fréquemment rencontrée. Il est stricto sensu défini comme toute valeur détectable de la charge virale plasmatique, c'est-à-dire juste au-dessus du seuil de détection. Actuellement, un seuil à 50 copies/ml est le plus souvent utilisé et constitue l'objectif à atteindre pour toute intervention thérapeutique quelle que soit la situation thérapeutique : traitement initial ou traitements de ligne ultérieure (5).

Il n'existe pas toujours de formes galéniques adaptées à l'usage pédiatrique. Les formes pédiatriques (sirops, suspensions) sont utilisées chez l'enfant de moins de 15 kg ; on préférera les comprimés pour l'enfant de plus de 15 kg(9).

Au Mali, l'échec virologique est défini comme étant l'impossibilité de réduire la charge virale à un niveau indétectable après six mois de traitement bien conduit. Il est caractérisé par une charge virale plasmatique supérieure à 1000 copies/ml après vérification de l'observance(6).

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 (35).

En règle générale, l'échec virologique résulte d'une inhibition suboptimale de la réplication virale, conséquence d'une puissance insuffisante du traitement. Celle-ci peut être due : à une concentration de molécules antirétrovirales insuffisante, résultant soit d'un défaut d'observance, soit de posologies inadaptées, soit d'interactions médicamenteuses néfastes ; au développement de la résistance vis-à-vis d'une ou de plusieurs molécules antirétrovirales (36).

3.10.4.3.1. Observance :

Compte tenu de la puissance antirétrovirale des traitements actuellement utilisés en initiation, l'absence de réduction de la charge virale d'au moins $1\log_{10}$, 1 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.

3.10.4.3.2. Résistance aux ARV (14) :

La résistance aux antirétroviraux est la sélection de variant portant des mutations sur les différents gènes ciblés par les traitements.

Les mécanismes de résistance diffèrent d'une classe thérapeutique à une autre.

❖ Les inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidique de la TI :

Deux mécanismes différents sont responsables de la résistance aux INTIs.

D'une part, il existe un phénomène d'excision de l'analogue nucléosidique/nucléotidique incorporé en présence de TAMs (Thymidine Analogs Mutations); ces mutations favorisent l'accès de l'ATP au site de polymérisation de l'ADN proviral, qui va exciser l'analogue thymidique inséré, permettant ainsi au nucléoside naturel de s'y incorporer. Les TAMs sont sélectionnées par l'AZT et le d4T, analogues de la thymidine, et elles sont responsables de la résistance à tous les INTIs, à différents niveaux.

L'autre mécanisme de résistance est la diminution de l'incorporation des analogues nucléosidiques/nucléotidique, au profit des nucléosides naturels, dans la chaîne d'ADN viral; il y a donc reprise de la synthèse de l'ADN, donc également de la réplication virale. Ce type de résistance est régi par la mutation de résistance au 3TC/FTC.

❖ Les inhibiteurs non nucléosidiques de la TI :

Une seule mutation, proche du site actif, peut entraîner une résistance croisée de haut niveau aux INNTI de première génération; ce sont des molécules qui ont une barrière génétique faible. Si une mutation apparaît dans la poche hydrophobe, l'inhibiteur ne peut plus venir s'y fixer pour bloquer l'activité de la TI.

❖ Les inhibiteurs de protéase :

Il existe deux types de mutations: les mutations majeures et les mutations mineures.

Une mutation majeure va changer la conformation du site actif de la protéase, empêchant ainsi l'IP de venir s'y fixer.

Une mutation mineure ne va pas influencer la liaison de l'IP au site actif: à elle seule, elle ne confère pas de résistance. Mais l'accumulation de celle-ci avec une mutation majeure ou de nombreuses mutations mineures confèrent une résistance aux IP. De nombreuses mutations mineures sont situées au niveau de positions polymorphiques présentes dans de nombreux VIH-1 de sous-type non-B.

❖ Les inhibiteurs d'entrée :

Inhibiteurs de fusion

L'enfuvirtide ou T20 (Fuzeon®), seul représentant de la classe, est un polypeptide synthétique dont la séquence correspond à la région HR2 de la gp41 et qui se fixe sur la région HR1 de cette même glycoprotéine. Les premières études *in vitro* mirent en évidence le développement de mutations de résistance sur trois codons de cette région. Puis les études *in vivo* chez des patients en échec de T20 ont montré l'émergence de mutations sur un nombre plus large de positions. Ces mutations sont situées au niveau des codons 36 à 45 du gp 41. Ces mutations suffisent parfois à engendrer un niveau élevé de résistance traduisant ainsi la faible barrière génétique du T20 et la nécessité de l'associer à d'autres molécules pleinement actives pour éviter un échec virologique rapide.

Inhibiteurs des corécepteurs

De petites molécules inhibitrices de l'interaction gp 120-CCR5, telles que le maraviroc, sont des antagonistes allostériques non compétitifs qui se lient au même site que la gp 120 sur le corécepteur CCR5. *In vitro*, la résistance au maraviroc est liée à des changements de la gp 120 qui permettent à l'enveloppe virale de s'attacher au complexe CCR5-maraviroc mais d'isolats cliniques résistants au maraviroc ont été étudiés. La résistance semble associée à des mutations de la boucle V3, variables d'un isolat à l'autre, du maraviroc chez des patients prétraités par des antirétroviraux.

Les inhibiteurs de l'intégrase

La résistance aux inhibiteurs d'intégrase est due à la sélection et à l'émergence, sous traitement, de variants viraux initialement minoritaires, portant des mutations de résistance. *In vivo*, deux profils majoritaires distincts comportant soit la mutation N155H, soit la mutation Q148H/K/R, associées à une ou plusieurs mutations secondaires, ont été mis en évidence en cas d'échappement virologique au raltégravir.

En ce qui concerne l'elvitégravir, différents profils peuvent être sélectionnés, notamment les mutations E92G/Q ou N155H ou Q148R/K. Il existe une résistance croisée entre raltégravir et elvitégravir.

4. METHODOLOGIE :

4.1. Cadre et lieu de l'étude :

Notre étude s'est déroulée dans l'unité de charge virale du laboratoire d'analyse biomédicale du **Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré (CHU-GT)**.

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

Le département du laboratoire d'analyses biomédicales est composé :

- d'un service biomédical
- d'un service de transfusion sanguine
- et bientôt d'un service d'anatomo-pathologie.

4.2. Type et période d'étude :

Il s'agissait d'une étude transversale qui s'est déroulée sur les données du 1^{er} janvier 2018 au 31 décembre 2018.

4.2.1. Echantillonnage :

L'étude a concerné 744 enfants infectés par le VIH-1 sous traitement ARV ayant bénéficiés d'une charge virale plasmatique dans notre laboratoire. Les patients provenaient essentiellement du département de pédiatrie du CHU-Gabriel Touré et du CHU-Point G. Nous avons fait un recrutement consécutif des enfants ayant bénéficiés d'une charge virale au CHU-Gabriel Touré.

4.2.2. Critères d'inclusion :

Ont été inclus :

Les enfants infectés par le VIH-1 âgés de moins de 18ans ;

Et sous traitement ARV depuis au moins 6 mois ayant au moins une charge virale.

4.2.3. Critères de non inclusion :

N'ont pas été inclus :

Les enfants ne répondant pas aux critères ci-dessus cités ;

Tous les enfants infectés par le VIH-2.

4.3. Aspects Ethiques :

L'étude a été réalisée au laboratoire de la charge virale où les dossiers des enfants sont déjà enregistrés dans la base des données sur un fichier Excel. Des dispositions ont été prises pour préserver la confidentialité sur les informations portant sur l'identité des patients enfants inclus dans la base (par exemple l'utilisation des numéros à la place des noms pour préserver l'anonymat des patients enfants).

4.4. Méthode utilisée :

Il s'agissait de faire la charge virale pour tous les patients en demande dans le laboratoire du CHU Gabriel Touré.

Les charges virales ont été effectuées sur "Abbott Real Time HIV-1 Quantitative Assay" avec des kits prêts à l'emploi.

Les données sur les paramètres démographiques, comme l'âge et le sexe, les renseignements sur les traitements reçus ainsi que les paramètres immunovirologiques ont été obtenus à partir des fiches de demande de charge virale.

4.4.1. Technique Abbott HIV-1 Real TimeTM(37):

4.4.1.1. Principe:

La RT-PCR en temps réel sur Abbott HIV-1 Real Time Quantitative Assay est un test d'amplification de signal de l'ARN cible converti en ADNc grâce à l'activité de transcription inverse de la polymérase thermostable rTth ADN pour la quantification directe d'ARN VIH-1 dans le plasma ou autres liquides biologiques des individus infectés. En premier lieu, les amorces ou primer de transcription inverse du VIH-1 et du contrôle interne s'hybrident avec leurs cibles respectives et s'étendent au cours d'une période d'incubation prolongée. Ces deux amorces sont non compétitives, et le CI (Contrôle Interne) est détecté même à des niveaux élevés de VIH. La cible de l'amorce VIH-1 est le gène de l'intégrase dans la région pol.

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

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

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

Résultats et interprétation

Le cycle d'amplification au cours duquel le signal fluorescent est détecté par le *m2000rt*, est proportionnel au log de la concentration d'ARN VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. Le logiciel m2000 Software version 5.0 donne les résultats en copies/ml ou en Log10 (copies/ml).

4.4.1.2. Organisation du local de la charge virale :

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

Réactifs et matériels

Les réactifs et matériels ont été répartis par zone.

Zone 1

Secteur 1

Réactifs

✓ Réactifs d'extraction ARN : "*Abbott m Sample Preparation System Reagents*" :

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

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

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

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

- CAL A = Calibrator A (Calibrateur A), flacon de 1,8 ml d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;
- CAL B = Calibrator B (Calibrateur A), flacon de 1,8 ml d'ARN encapsulé non infectieux contenant des séquences de VIH-1 dans du plasma humain négatif analysé et trouvé non réactif pour l'AgHBs, l'ARN VIH, l'ARN VHC, l'ADN VHB et pour les anticorps anti-VIH-1/VIH-2 et anti-VHC ;
- Ethanol 70% ;
- Hypochlorite de sodium ;
- Eau distillée.

Matériels et consommables

- Deux bains secs pour des tubes de 1,5 ml (75°C) et des tubes de 12 x 75 mm (50°C) ;
- Trois pissettes, une pour l'éthanol, une pour l'hypochlorite de sodium et une pour l'eau distillée ;
- Un chronomètre ;
- Des poubelles et sacs plastiques autoclavables et non autoclavables ;
- Deux congélateurs de - 25°C et - 16°C ;
- Des marqueurs de tubes
- Vortex ;
- Supports (portoires) magnétiques (rouge) pour des tubes de 12 x 75 mm ;
- Supports (portoires) magnétiques (bleu) pour tubes de 1,5 ;
- Portoires (4) non magnétiques pour les échantillons, les contrôles, les calibrateurs, les tubes de 1,5 ml et les tubes de 12 x 75 mm
- Portoires métalliques (2) pour contrôles et calibrateurs ;
- Multipette 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'éluion 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 Combitips 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 Beckmann ;
- Cryotubes DNase/RNase free de 2 ml pour la conservation des aliquotes

Secteur 2

Réactifs

- ✓ Kit de réactifs d'amplification "*Abbott Real Time HIV-1 Amplification Reagent kit*"
- Réactif 1 = 0,40 ml de réactif d'activation "Activation Reagent", 30 mm de solution de chlorure de manganèse ;
- Réactif 2 = 1,10 ml de réactif d'oligonucléotides de VIH-1 = 4 amorces, 2 sondes et 1 oligonucléotide désactivateur, et de dNTPs dans une solution tampon contenant un fluor chrome de référence ;
- Réactif 3 = 0,141 ml d'enzyme Roth 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 Reaction Plate*" ;
- Pointes à filtres, RNase free 1000 µL ;
- Pointes à filtres, RNase free 100 µL ;
- Tubes DNase/RNase free de 1.5 ml de type Beckman ;
- Gants non poudrés
- Poubelles.

Zone 2

Equipements :

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

Réactifs

- Kit de calibration optique qui comprend les éléments suivants :

- 1 Plaque de calibration de la région d'intérêt (ROI) ; 96 puits, 0,1 ml/puits, 0,2 µM de fluor chrome dans une solution tampon ;
- 1 plaque de comptage du bruit de fond ; 96 puits, 0,05 ml/puits, solution tampon ;
- Plaques de fluorochromes purs (CyTM5, FAMTM, JOETM, NEDTM, ROXTM, SYBR®, TAMRATM et VIC®) ; 1 plaque par fluor chrome, 96 puits, 0,05 ml/puits, 0,2 µM de fluor chrome dans une solution tampon.
- Ethanol 70% ;
- Eau distillée et de l'hypochlorite de sodium.

Matériels et consommables

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

4.4.1.3. Procédure de prélèvement de sang pour la charge virale

✓ Lignes directives de prélèvement :

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

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

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.

✓ Technique de prélèvement et transport

Prélèvement sur tube EDTA (bouchon violet) 2 tubes de 5 ml bien remplis.

Les tubes héparinés et les tubes secs ne doivent pas être utilisés.

Homogénéiser selon les techniques de prélèvements habituels pour éviter la formation de caillots.

Remplir correctement la fiche de demande (par le médecin), le laboratoire doit vérifier que la fiche est bien remplie.

Le prélèvement de sang doit être acheminé dans une glacière ou un sac thermostable à +4°C jusqu'à destination au plus tard dans les 12 heures qui suivent le prélèvement.

NB : ne pas congeler le sang total (éviter le contact direct entre le tube et les hicc-packs).

✓ Technique pour les sites qui sont capables de centrifuger et de stocker le plasma à -20°C et transport.

Faire exactement comme en ci-dessus

Centrifuger à 2600 tours/mn pendant 15 mn (centrifuger dans les deux heures qui suivent). Recueillir le plasma et faire au moins deux (02) ou trois (03) aliquotes de 1,5 ml dans un cryotube puis ranger dans un cryobox et conserver à - 20°C avant expédition.

- Garder les plasmas au congélateur à cette même température.
- 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 plasmathèque.

4.4.1.4. Procédure de la technique⁽³⁷⁾ :

Consignes de sécurité :

Prendre les précautions universelles en tout temps : Tous les échantillons, y compris les contrôles, doivent être traités comme s'ils étaient potentiellement infectieux.

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

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

L'extraction des ARN du VIH-1 :

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

Le système de préparation des échantillons Abbott *mSample Preparation system* utilise la technologie des particules magnétiques afin de capturer les acides nucléiques et laver les *L'* 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 quel que soit le nombre d'échantillons (24 ou 48) était de 4 heures.

Mode opératoire :

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

1. Nettoyer le petit matériel avec de l'hypochlorite de sodium, puis à l'eau distillée et enfin à l'éthanol 70%. Utilisez du papier buvard pour le nettoyage du petit matériel ;
2. Allumer les bains à sec chauffant : réglez le bain des tubes de 12 x 75 mm à 50°C et celui des tubes de 1,5 ml à 75°C ;
3. Décongeler les échantillons, les contrôles, les calibrateurs et le contrôle interne s'ils sont congelés à une température comprise entre 15 et 30°C ou 2 et 8°C (vérifier toujours l'absence de cristaux dans les réactifs, sinon amener les solutions à température ambiante jusqu'à ce qu'ils disparaissent) :

Passez les échantillons 3 fois au vortex;

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

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

4. Etiqueter tous les tubes (nombre requis pour la manipulation, de 24 à 52) : pour chaque échantillon, un tube de 12 x 75 mm et un tube microfuge à bouchon à vis de 1,5 ml ;
5. Préparer le tampon *mLysis* et ajoutez 500 µL de contrôle interne par flacon de tampon de lyse (1 flacon pour un protocole de 24 à 26 échantillons et 2 flacons pour un protocole de 48 à 52 échantillons) et mélangez par retournement 5 à 10 fois tout en évitant la formation de mousse ;
6. Remettre les particules *mMicroparticules* en suspension en secouant doucement d'avant en arrière jusqu'à ce que les particules soient en suspension ;
7. Préparer les tampons de lavage *mWash 1* et *mWash 2* et le tampon d'élution *mElution* en mélangeant par retournement 5 à 10 fois ;

8. Lyse :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

11. Premier lavage Wash 1 :

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

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

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

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

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

13. Second lavage Wash 1 :

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Préparation et distribution des réactifs d'amplification :

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

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

Changez de gants après l'étape 2.

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

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

2. Préparation du master mix :

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

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

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

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

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

1. Retirer la base et couvercle "*StrataCooler 96*" (conserver à -20°C) et Portoir de travail en métal pour "*StrataCooler 96*" (conserver à +4°C) du réfrigérateur et les montez ;

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

3. distribuer le master mix à l'aide d'une pipette réservée à cet usage, distribuer des aliquots de 50 μL dans la plaque à 96 puits en allant du puits A à H et de A1 à A12. Utiliser le même embout pour distribuer le master mix dans tous les puits et éviter la formation de bulles dans les puits ;
4. vérifier visuellement le niveau de remplissage, que 50 μL (et pas plus) ont bien été distribués dans chaque puits et transférer le "*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 2**.

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 contrôle négatif, contrôle positif faible et le contrôle positif fort ;

Homogénéiser le mélange réactionnel en aspirant et rejetant la solution dans le puits 3 à 5 fois ; utiliser un embout de pipette différent pour chaque transfert d'éluât d'échantillon ;

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

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

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

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

Amplification/détection :

✓ **Amplification :**

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

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

Pendant chaque cycle de thermocyclage, les produits d'amplification se dissocient en brins simples sous l'effet de la température élevée, permettant à l'amorce de s'hybrider et de s'étendre

lorsque la température baisse. L'amplification exponentielle du produit est réalisée grâce aux cycles répétés entre températures élevées et basse pour obtenir une amplification des séquences cibles d'un milliard ou plus. Les deux cibles (VIH-1 et le contrôle interne) sont amplifiées simultanément au cours de la même réaction.

✓ **Détection :**

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

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

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

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

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

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

- la calibration de la lampe ;
- la calibration de la région d'intérêt (ROI) ;
- la calibration de l'uniformité (Uniformity);
- la calibration du comptage du bruit de fond (Background);
- les calibrations des fluorochromes purs (VIC®, TAMRATM, ROXTM, FAMTM)

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

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

Procédure de démarrage de l'amplification et de détection :

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

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

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

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

Saisissez 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 Comments>** (commentaires relatifs à la plaque).

Sélectionner **<Next>** afin d'exécuter la création de la demande de dosage, l'écran **<Create Test Order: Controls and Calibrators>** s'affiche et saisissez 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 calibre, un contrôle ou un échantillon patient en allant de gauche à droite (de A1 à A12) et de haut en bas (de A à H);

Sélectionner <Next>

2. Démarrer l'amplification et la détection :

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

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

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

Procédures post-traitement :

✓ **Zones de préparation des échantillons et des réactifs :**

1. Au moment du traitement des échantillons, les consommables sont jetés dans un sac plastique hermétique (autoclavable) ;
2. Retirer les tubes de 1,5 ml du plan de travail et les jetez dans un sac en plastique hermétique ;
2. Décontaminer les paillasse ainsi que tout le petit matériel à l'hypochlorite de sodium, puis à l'eau distillée et enfin à l'alcool 70%. Utilisez du papier buvard pour le nettoyage ;
3. Nettoyer le "*StrataCooler 96*" avec uniquement de l'éthanol 70% et le rangez dans le réfrigérateur suivant le mode de conservation ;
4. Nettoyer la base de support anti-éclaboussures en la plongeant dans de l'hypochlorite de sodium pendant au moins 15 minutes, la nettoyez ensuite à l'eau distillée et à l'éthanol 70%.

✓ **Zone d'amplification :**

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

• **Elimination et destruction des produits d'amplification :**

Les sacs plastiques, après manipulation sont acheminés au niveau de la salle de stérilisation pour y être autoclavés avant leur destruction. □

• **Interprétation et rendu des résultats :**

Les résultats sont automatiquement rendus sur la station de travail *m2000rt*. Ils peuvent être exprimés en copies/ml, en log [copies/ml], en unités internationales (UI)/ml, ou en log [UI/ml] ; (1UI = 0,58 copies, 1 copie = 1,74 UI). Les expressions les plus utilisées sont : copies/ml et log [copies/ml]. Les critères des résultats étaient ceux adaptés par l'OMS.

4.4.1.5. Analyse des données :

Nos données ont été saisies avec Excel 2007 et analysées par le logiciel Epi Info V.7.2.2.2, 2018.

5. RESULTATS :

Au terme de notre étude, 744 patients enfants avaient bénéficiés d'une charge virale effectuée au CHU-GABRIEL TOURE, sur lesquels 484 enfants avaient une virémie détectable, parmi lesquels 261 enfants avaient une charge virale >1000 copies/ml soit un taux d'échec virologique de 35,08%.

Les enfants provenaient essentiellement du service de pédiatrie du CHU-GABRIEL TOURE et du CHU-POINT G.

Tableau VIII: Répartition des enfants en fonction de l'âge.

Age/an	Effectif	Pourcentage
[0- 5]	77	10,35
[6-10]	213	28,63
[11-14]	236	31,72
[15-18[218	29,30
Total	744	100,00

Les enfants de la tranche d'âge de [11-14] ans étaient majoritaires avec 31,72% .

Tableau IX: Répartition des enfants en fonction du sexe

Sex	Effectif	Pourcentage
Feminin	340	45,70
Masculin	404	54,30
Total	744	100,00

Le sexe masculin était prédominant avec 54,30% des enfants. Le sex ratio était de 1,18 en faveur du sex masculin.

Tableau X: Répartition des enfants en fonction du service demandeur.

Service	Effectif	Pourcentage
CHU-Gabriel Touré	743	99,87
CHU-Point G	1	0,13

La majeure partie de nos échantillons provenait de la Pédiatrie du CHU-GABRIEL TOURE soit 99,87%. Cela pourrait s'expliquer par la situation géographique du site d'étude.

Tableau XI: Répartition des enfants en fonction du taux de lymphocyte T CD4+

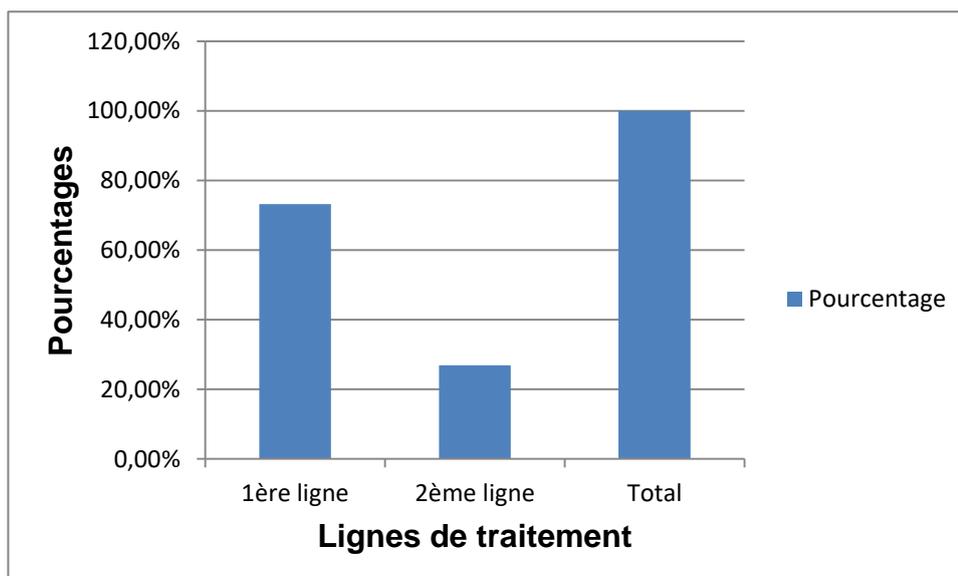
Taux de CD4+	Effectif	Pourcentage
<350	134	18,01
[350-500]	67	9,01
>500	543	72,98
Total	744	100,00

Environ 72,98% des enfants avaient un taux de lymphocytes T CD4+ >500 cellules/mm³

Tableau XII: Répartition des enfants en fonction de la charge virale plasmatique.

Charge Virale	Effectif	Pourcentage
<50	359	48,25
[50-1000]	124	16,67
>1000	261	35,08
Total	744	100

Environ deux cent soixante-un (261) enfants avaient une charge virale supérieure à 1000copies /ml soit 35,08 %. Le dernier 90 de l'ONUSIDA a été estimé dans notre étude à 48,25% (CV< 50 copies/ml).

**Figure 10: Répartition des enfants en fonction des lignes thérapeutiques.**

La majeure partie des enfants étaient sous traitement de première ligne avec 73,15%.

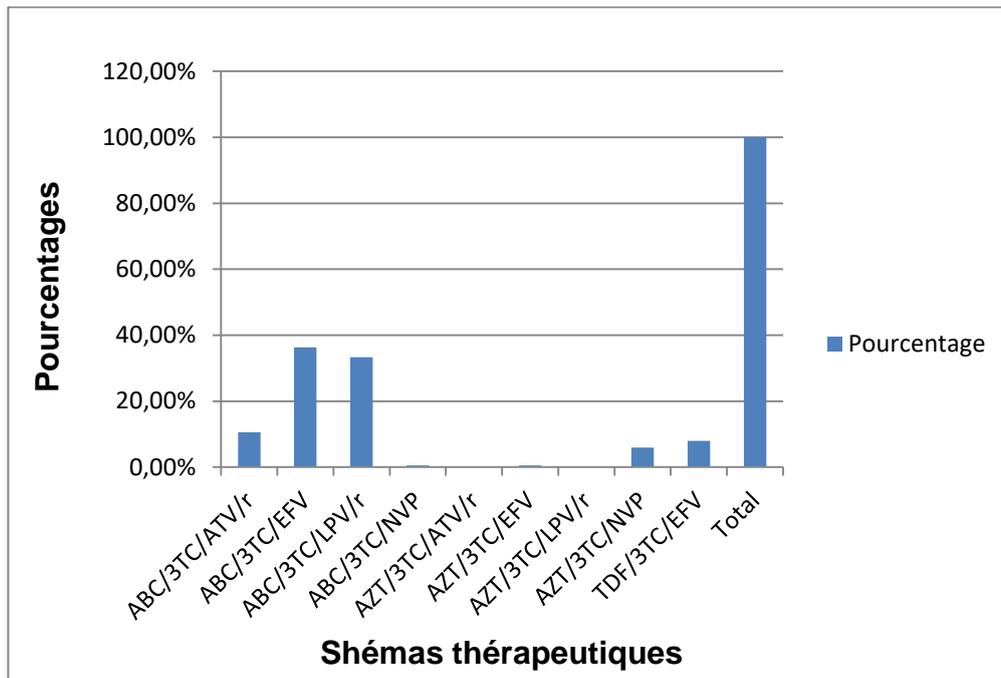


Figure 11: Répartition des enfants en fonction des schémas thérapeutiques.

Le schéma ABC /3TC/EFV était le plus prescrit aux enfants avec 36, 29%.

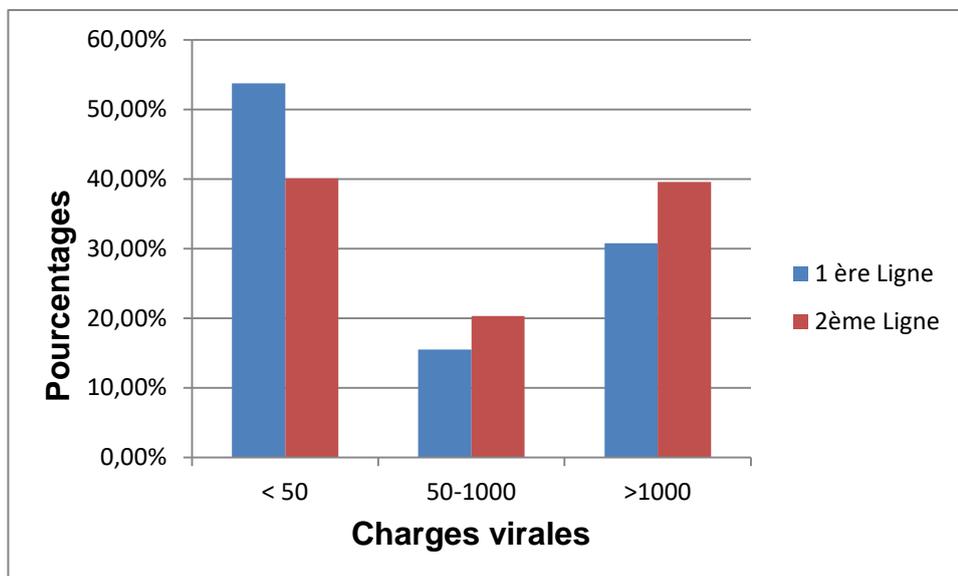


Figure 12: Répartition de la charge virale des enfants en fonction des lignes thérapeutiques.

L'échec virologique (charge virale >1000copies /ml) a été retrouvé chez 161 enfants traités en première ligne contre 76 enfants en deuxième ligne avec respectivement 30,78% et 39,58%.

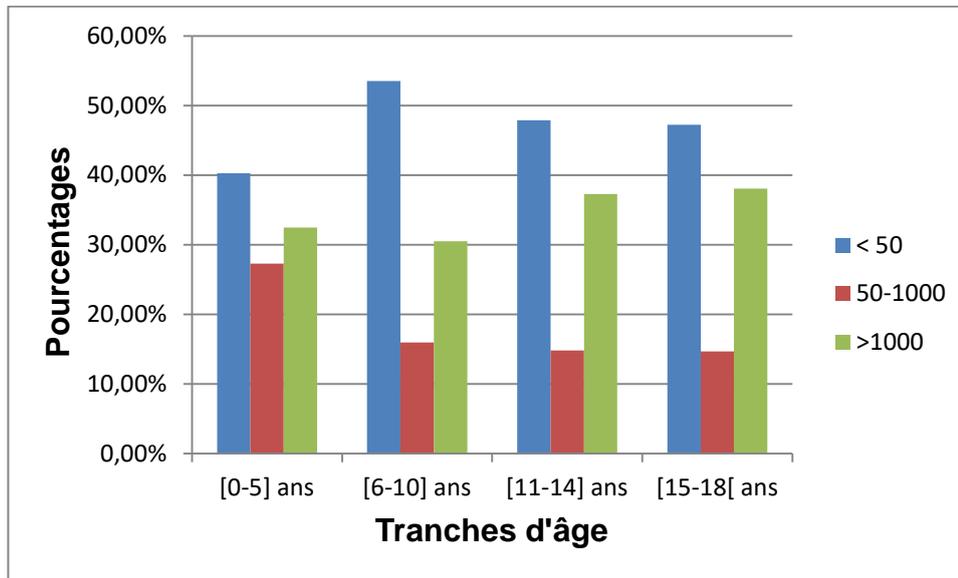


Figure 13: répartition de la charge virale des enfants en fonction de la tranche d'âge.

Les enfants de la tranche d'âge [15-18[ans étaient plus en échec virologique (charge virale >1000copies /ml) avec 38,07%.

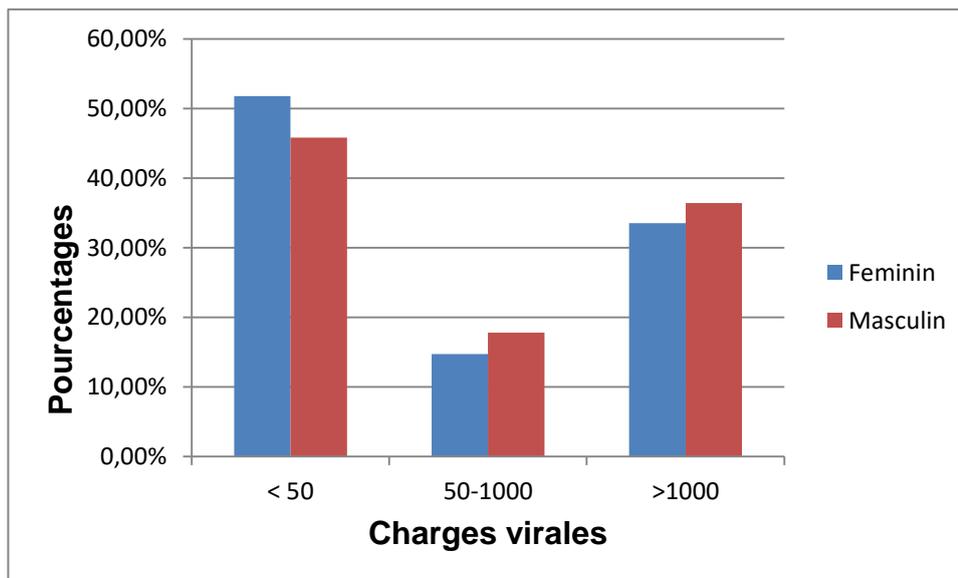


Figure 14: Répartition de la charge virale des enfants en fonction du sexe.

Environ 147 enfants du sexe masculin avaient une charge virale supérieure à 1000 copies/ml soit 36,39%.

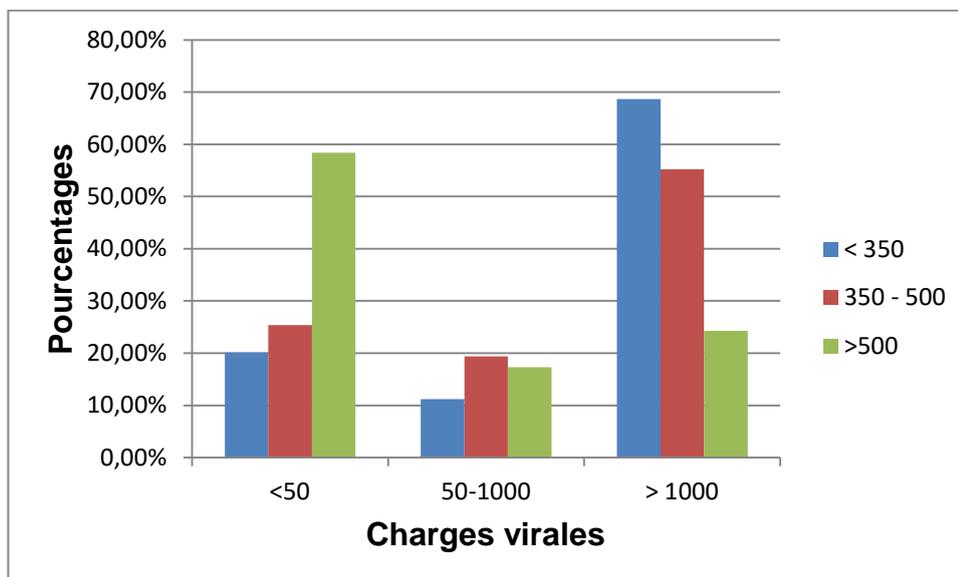


Figure 15: répartition de la charge virale des enfants en fonction du taux de CD4.

L'échec virologique (charge virale >1000 copies/ml) prédominait chez les enfants ayant un taux de lymphocytes TCD4 inférieur à 350 cellules/mm³ avec 68,66%.

6. COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS :

6.1.Limite de l'étude :

La non disponibilité temporaire de certains examens (taux de CD4 et charge virale), l'irrégularité de certains enfants aux visites, l'absence de renseignement à certaines dates du bilan de suivi, ainsi que le choix du schéma thérapeutique sont des facteurs ayant contribué à limiter la taille de notre échantillon.

Pour la conduite de notre travail, nous nous sommes basés seulement sur la mesure de la charge virale et sur des données biologiques recueillies sur la fiche de demande de la charge virale, sans imprécision sur le niveau d'observance au traitement antirétroviral chez les enfants qui, si elle n'est pas bonne, pourrait expliquer l'augmentation de la charge virale. Nous n'avons pas également effectué des tests de génotypage de résistance pour déterminer les sous-types viraux et déceler des mutations associées à la résistance qui pourraient être la cause de l'augmentation de la charge virale. Cependant dans d'autres études, le test génotypique de résistance et l'adhésion au traitement doivent être soigneusement considérés comme c'est le cas dans l'étude réalisé par MAIGA AI en 2012 au Mali(38).

Alors que la clinique et la mesure des lymphocytes TCD4+ sont les moyens utilisés pour évaluer les réponses aux TAR en Afrique subsaharienne, au Mali, les tests de charge virale et de résistance sont de plus en plus disponibles. Il serait donc important de renforcer la capacité des laboratoires pour le suivi biologique aux traitements ARV afin de limiter les échecs virologiques croissants et l'émergence des virus résistants aux ARV sur une large échelle dans les pays en développement.

6.2. La technique utilisée:

La mesure de la charge virale plasmatique est l'un des marqueurs les plus importants pour suivre l'évolution de la virémie chez les personnes vivants avec le VIH sous traitement ARV(39).

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

6.2.1. Manipulations techniques au laboratoire:

Le déroulement des manipulations techniques pour les séries de 22, 24, et 48 échantillons a été d'abord utilisé pour vérifier la possibilité d'utilisation de 1 ou de 3 échantillons en plus. Mais l'intérêt majeur est l'utilisation des séries de 48, 52 échantillons puisque cette procédure nous a permis un gain de plaque optique et de contrôles négatif et positif. En effet, en procédant ainsi, nous utilisons une plaque optique et un jeu de contrôles négatif et positif au lieu de 2 plaques optiques et 2 jeux de contrôles négatif et positif. Aussi les 3 places qu'auraient occupées les contrôles lors de la seconde manipulation de 24 échantillons pouvaient alors être attribuées à 3 échantillons. Il serait alors plus avantageux d'effectuer une série de 48 à 52 échantillons au lieu de 2 séries de 24 à 26 échantillons. En plus, cela permettait un gain d'une journée de manipulation technique. Bado G. et al ont trouvé des résultats comparatifs à nos résultats dans une étude sur l'implémentation de la PCR en temps réel pour la mesure de la charge virale plasmatique du VIH-1 sur *m2000rt* d'Abbott au Burkina Faso(36).

6.2.2. Les contrôles de qualité:

Les contrôles externes (contrôles négatif et positif) permettent de vérifier le réactif, l'instrument et la manipulation pour une série de manipulation. Dans notre étude, nous n'avons pas noté de code d'alarme en ce qui concerne ces contrôles. Cela montre la bonne qualité des réactifs (conservation et respect des dates de péremption) et l'état de bon fonctionnement du système. Aussi, cette remarque nous prouve le bon traitement des contrôles lors de la procédure de préparation des échantillons. Le contrôle interne a surtout pour rôle de vérifier que le réactif, l'instrument, la manipulation technique et l'amplification de chaque échantillon sont dans les normes indiquées par le fabricant. Le code 4442 était le plus fréquemment rencontré. Ce code s'affiche lorsque le nombre de cycles du contrôle interne est hors de la plage de validité du contrôle interne. Cela montre le mauvais traitement de certains échantillons, un lavage insuffisant ou une élution mal faite par exemple. Des précautions ont été prises pour minimiser les risques de contamination et d'erreurs dans la manipulation technique. Nous envisageons

également une extraction automatique sur le m2000sp dans un avenir proche. Le code 4448 s'affiche lorsque le bruit de fond est excessif. Cela pourrait être lié au puits en question, puisque ce code ne s'affiche que sur un puits de la plaque optique. Le code 4450 est apparu souvent. Ce code s'affiche lorsqu'il y a des bruits de fond. Cela pourrait être lié à la présence de bulles d'air dans le puits correspondant. Le code 4457 est apparu quelque fois également. Ce code ne s'affiche que lorsqu'il y a inhibition de la réaction de PCR par des RNases ou d'autres substances inhibitrices. Ce qui montre que la technique de préparation des échantillons est assez bonne et toutes les mesures mises en œuvre pour minimiser ce type de contamination sont respectées.

6.3. Données sociodémographiques :

Dans notre étude la tranche d'âge [11-14]ans était la plus représentée avec 31,72%. Ce résultat est semblable à celui obtenu par Sanogo M à Bamako(Mali) (40) chez qui la tranche d'âge [11-15] ans était la plus représentée avec 60%. Il est différent de celui de Touré M M au Mali(41) chez qui la tranche d'âge [1-4] ans était la plus représentée, et de celui de Sidibé S et al à Conakry(42) chez qui la tranche d'âge [5-10]ans était la plus représentée avec 53,7%. Ces différences pourraient être dues à la taille de nos échantillons.

Le sexe masculin représentait 54,30% de notre population d'étude avec un sexe ratio de 1,18. Nos résultats sont semblables à ceux de Sanogo M à Bamako (Mali)(40) où le sexe masculin représentait 60% avec un sex ratio de 1,5. Cette prédominance masculine a été également retrouvée dans d'autres études: Balemou B(43) , Samaké M (44), Traoré M M (45), Sidibé S et al (42), Chaibou M(46), Diarra B(47), Cissé L et col(48), Coulibaly D(49).

La majeure partie des enfants résidait à Bamako (99,8%). Cela pourrait s'expliquer par la situation géographique du site d'étude. L'hôpital Gabriel Touré étant le seul service spécialisé qui reçoit également plusieurs cas de référence des autres centres de sante et surtout reste la référence au Mali pour la prise en charge du VIH pédiatrique.

6.4. Traitement antirétroviral :

Le régime ABC/3TC/EFV a été le schéma thérapeutique le plus prescrit chez les enfants soit 36,29% suivi de ABC /3TC/LPV/r avec 33,33%. Ce résultat était différent de celui de Sanogo M au Mali(40) et mademoiselle Coulibaly W M(50) chez qui AZT/3TC/NVP a été le schéma le plus prescrit avec respectivement 71,7% et 54,4%.

6.5. Mesure des lymphocytes TCD4 :

Le dosage régulier du taux de CD4 chez les patients VIH-1 positif sous thérapie reste un facteur important et déterminant dans le suivi des personnes vivants avec le VIH. Dans notre étude environ 72,98% des enfants avaient un taux de CD4 supérieur à 500cellules /mm³, cent trente-quatre (134) enfants avaient un taux de CD4 inférieur à 350cellules /mm³ soit 18,01% et 9,01% avaient un taux de CD4 comprise entre 350 et 500cellules/mm³. Ces résultats étaient comparables à ceux de Sanogo M(40) au Mali où 88,6% des enfants avaient un taux de CD4 supérieur à 500cellules /mm³.

6.6.Charge virale :

Sur 744 enfants qui avaient reçus une quantification de la charge virale ,484 enfants avaient une virémie détectable, 261 avaient une charge virale supérieure à 1000 copies /ml soit un taux d'échec de 35 ,08% ; 48,25% avaient une charge virale inférieure à 50 copies/ml ; cinquante-un virgule soixante-quinze pour cent (51,75%) avaient une charge virale supérieure ou égale à 50copies /ml ; 16,67% avaient une charge virale comprise entre 50-1000copies/ml. Ces enfants développaient probablement un échec virologique. Ce taux d'échec virologique était alarmant car cela limite à court terme les possibilités thérapeutiques ultérieures de première ligne compte tenue d'une résistance précoce et croisée aux INNTI. Nos résultats étaient semblables à ceux trouvés par Reddi et al(51) en Afrique du Sud en 2007 qui a trouvé à M6, 16% détectables supérieures à 50 copies/ml et de Traoré M M(45) au Mali en 2009 qui a trouvé 18,9% détectables <400copies/ml, 13,5% entre 400 et 1000copies/ml et 67,6% détectables >1000copies/ml.

Nos résultats dans l'analyse bivariée entre la charge virale et les données biologiques avaient montrés que quatre- vingt-douze (92) enfants soit 68,66% ayant un taux de CD4 inférieur à 350 cellules /mm³ étaient en échec virologique (charge virale>1000copies/ml). Ces résultats étaient semblables à ceux trouvés par Traoré M M(45) au Mali chez qui 44% des malades détectables (CV>1000copies /ml) avaient un déficit immunitaire sévère.

Les enfants de la tranche d'âge [15-18] ans étaient plus en échec virologique (charge virale>1000copies /ml) avec 38,07%. Nos résultats étaient différents de ceux trouvés par Sidibé S et al(42) à Conakry chez qui 53,70% de la tranche d'âge la plus concernée par l'échec était celle des enfants âgées de [5-10] ans. Cette différence pourrait probablement s'expliquer par un mauvais suivi des enfants.

Environ 36,39% des enfants de sexe masculin avaient une charge virale supérieure à 1000copies/ml. Cela pourrait s'expliquer par le fait que dans notre étude le sexe masculin était

majoritaire. Ces résultats étaient similaires à ceux trouvés par Sidibé S et al(42) qui a trouvé 29,3% des enfants de sexe masculin en échec virologique.

L'échec virologique (charge virale >1000copies /ml) a été trouvé chez 161 enfants traités en première ligne contre 76 enfants en deuxième ligne avec respectivement 30,78% et 39,58%. Ces résultats étaient semblables à ceux trouvés dans une étude menée au Burkina Faso(52) où 11 enfants (37,9%) étaient en échec virologique primaire et 18 enfants (62,1%) en échec virologique secondaire.

7. CONCLUSION :

Notre étude montre que sur les 744 enfants ayant bénéficiés d'une CV, 261 enfants avaient une charge virale détectable >1000 copies/ml répondant au critère d'étude soit un taux d'échec virologique de 35,08%. La tranche d'âge [11-14] ans était la plus représentée avec 31,72%. Le sexe masculin représentait 54,30% de notre population d'étude avec un sex ratio de 0,84. Le régime ABC/3TC/EFV représentait 36,29% suivi ABC/3TC/LPV/r avec 33,33%. La majeure partie des enfants avaient un taux de $CD4 > 500$ cellules/mm³. L'échec virologique a été trouvé chez 30,78% des enfants en 1^{ère} ligne contre 39,58% en 2^{ème} lignes. Les enfants ayant un taux de $CD4$ inférieur à 350 cellules/mm³ étaient plus en échec virologique (charge virale > 1000 copies/ml) avec 68,66%. Le dernier 90 de l'ONUSIDA a été estimé dans notre étude à 48,25%. Notre étude s'était limitée aux enfants du CHU-GT et du CHU-PG, une large enquête dans toutes les régions du pays serait nécessaire mais aussi une identification des vrais échecs et les inobservants. Il serait souhaitable de connaître les profils de résistance des enfants en échec pour déterminer les meilleures stratégies thérapeutiques futures.

8. RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude et au vu des résultats obtenus, nous formulons les recommandations suivantes :

Aux cliniciens:

- Un meilleur suivi des patients sur le plan clinique et biologique,
- Respecter les recommandations de la politique nationale de prise en charge des patients infectés par le VIH.
- Publier les résultats obtenus pour informer nos décideurs et la communauté scientifique internationale.
- Inciter la demande des charges virales aux patients comme se fait dans les pays développés pour prévenir les échecs virologiques.

Aux pharmaciens et biologistes:

- De rendre les résultats des patients le plus tôt que possible en vue d'une éventuelle prise de décision rapide.
- Améliorer la communication avec les prescripteurs.
- Prévenir l'émergence de l'échec virologique aux ARV en informant les patients sur la nécessité d'une bonne adhésion à leur régime de traitement antirétroviral.

Aux autorités sanitaires et administratives :

- Faciliter l'accès des tests de charge virale aux patients à l'inclusion et sous traitement antirétroviral comme se fait dans les pays développés pour prévenir les échecs virologiques.
- Assurer la disponibilité permanente de la CV.
- Identifier un ou des laboratoires de référence pour la réalisation des CV même en cas de rupture dans les autres sites.
- Donner l'accès aux traitements de troisième ligne pour les pays à ressources limités comme le Mali.

Aux partenaires techniques et financiers :

- Appuyer les laboratoires et les institutions de recherche par la formation continue du personnel et la mise en place de contrôle interne et externe de qualité sur le plan national.
- Appuyer les sites pour la mise à disposition de personnels (psychologues, assistants

sociaux) pour renforcer l'observance.

Aux personnes vivant avec le VIH/SIDA :

- Etre adhérent aux traitements pour un meilleur succès thérapeutique.

9. **REFERENCES:**

1. Fleury HJ. Abrégé de virologie humaine. 5ème édit. Masson, editor. 2009. p. 151–2.
2. UNAIDS_FactSheet_fr.pdf [Internet]. [Cité 6 déc 2019]. Disponible sur: https://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_fr.pdf
3. ONUSIDA. <https://www.unaids.org/fr/regionscountries/countries/mali>. Mali; 2016.
4. CPS/MS. Cinquieme Enquete Demographique et de Sante au MALI (EDSM V), Mali 2012. (EDSM V).
5. Hunt PW, Martin JN, Sinclair E, Brecht B, Hagos E LH 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. *J Infect Dis* 2003;187:1534–43.
6. MS/SG/CSLS. Politique et protocoles de prise en charge antiretrovirale du VIH et du SIDA. in Mali, p. 30–33.
7. Ifrance.VIH et SIDA.URL :<http://se.biv.ifrance.com/> consulté le 20/12/2019.
8. Oumar F. L'INFECTION PAR LES VIH1-VIH2 ASSOCIES DANS LES CHU GABRIEL TOURE ET DU POINT « G » DE BAMAKO [Internet]. [BAMAKO]; 2008. Disponible sur: 09M386.pgf
9. Huraux JM, Agut, H., Nicolas, J.C. and Peigne-Lafeuille, H. Traité de virologie médicale. Estem. 2003.
10. Appay V SD. Immune activation and inflammation in hiv infection: causes and consequences. *J Pathol* 2008.214:231–41.
11. Levy JA. Acute HIV infection and cells susceptible to HIV. in: Levy JA, ed. HIV and the pathogenesis of AIDS. Washingt DC ASM Press. 1998; 2nd ed:75–96.
12. Arhel NJ, Souquere-besse S, Munier S, Souque P, Guadagnini S RS and al. HIV-1 DNA Flap formation promotes uncoating of the pre-integration complex at the nucle-ar pore. *Embo J* 2007.26(12):3025–37.
13. Calvez V, Gautheret-Dejean A MA. Diagnostic biologique de l'infection à VIH. EDITION 2011. DOIN, PARIS 2011;839. EDITION 20.
14. Maïga 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. These de doctorat (PHD) Virologie. Université Pierre et Marie curie. Paris 6 2010.
15. Bogard M LJ. Biologie moléculaire et biologie clinique: METHODES. ELSEVIER, TOME 1. ELSEVIER,. 1998.

16. Coulibaly K. Genotypage et exploration du polymorphisme nucléotidique du CCR5, Recepteur de Chimiokines et Corecepteur Majeur du VIH-1. de Bamako 05-M-38. DE BAMAKO. 2005.
17. Holodniy M, Katzenskein DA, Sengupta S, Wang AM, Casipit C SD. Detection and quantification of human immunodeficiency virus rna in patients serum by use of the polymerase chain reaction. *J Infect Dis* 1991;163:862–6.
18. Cave H, Acquaviva C, Bieche I, Brault D, DE Fraipont F FF and al. [RT-PCR in clinical diagnosis]. *Ann Biol Clin* 2003, 61, pp.635–644. *Ann Biol Clin* 2003.61:635–44.
19. Dembélé D. Cours de bioinformatique. Strasbourg. France, 2005.
20. intro.pdf [Internet]. [cité 26 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/COMPENDIUM/1999/1/intro.pdf>
21. Ministère de la Santé/Cellule de coordination du comité sectoriel de lutte contre le VIH/SIDA. Politique et protocole de prise en charge VIH/SIDA. Bamako; Mars 2008. p. 29-66.
22. Dictionnaire médical. Paris. Edition Masson, 1999 :1507.
23. GORE BI. Suivi de la dispensation des ARV au service de maladies infectieuses et tropicales du CHU-Treichville d'octobre 1998 à décembre 2000. Thèse, Pharm Abidjan, 2001 ; n°560.
24. Sluis-cremer N, Arion D PM. Molecular mechanisms of hiv-1 resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs). *Cell Mol Life Sci* 2000.57:1408–22.
25. Johnson AA, Ray AS, Hanes J, Suo Z, Colacino JM, Anderson KS and al. Toxicity of antiviral nucleoside analogs and the human mitochondrial DNA polymerase. *J Biol Chem*. 2001;276 (44):40847–57.
26. Pohlmann S and DR. Evaluation of current approaches to inhibit hiv entry. *Curr Drug Targets Infect Disord* 2002.2(1):9–16.
27. Margolis L SR. Selective transmission of CCR5-utilizing HIV-1: “GATEKEEPER” *Probl Resolv NAT REV MICROBILLE* 2006;4:312–7.
28. Tsamis F, Gavrilov S, Kajumo F, Seibert C, Kuhmann S, ketas T and al. Analysis of the mechanism by which the small-molecule CCR5 antagonists SCH-351125 and SCH-350581 Inhibit Human Immunodeficiency Virus type 1 entry. *J Virol* 2003.77:5201–8.
29. Cammack N. The potential for hiv fusion inhibition. *Curr Opin Infect Dis*, 14:13-16. 2001.
30. Lataillade M KM. The hunt for HIV-1 integrase inhibitors. *AIDS PATIENT CARE STDS*. 2006;20:489–501.
31. Eron J, et al. Characterization of the resistance profile of TMC278: 48-week analysis of the phase III Studies Echo and Thrive. ICAAC 2010.

32. OMS. UPDATE OF RECOMMENDATIONS ON FIRST- AND SECOND-LINE ANTIRETROVIRAL REGIMENS . juill 2019; Disponible sur: WHO - CDS - HIV - 19.15.pdf.
33. Donell D, Baeten JM, Kiarie J, Thomas KK, Stevens W CC and al. Heterosexual HIV-1 transmission after of initiation of antirétroviral therapy: A prospective cohort analysis. LANCET, 375(9731), pp.2092–8, 2010.
34. Gazzola L, Tincati C, Bellistri GM et al. The absence of CD4+ T Cell count recovery despite receipt of virologically suppressive highly active antiretroviral therapy: clinical risk, immunological gaps, and therapeutic options. Clin Infect Dis, 2009.48(3):328–37.
35. Podsadecki TJ, Vrijens BC, Tousset EP, Rode RA HG. Decreased adherence to antiretroviral therapy observed prior to transient human immunodeficiency virus type 1 viremia. J Infect Dis 2007.196:1773–8.
36. Bado G. Implementation 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 OUEDRAGO(CHU) de Ouagadougou, Burkina faso. 2007.
37. ABBOTT. Guide abrégé de préparation manuelle des échantillons pour les dosages Abbott RealTime HIV/HCV. 2010.
38. Maiga AI, Fofana D. B, Cisse M, Diallo F, Maiga MYT Metal. Characterization of hiv-1 antiretroviral drug resistance after second-line treatment failure in Mali, a limited-resource setting. J Antimicrob Chemother 2012.
39. OMS. Lignes directrices unifiées sur l'utilisation des antiretroviraux pour le traitement et la prévention de l'infection à VIH. Recommandation pour une Approche de Santé publique. 2013.
40. Sanogo M. Echecs virologiques chez les enfants infectés par le VIH-1 et sous traitement ARV au CHU Gabriel Touré [Internet]. Disponible sur: 14P01.pdf
41. Touré M. Evaluation du niveau de l'observance au traitement ARV chez les enfants de 0 à 15 ans à l'ONG walé de Ségou. Thèse de médecine 2010.
42. BARRY M C, SIDIBE S, DIALLO M L, DIALLO F, Binta, BAH A B,. Echecs thérapeutiques chez des enfants infectés par le VIH au service de pédiatrie de l'hôpital national Ignace Deen de Conakry/Treatment failure among HIV infected children follow-up in pediatric service in the Ignace Deen National Hospital in Conakry [Internet]. 2019. Disponible sur: <https://www.researchgate.net/publication/332867035>
43. BELEMOU B. Les manifestations respiratoires du sida pédiatrique au CHU-GT à propos de 141 cas Thèse, Méd, Bamako, 2002; n°33, 112P.
44. Samaké M. INFECTION VIH DE L'ENFANT : Aspect Clinique et Bilan de seize Mois de Prise en Charge des Cas par les Anti-rétroviraux à la Pédiatrie du Centre Hospitalo-Universitaire Gabriel Touré [Internet]. 2002. Disponible sur: 04M30.pdf

45. Traoré M M. ECHEC VIROLOGIQUE A SIX MOIS DE TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL DANS LE SERVICE DE PEDIATRIE DU CHU GABRIEL TOURE [Internet]. 2009. Disponible sur: 09M275.pdf
46. CHAIBOU M. Le SIDA pédiatrique à propos de 16 cas colligés dans le service de pédiatrie de l'Hôpital Gabriel TOURE de Mars 1989-Mars 1991. » Thèse, Méd, Bamako:36-M-1992.
47. DIARRA B. « Enquête séro-épidémiologique du SIDA de Mars 1987-Janvier 1989 dans les grands centres urbains du Mali » Thèse, Méd, , Bamako: 1989; 64P,n°19.
48. CISSE L , OREGA M , NIANGUE B et Col. Tuberculose et infection VIH de l'enfant hospitalité à Abidjan. A propos de 56 cas. Pub, Méd, Afr :1999; N°4, 228-233.
49. COULIBALY D. « Evaluation de la définition clinique du SIDA pédiatrique selon les critères O.M.S /BANGUI. » Thèse, Méd, Afr: 1998-M-25; n°25, 117P.
50. Coulibaly W M. Analyse à partir du logiciel esope pédiatrique de la prise en charge des enfants sous traitement ARV au service de pédiatrie du CHU-GABRIEL TOURE [Internet]. 2011. Disponible sur: 12M233
51. Reddi A, Leeper S C, Grobler A C, Geddes R, France K H Dorse L G, Vlok W J, Mntambo M, Thomas M, Nixon K, Holst H L, Karim Q A, Rollins N C, Coovadia H M and Giddy J : Preliminary outcomes of a paediatric highly active antiretroviral therapy cohort from kwa Zulu-Natal, South Africa.
52. Kouéta F, Yé D, Zoungrana A, Sacko A, Ouédraogo-Traoré R, Kafando E, Ouédraogo S. Echecs du traitement antiretroviral de première ligne chez les enfants infectés par le VIH à Ouagadougou. [Internet]. [Burkina Faso]; 2003. Disponible sur: 517-523

FICHE SIGNALITIQUE

Nom : Touré

Prénom : Zeïna Mohamed

Nationalité : Malienne

Section : PHARMACIE

Email : zeinatoure60@gmail.com

Téléphone : 00-223-79-39-50-94 /00-223-65-34-68-43

Secteur d'intérêt : Santé Publique, Sérologie-immunologie, maladies infectieuses, épidémiologie, infections au VIH.

Titre : SUIVI VIROLOGIQUE DES ENFANTS INFECTES PAR LE VIH-1 ET SOUS TRAITEMENT ARV AU CHU-GABRIEL TOURE.

Ville de soutenance : BAMAKO/MALI

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de pharmacie

Année : 2018-2019

Résumé :

Notre objectif a été d'évaluer la prévalence de l'échec virologique des enfants infectés par le VIH-1 sous traitement ARV reçu au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire de GABRIEL TOURE(MALI).Il s'agissait d'une étude transversale sur une période du 1^{er} Janvier 2018 à Décembre 2018 incluant 744 enfants infectés par le VIH-1 âgés de moins de 18 ans sous traitement ARV depuis au moins six mois. Sur les 744 enfants, 484 avaient une virémie détectable parmi lesquels 261 enfants avaient une charge virale >1000 copies/ml soit un taux d'échec virologique de 35,08%. Cinquante-un virgule soixante-quinze pour cent (51,75%) avaient une charge virale supérieure ou égale à 50copies /ml. La tranche d'âge [11-14] ans était la plus représentée avec 31,72%. Environ 38,07% des enfants de la tranche d'âge [15-18] ans avaient une charge virale supérieure à 1000copies/ml. Le sexe masculin représentait 54 ,30% de notre population d'étude avec un sex ratio de 1,18. Trente-six virgule trente-neuf pour cent (36,39%) des enfants de sexe masculin avaient une charge virale supérieure à 1000copies/ml. Ces enfants provenaient essentiellement de la pédiatrie du CHU-Gabriel Touré de Bamako. Le régime ABC/3TC/EFV représentait 36,29%. L'échec virologique a été trouvé chez 30,78% des enfants en 1^{ère} ligne contre 39,58% en 2^{ème} ligne. Environ 72,98% des enfants avaient un taux de CD4 supérieur à 500copies/mm³. L'échec

virologique (charge virale > 1000copies /ml) prédominait chez les enfants ayant un taux de CD4 inférieur à 350cellules /mm³ avec 68,66%. Le dernier 90 de l'ONUSIDA a été estimé dans notre étude à 48,25% (CV<50 copies/ml). Nos résultats ont montré la nécessité de renforcer l'adhésion, la continuité des traitements ARV, et surtout un renforcement de la bonne observance ainsi que la réalisation de la charge virale et les tests de résistance aux ARV afin d'éviter la fréquence croissante des échecs virologiques surtout au niveau de la deuxième ligne.

Mot clés: échec virologique, VIH, ARV

Identification Sheets:

Name: Touré

First Name: Zeina Mohamed

Nationality: Malian

Section: PHARMACY

Email: zeinatoure60@gmail.com

Phone: 00-223-79-39-50-94 /00-223-65-34-68-43

Focus Area: Public Health, Serology Immunology, Infectious Diseases, Epidemiology, HIV Infectious.

Thesis Title: VIROLOGIC MONITORING OF CHILDREN INFECTED WITH HIV-1 AND UNDER ARV TREATMENT AT CHU-GABRIEL TOURE.

City of defense: Bamako/MALI

Place of deposit: Library of the Faculty of Pharmacy

Year: 2018-2019

Abstract: Our objective was to assess the prevalence of virological failure in children infected with HIV-1 on ARV treatment received at the laboratory of the University Hospital Center of GABRIEL TOURE (MALI). It was a cross-sectional study on a period from January 1, 2018 to December 2018 including 744 children infected with HIV-1 aged under 18 years of age on ARV treatment for at least six months. Of the 744 children, 484 had detectable viremia, of which 261 children had a viral load > 1000 copies / ml, representing a virological failure rate of 35.08%. Fifty-one point seventy-five percent (51.75%) had a viral load greater than or equal to 50 copies / ml. The 11-14 age group was the most represented with 31.72%. Approximately 38.07% of children in the 15-18 age group had a viral load greater than 1000 copies / ml. Male made up 54.30% of our study population with a sex ratio of 1.18. Thirty-six point thirty-nine percent (36.39%) of male children had a viral load greater than 1000 copies / ml. These children came mainly from the pediatrics of the CHU-Gabriel Touré in Bamako. The ABC / 3TC / EFV scheme represented 36.29%. Virologic failure was found in 30.78% of children in the 1st line against 39.58% in the 2nd line. About 72.98% of children had a CD4 count greater than 500 copies / mm³. Virologic failure (viral load > 1000copies / ml) predominated in children with CD4 counts below 350 cells / mm³ with

68.66%. The last 90 from UNAIDS was estimated in our study at 48.25% (CV <50 copies / ml). Our results showed the need to strengthen adherence, continuity of ARV treatments, and above all a strengthening of good compliance as well as the achievement of viral load and ARV resistance tests in order to avoid the increasing frequency of failures. virological especially at the level of the second line.

Keywords: virological failure, HIV, ARV

SERMENT DE GALIEN

« Je jure, en présence des maîtres de la faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

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

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

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

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

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

Je le jure.

