

Sommaire

1. Introduction.....	1
2. Etat des connaissances	3
2.1. Activation immunitaire chronique durant l'infection à VIH.....	3
2.1.1. Définition	3
2.1.2. Physiopathologie	3
2.1.3. Marqueurs	6
2.1.4. Importance clinique	9
2.2. Vaccination contre la variole.....	12
2.2.1. Rappels sur la variole.....	12
2.2.1.1. Définition	12
2.2.1.2. Histoire	13
2.2.1.3. Manifestations cliniques.....	13
2.2.1.4. Diagnostic paraclinique.....	16
2.2.1.5. Prise en charge de la variole	17
2.2.1.6. Leçons apprises de l'éradication de la variole	18
2.2.2. Historique de la VCV.....	20
2.2.3. Vaccination contre la variole et immunité anti-infectieuse.....	21
2.2.4. Recherches sur la vaccination contre la variole	22
2.3. Revue de la littérature sur la vaccination contre la variole et l'infection à VIH	23
3. Hypothèse de recherche	26
4. Objectif	26
5. Méthodes.....	26
5.2. Type et période d'étude	26
5.3. Population d'étude	26
5.4. Collecte des données.....	27
5.4.1. Exposition	27
5.4.2. Evénement.....	28
5.5. Exploitation des données	28
5.6. Aspects éthiques et réglementaires	30
6. Résultats.....	31

6.1. Caractéristiques de la population d'étude	31
6.2. Caractéristiques de la population d'étude selon la présence de la cicatrice de VCV	35
6.3. Association entre VCV et niveau d'AIC	40
6.3.1 Analyses principales	40
6.3.2 Analyse secondaire	44
6.3.3: Analyses de sensibilité	46
7. Discussion.....	48
7.1. Résumé des principaux faits.....	48
7.2. Discussion méthodologique	48
7.3. Mise en perspective	49
8. Conclusion	53
9. Références bibliographiques.....	54
10. Annexes	i
10.3. Annexe 3: Notice d'information du participant.....	iii
10.4. Annexe 4: Formulaire de consentement éclairé	vii
10.4.1. Formulaire de consentement éclairé 1	vii
10.4.2. Formulaire de consentement éclairé 2	viii
10.5. Annexe 5: Case report Form (CRF).....	ix
10.6. Annexe 6: Accord comité d'éthique	xiv
Résumé	xvi

Liste des tableaux

Tableau 1 : Marqueurs cellulaires de l'activation immunitaire au cours de l'infection à VIH (liste non exhaustive)	7
Tableau 2 : Marqueurs solubles de l'activation immunitaire chronique au cours de l'infection à VIH (liste non exhaustive)	9
Tableau 3 : Caractéristiques démographiques et socio-économiques de la population d'étude	31
Tableau 4 : Caractéristiques cliniques de la population d'étude	32
Tableau 5 : Caractéristiques biologiques de la population d'étude	34
Tableau 6 : Caractéristiques démographiques, socio-économiques et cliniques de la population d'étude selon la présence d'une cicatrice de VCV	36
Tableau 7 : Caractéristiques paracliniques de la population d'étude selon la présence d'une cicatrice de VCV	38
Tableau 8 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV sur un niveau de $\beta2m \geq 2,59 \text{ mg/l}$	41
Tableau 9 : Modèle de régression linéaire évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV sur le niveau de $\beta2M$	43
Tableau 10 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV sur le niveau de $\beta2m \geq 4,73 \text{ mg/l}$	45
Tableau 11 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV sur le niveau de $\beta2M \geq 2,59 \text{ mg/l}$ chez les sujets nés avant 1974	46
Tableau 12 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV et d'une cicatrice de BCG sur le niveau de $\beta2m \geq 2,59 \text{ mg/l}$	47
Tableau 13 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet de plusieurs cicatrices de VCV sur le niveau de $\beta2M \geq 2,59 \text{ mg/l}$	47

Liste des figures

Figure 1 : Mécanismes à l'origine de l'activation immunitaire au cours de l'infection à VIH	4
Figure 2 : Translocation microbienne au cours de l'infection à VIH	5
Figure 3 : Niveau médian de $\beta2m$ selon la présence de VCV	39

Liste des abréviations et sigles

Ac anti-VHC: anticorps anti-virus de l'hépatite C

ADN : Acide désoxyribonucléique

AI : Activation Immunitaire

AIC : Activation Immunitaire Chronique

Antigène HBs : hepatitis B surface antigen

ARV: antirétroviral

AUC: Area Under the Curve

AVC: Accident Vasculaire Cérébral

β 2m : bêta-2-microglobuline

BCG : Bacille de Calmette et Guérin

BLV : virus de la leucémie bovine

CD : Cluster of differentiation

CDC: Center for Disease Control

CMV: cytomégalovirus

CNERS : Comité National d'Éthique pour la Recherche en Santé

CNTS : Centre National de Transfusion Sanguine

CRPus : C réactive protein ultrasensible

CPS : Centre de Promotion de la Santé Hyacinthe Thiandoum

CRCF : Centre Régional de Recherche et de Formation à la prise en charge du VIH et maladies associées

CRF : Case Report Form

CSHRR: registre de santé scolaire de Copenhague

CTA : Centre de Traitement Ambulatoire

CV : charge virale

EDTA: éthylène-Diamine-tétra-Acétique

ELISA : enzyme-linked immunosorbent assay

FDA : Food and Drug Administration

HTA : hypertension artérielle

IC : Intervalle De Confiance

ICAM : Intercellular Adhesion Molecule

IFN-I: interféron de type I

IIQ : Intervalle Interquartile

IL-2 : Interleukine 2
IL-6 : Interleukine 6
IL-7 : Interleukine 7
IL-15 : Interleukine 15
IMC : Indice De Masse Corporelle
IP10 : interféron inductible protéine-10
IRC : Insuffisance Rénale Chronique
LPS : lipopolysaccharide
LT : lymphocytes T
MCV : maladie cardiovasculaire
MDRD: Modification of the Diet in Renal Disease
MIG : monokine induite par l'Interféron- γ
MSAS : Ministère de la Santé et de l'Action Sociale
MVA : virus de la vaccine ankara modifiée
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
OR : Odds Ratio
PCR : Polymérase Chain Reaction
PRL: Physical Research Laboratory
PVVIH : personnes vivant avec le VIH
RR: Risque Relatif
SMART: Strategies for the Management of AntiRetroviral Therapy
SMIT : Service des Maladies Infectieuses et Tropicales
sTNFR-: soluble Tumor Necrosis Factor Receptor-1
suPAR: soluble urokinase-type plasminogen
TARV: Traitement Antirétroviral
TLR : Toll like receptor
TNF: Tumor Necrosis Factor
VACV: Virus de la Vaccine
VCAM-1 : Vascular Adhesion Molecule 1
VCV: Vaccination Contre la Variole
VHB : virus de l'hépatite B
VHC : virus de l'hépatite C
VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine
VIS: Virus de l'Immunodéficience Simienne

WAPHIR: West African Partnership for HIV Intervention Research

PREMIERE

PARTIE

Rappart-Gratuit.com

1. Introduction

La variole est la seule maladie infectieuse qui a été éradiquée. En 1980, l'Organisation mondiale de la Santé (OMS) déclarait l'éradication de la variole et l'arrêt de la vaccination contre la variole (VCV). Cependant le risque de réémergence est réel en raison du développement des techniques de biologie synthétique et de la menace bioterroriste [1]. De ce fait, l'OMS a décidé de conserver les stocks de virus varioliques à des fins de recherches. Des vaccins efficaces et mieux tolérés, même chez les personnes vivant avec le VIH (PVVIH), sont développés ou sont en développement [2, 3]. Un lien entre la VCV et l'infection à VIH a été évoqué depuis le début de l'épidémie du VIH [4, 5]. Des études ont déjà rapporté un effet positif de la VCV sur la morbidité et la mortalité [6-9] alors que d'autres ont montré que l'immunité cellulaire et humorale de la VCV pouvait persister pendant des décennies [10-12]. Les données sur la pathogénèse du VIH soutiennent que l'activation immunitaire chronique (AIC) est le principal facteur de progression de l'infection à VIH [13]. Elle peut être influencée par plusieurs facteurs parmi lesquels les coinfections et la fréquence de l'exposition sexuelle au VIH d'où des niveaux élevés rapportés en Afrique subsaharienne où on retrouve également la majorité des PVVIH [14-17]. L'AIC dépend aussi de l'immunité non spécifique et il a été récemment montré que l'immunité due à l'effet non spécifique d'un agent pathogène persiste chez l'homme et peut conférer une protection non spécifique solide et innée [18]. A ce titre, il a été suggéré que la VCV pourrait procurer une telle protection, entre autres sur la progression de l'infection à VIH.

L'Afrique subsaharienne a été la dernière zone géographique de l'OMS à éradiquer la variole [19]. Plus particulièrement au Sénégal, la VCV a été arrêtée en 1980 : année où la variole a été déclarée éradiquée. Il s'agit donc d'un contexte où les niveaux d'AIC sont élevés et où on retrouve l'une des populations dont la VCV est la plus récente. Ce qui offre l'opportunité d'évaluer sur le plan épidémiologique la relation entre la VCV et les niveaux d'AIC.

Pour ce faire, nous avons mené une étude transversale sur une population de PVVIH naïves de traitement ARV (TARV) avec pour objectif principal d'analyser l'impact de la VCV sur l'AIC afin de fournir des données épidémiologiques sur l'influence d'une précédente VCV sur la progression de l'infection à VIH.

2. Etat des connaissances

2.1. Activation immunitaire chronique durant l'infection à VIH

2.1.1. Définition

Le terme « activation immunitaire » décrit l'activation des composants cellulaires du système immunitaire, qui peut à son tour conduire à une inflammation systémique. L'activation immunitaire est généralement détectée par l'expression de marqueurs cellulaires ou solubles dérivés de réponses immunitaires innées ou adaptatives [20].

2.1.2. Physiopathologie

Au cours de la transition entre une infection aiguë et une infection chronique à VIH, la réplication du VIH est réduite mais pas complètement supprimée par la réponse immunitaire adaptée de l'hôte. Et pendant la longue phase chronique de latence de l'infection, la perte de cellules T CD4 se poursuit. Le rythme de l'épuisement des cellules T CD4 associées au VIH et au virus d'immunodéficience simien (VIS) est lié à la fois au niveau de charge virale et au niveau de l'AIC associée au virus [21].

Un certain nombre de facteurs contribue à l'activation immunitaire dans l'infection chronique à VIH (figure 1). Il s'agit notamment de l'immunité non spécifique mais aussi de la présence du VIH et de ses antigènes, de la translocation microbienne, de la présence de co-infections et de la prolifération homéostatique en réponse à l'appauvrissement des lymphocytes T CD4 [22].

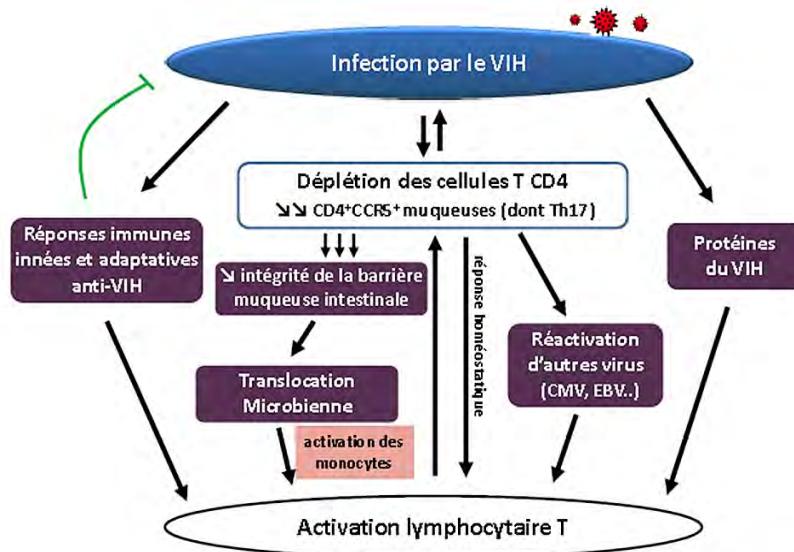


Figure 1: Mécanismes à l'origine de l'activation immunitaire au cours de l'infection à VIH

- Présence du VIH et de ses antigènes

L'ARN du VIH peut activer les cellules dendritiques plasmacytoïdes par liaison aux récepteurs de reconnaissance des formes tels que TLR 7, conduisant à la sécrétion d'interféron de type I (IFN-I). Le VIH peut également entraîner l'activation spécifique des cellules T CD8 et CD4. Bien que le niveau de la charge virale soit en corrélation avec l'activation lymphocytaire T, il ne constitue pas le seul corrélat d'une activation immunitaire. En effet, des marqueurs de cette activation peuvent être retrouvés dans des cas de charge virale indétectable chez des patients sous TARV ou chez les « elite controllers » [20, 23].

- Translocation microbienne

La «translocation» intestinale de bactéries ou d'autres microbes est définie comme le passage non physiologique de la microflore gastro-intestinale à travers la barrière épithéliale intestinale et la lamina propria et finalement aux ganglions lymphatiques mésentériques locaux et, à partir de là, aux sites extra nodaux (Figure 2). Elle est une caractéristique de l'infection chronique à VIH. Le mécanisme sous-jacent d'augmentation de la perméabilité de la barrière de la muqueuse est attribué à une réplication virale massive initiale et un

épuisement rapide des lymphocytes T CD4 + intestinaux, y compris les cellules Th17, l'endommagement d'entérocytes et la dégradation des jonctions étroites d'épithélium associées aux follicules dans les cellules épithéliales de l'intestin, qui peuvent collectivement faciliter le passage des microbes ou des produits microbiens y compris le lipopolysaccharide (LPS) dans la circulation sanguine. Le LPS, utilisé comme un indicateur quantitatif de la translocation microbienne, est connu comme un activateur de cellules immunitaires innées *via* Toll-like receptor (TLR). Il va donc secondairement interagir avec les monocytes et les activer, conduisant ainsi à l'entretien de l'inflammation et de l'activation du système immunitaire au long cours. Chez les patients infectés par le VIH, les taux du LPS bactérien sont élevés dans le sang. Ils diminuent au cours du TARV sans pour autant revenir au niveau des personnes non infectées par le VIH [13, 21, 23,24].

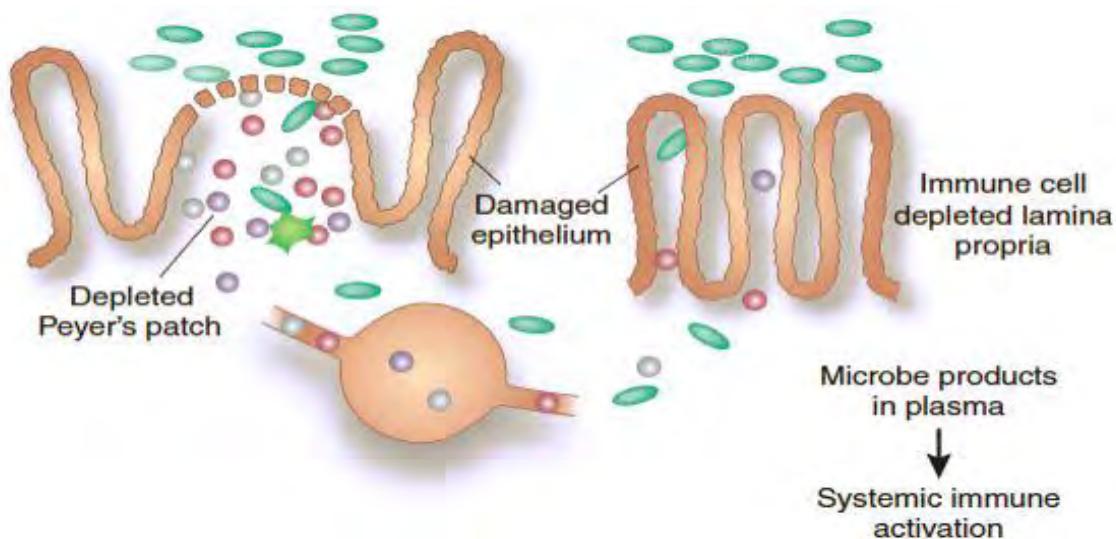


Figure 2 : Translocation microbienne au cours de l'infection à VIH

- Présence de co-infections

La baisse du taux de CD4 au cours de l'infection à VIH peut induire la réactivation et la réplication de certains virus comme le virus de l'hépatite C (VHC), le cytomégalovirus

(CMV) et le virus Epstein-Barr (EBV). Ceci associé aux réponses immunitaires, qui par définition, qu'elles soient innées ou adaptatives, vont induire une AIC [20, 23-25].

- Prolifération homéostatique

La chute des cellules T CD4 dans l'infection à VIH peut stimuler les mécanismes homéostatiques physiologiques conduisant à la prolifération persistante des lymphocytes en réponse aux cytokines IL-2, IL-7 et IL-15. Ce qui mènera à la différenciation de cellules T effectrices pro-inflammatoires et contribuant à l'activation immunitaire [20, 23, 26].

2.1.3. Marqueurs

Une activation forte du système immunitaire peut se mettre en route dès la primo-infection. Elle se poursuit durant tout le cours de l'infection, aboutissant à la production de cytokines pro- et anti-inflammatoires. Cette AIC peut se mesurer à partir de plusieurs marqueurs. On peut les distinguer en marqueurs cellulaires et marqueurs solubles.

- Marqueurs cellulaires

L'étude des marqueurs cellulaires a permis de mieux comprendre l'infection à VIH. Il s'agit de marqueurs exprimés à la surface ou à l'intérieur des cellules concernées. Leur caractérisation est souvent faite par cytométrie en flux grâce à l'utilisation d'anticorps monoclonaux. Il s'agit de techniques sophistiquées avec des marquages intracellulaires ou extracellulaires. Certains des marqueurs les plus étudiés sont présentés au niveau du tableau I.

Tableau 1 : Marqueurs cellulaires de l'activation immunitaire au cours de l'infection à VIH (liste non exhaustive)

Marqueurs cellulaires	
Système immunitaire inné (cellules dendritiques et cellules NK)	CD83, CD86, CD70
Système immunitaire adaptatif (lymphocytes T CD4 et CD8)	<ul style="list-style-type: none">- Activation: HLA-DR, CD38, Ki67, CD69, CD25- Sénescence des lymphocytes T: CD28, CD57- Épuisement des cellules T: PD-1

Parmi ces derniers, on peut citer : CD38, HLA-DR, CD25, CD69 [27]. Au cours de l'infection à VIH, les LT CD4⁺ et CD8⁺ expriment fortement les marqueurs d'activation CD38 et HLA-DR, tant en fréquence de cellules HLA-DR+/CD38+ qu'en intensité. L'existence d'une corrélation positive entre la proportion de cellules T CD8⁺HLA-DR⁺ ou CD38⁺ et le développement d'infections opportunistes, a été démontrée. Cette augmentation des cellules T CD8⁺ activées est associée à une baisse des proportions de cellules T CD4. De même, les fortes expressions membranaires de CD25 et CD69 ont été également associées à la progression de l'infection à VIH [23, 28-30].

Outre les marqueurs membranaires HLA-DR et CD38, d'autres marqueurs cellulaires reflétant l'homéostasie lymphocytaire au cours du VIH ont été utilisés dans des études antérieures. Ainsi, le profil de sénescence CD28-/CD57+, ainsi que l'expression du marqueur d'épuisement PD-1, sont associés à une perte de fonction lymphocytaire T CD8 et CD4 mais également B [23, 31,32].

- Marqueurs solubles

Il s'agit le plus souvent de cytokines pro- et anti-inflammatoires, des chimiokines, des facteurs d'activation de la voie de la coagulation, des marqueurs membranaires clivés, ou encore des marqueurs d'adhérence cellulaire comme les intégrines et les sélectines.

Une réplication virale continue et un déficit immunitaire contribueraient de manière significative à une augmentation non seulement du niveau des biomarqueurs de l'inflammation, mais également à ceux de l'activation de la coagulation (D-dimères) et de l'activation des monocytes (sCD14). Plusieurs marqueurs solubles de l'AIC ont été identifiés (tableau II). Ces marqueurs solubles ont l'avantage d'être faisables même dans des environnements très défavorisés par rapport aux marqueurs cellulaires. Ils peuvent être dosés par la technique ELISA ou système Multiplex [33]: La Technique ELISA largement disponible en Afrique peut permettre le dosage des marqueurs solubles dans des échantillons provenant de centres périphériques [27].

Plus spécifiquement, la bêta-2-microglobuline (β 2m) est reconnue comme un marqueur de l'AI systémique et des tumeurs malignes hématologiques. La β 2m est une protéine de faible poids moléculaire présente à la surface de toutes les cellules nucléées. Elle est physiologiquement libérée dans tous les fluides biologiques à faible et constante concentration: 0,13 mg/kg/ h. Ses niveaux sériques augmentent dans des situations telles que l'activation immunitaire systémique. Ces taux sériques sont aussi augmentés au cours de maladies rénales. Des cas d'augmentation au niveau urinaire ont été décrits dans l'atteinte du tubule rénale [34]. Le niveau plasmatique de β 2m est facilement mesurable à partir de tout échantillon de sang, avec un coût très faible.

Tableau 2: Marqueurs solubles de l'activation immunitaire chronique au cours de l'infection à VIH (liste non exhaustive)

Marqueurs solubles	
Inflammation	TNF α , récepteur TNF soluble-1 et -2, IFN- γ , IL-1, -6, -8, -10, -12, -13, -17, -18 et -23, MCP-1, MIP, β 2m, néoptérine et suPAR -1 α et -1 β , CRP, sCD163
Coagulation	D-dimère, thrombine / anti-thrombine, facteur tissulaire soluble (sTF), VCAM-1, sICAM
Translocation microbienne	sCD14, lipopolysaccharide (LPS), anti-anticorps anti-LPS(EndoCab), ADN bactérien 16s, LBP
Marqueurs solubles de l'activation des lymphocytes T	CD27 soluble, ligand CD40 soluble, CXCL9, CXCL10, CXCL11, CXCL13, sIL-2R

2.1.4. Importance clinique

2.1.4.1. Progression de l'infection à VIH

Le rôle de l'AIC dans la progression de l'infection à VIH a été attesté par plusieurs études.

L'étude « Strategies for the Management of AntiRetroviral Therapy (SMART) » a démontré que les taux plasmatiques d'interleukine-6 (IL-6), de CRPus et de D-dimère sont des prédicteurs indépendants de la mortalité dans l'infection à VIH mais également d'infections opportunistes pour l'IL-6 et la CRPus [31, 35-38].

Les niveaux d'IL-6 et de CRPus étaient précédemment liés au nadir CD4 et à une charge virale élevée; et plusieurs équipes ont mesuré l'évolution de ces biomarqueurs sous TARV, ainsi que leurs liens avec la morbidité et la mortalité. La CRPus, l'IL-6 et les D-dimères ont été associés à la survenue d'évènements non classant sida et quoique réduits après la

suppression de la charge virale sous TARV, ils demeuraient toujours plus élevés que chez les sujets non infectés par le VIH [39-43]. Néanmoins, l'étude des paramètres tels que l'IL6 et la CRPus trouve une limite dans le fait qu'ils sont associés à toutes les causes d'inflammation, et ne peuvent être associés à des mécanismes physiopathologiques précis que de manière limitée.

Ainsi, outre l'IL6 et la CRPus décrits ci-dessus, il a pu être montré que le soluble tumor necrosis factor receptor-1 (sTNFR-1), un marqueur d'engagement de la voie du récepteur au TNF, ainsi que le CD27 soluble (sCD27) ou le ligand soluble de CD40 (sCD40L), deux marqueurs d'activation cellulaire T, étaient également associés au risque d'infections opportunistes ou de décès chez les patients progresseurs [31, 44].

Parmi les chimiokines, CXCL9 (MIG : monokine induite par l'interféron- γ) et CXCL10 (IP10 : interféron inductible protéine-10) sont produites par différentes cellules et des lymphocytes cibles particulièrement les cellules T activées. Les niveaux élevés d'IP-10 pendant la primo-infection par le VIH-1 étaient associés à l'importance de la charge virale initiale ainsi qu'à la baisse du nombre de cellules CD4 [45, 46]. En phase chronique, il a été récemment montré qu'IP10 diminuait chez les patients sous TARV efficace au long cours [47]. Par ailleurs, il a été montré que la chimiokine CXCL13 était associée à une mortalité à long terme même chez les sujets VIH ayant une charge virale indétectable [48].

Le poids des molécules d'adhésion cellulaire a également été évalué depuis de nombreuses années, comme reflet de l'altération cellulaire en particulier des cellules endothéliales. Ainsi, les formes solubles d'ICAM (intercellular adhesion molecule) et de VCAM-1 (vascular adhesion molecule 1) semblent être importantes pour la compréhension des événements cardiovasculaires chez les patients infectés par le VIH. Les taux élevés de sICAM en particulier sont associés à la survenue d'événements classant sida et ils demeurent ainsi après la suppression virale sous TARV [39, 49].

Enfin, les formes solubles des marqueurs d'activation monocytaire, en particulier le CD14 soluble et le CD163 soluble, ont été beaucoup étudiées ces dernières années. Ainsi, le CD14, marqueur de la lignée monocytaire, est clivé en réponse à leur activation, notamment par les mécanismes endotoxiniques médiés par le LPS. Elevé au cours du VIH, il est associé à la morbidité mais également à la mortalité toute cause confondue [35, 36, 50-52]. Le CD163, haptoglobine-hémoglobine, appartenant à la famille des récepteurs scavenger est exprimé principalement à la surface des macrophages et des monocytes. Des études récentes ont montré que les niveaux de sCD163 sont élevés chez les personnes infectées par le VIH et ces niveaux restent élevés malgré le TARV, ce qui suggère une activation résiduelle des monocytes / macrophages même en cas de charge virale indétectable. De même, il a été montré que les taux élevés de CD163 sont associés à un risque cardiovasculaire élevé [53, 54].

Les marqueurs β 2m, néoptérine et soluble urokinase-type plasminogen (suPAR) ont été reconnus comme bien corrélés à la progression de l'infection à VIH chez les PVVIH naïves : les niveaux de ces biomarqueurs présentaient une corrélation positive avec la charge virale plasmatique, une corrélation négative avec le niveau de CD4 [55-61].

2.1.4.2. Evènements non-classant SIDA

L'efficacité des TARV modernes a transformé l'infection à VIH en une maladie chronique caractérisée par un état persistant d'inflammation et d'activation immunitaire. Pour cette raison, même si la mortalité liée au sida a été réduite avec une augmentation de l'espérance de vie, les PVVIH sont plus susceptibles de développer des événements non liés au sida malgré une charge virale indétectable. Bien que les niveaux des marqueurs d'activation immunitaire, d'inflammation et de coagulation diminuent habituellement sous TARV, ils restent anormalement élevés chez de nombreux individus infectés par le VIH. Et cette activation immunitaire persistante est un facteur important de survenue d'événements non-classant sida

tels que l'athérosclérose, l'ostéoporose, le syndrome métabolique, les troubles neurocognitifs, la stéatose hépatique, l'insuffisance rénale et certains types de cancer [39, 62-64].

De même les « elite controllers » et les « viremic controllers » (charges virales entre 50-2000 copies/ml en l'absence de TARV pendant plusieurs années) ont des niveaux d'AIC élevés par rapport aux sujets séronégatifs et aux patients VIH bien contrôlés sous TARV. Ce qui augmente leur risque de développer des événements non-classant sida. Une étude faite sur une population de militaires aux Etats-Unis retrouvait que le principal motif d'hospitalisation des patients « HIV controllers » et des patients VIH bien contrôlés sous TARV était lié à un événement non-classant sida. Ceci permettant de dire qu'un suivi à plus long terme de ces sujets est nécessaire, en particulier pour évaluer les résultats associés au vieillissement, tels que le développement de maladies cardiovasculaires [65].

Par ailleurs, un faible ratio CD4/CD8 a été reconnu comme associé à la survenue d'événements non classant sida indépendamment du nadir de CD4 ou du dernier taux CD4 [66-68].

2.2. Vaccination contre la variole

2.2.1. Rappels sur la variole

2.2.1.1. Définition

La variole autrefois appelée « petite vérole » était une maladie éruptive aiguë grave, contagieuse et hautement épidémique due à un virus, le virus de la variole qui appartient à la famille des Poxvirus et du genre Orthopoxvirus. C'était une maladie à déclaration obligatoire et une urgence de santé de publique. Elle se transmettait soit directement d'un individu à l'autre par des particules en suspension ou des gouttelettes provenant des personnes infectées qui présentaient les symptômes de la maladie ; soit indirectement par la literie ou les vêtements contaminés.

2.2.1.2. Histoire

Les origines de la variole se perdent dans les incertitudes du passé. Certaines études suggèrent que l'origine géographique de cette maladie serait la vallée de l'Indus ou l'Égypte et le Proche-Orient, régions qui avaient une forte densité de population il y a 3 000 à 4 000 ans. Plus récemment, Babkin et Babkina ont réalisé des études phylogénétiques et évolutives des structures génétiques des orthopoxvirus impliquant les données historiques et les données épidémiologiques. Ils confirment l'origine de la variole à 3000 à 4000 ans mais la situent dans l'Est de l'Afrique. Par la suite, elle s'est propagée à l'Ouest et à l'Est, avec une émergence progressive du virus en Afrique de l'Ouest et des rapports historiques suggérant des épidémies en Chine et en Europe dès le 1er ou le 2ème siècle jusqu'au IVe siècle, puis plus tard en Inde (VIIe siècle) et en Asie du Sud-Ouest et en Méditerranée (Xe siècle). Elle s'est accentuée dans le sud de l'Europe au 13ème siècle causant des millions de morts au cours des siècles et y est devenue endémique au 18ème siècle. Cette maladie a décimé les populations amérindiennes pendant la conquête du Nouveau Monde depuis le début du 16ème siècle et ce fut la succession d'épidémies de variole.

Au milieu du 18ème siècle, la variole était considérée comme une maladie endémique majeure dans le monde. Seules les campagnes de variolisation et de vaccination initiées il y a plus de deux siècles ont considérablement réduit la propagation et l'impact de la maladie dans les populations contemporaines [69-71].

2.2.1.3. Manifestations cliniques

Type de description : la variole dans sa forme classique ou forme majeure

Le délai d'incubation est compris entre 7 et 17 jours (14 jours en moyenne).

Le début ou phase prodromique est marquée par une forte fièvre pouvant atteindre 40°C associée de manière variable à un malaise, une prostration, des céphalées frontales, des douleurs dorsales, des frissons, des vomissements, des douleurs abdominales.

La phase d'état ou phase éruptive survient 2 à 5 jours après la phase prodromique. Elle est caractérisée par un exanthème fait de macules débutant à la face et aux extrémités, mais recouvrant progressivement le corps en 1 à 2 jours en une seule poussée. Cette éruption peut s'accompagner ou être précédée d'un énanthème. Au bout de 3-4 jours, ses macules se transforment en papules de 2 à 3 mm qui évoluent vers des vésicules de 2 à 5 mm au bout d'un à 2 jours puis des pustules d'un blanc-nacré caractéristique. Sur ces dernières, survient une ombilication puis l'apparition de croûtes entre le 8^e et le 10^e jour. Celles-ci tombent dans un délai d'une à trois semaines. Les lésions varioliques ont une distribution périphérique ou centrifuge et sont généralement toutes au même stade de développement. Les lésions sur les paumes et la plante des pieds persistent le plus longtemps.



Photo 1 : Cas de variole classique chez un adulte (Source : Archives médicales militaires des USA)



Photo 2 : Jeune garçon atteint de variole avec une éruption vésiculo-pustuleuse typique au visage (Source : the Centers for Disease Control and Prevention's Public Health Image Library)

L'évolution pouvait être émaillée de complications dont les plus courantes étaient les surinfections bactériennes cutanées, pulmonaires et oculaires, ainsi que le choc septique. Les principaux organes atteints étaient les reins, les articulations, le cœur (myocardite) et le système nerveux (encéphalite, neuropathies...).

Chez la femme enceinte, la variole pouvait être à l'origine d'avortement, d'accouchement prématuré ; d'infection et de lésions cutanées chez le nouveau-né.

La létalité de la variole était estimée à près de 30%. Des séquelles pouvaient persister chez les survivants. Les séquelles les plus fréquentes étaient les cicatrices du visage (65 à 80 %), les déformations des membres par lésion articulaire ou cutanée (2 % des enfants), la cécité par atteinte oculaire (1 %).

➤ Les autres formes cliniques

Quatre autres formes cliniques de variole ont été décrites :

- **La variole hémorragique**

Elle était toujours mortelle. Dans cette forme, une fièvre prodromique avec prostration était suivie de l'apparition d'un érythème foncé, puis de pétéchies et d'hémorragies de la peau et des muqueuses. La mort survenait généralement dans les 5 à 6 jours.

- **La variole plate**

Sept pour cent des cas ont été caractérisés par des lésions plates qui évoluaient plus lentement que celles de la variole majeure et qui coalesçaient. Le taux de létalité pour le type plat était de 97% chez les patients non vaccinés.

- **La variole modifiée**

Elle représentait 2% des cas chez les personnes non vaccinées et 25% chez les personnes vaccinées. Les lésions étaient moins nombreuses, plus petites, plus superficielles et d'évolution plus rapide que dans la forme classique. Les cas modifiés étaient rarement mortels.

- **La forme mineure ou « variola sine eruptione »**

Elle survenait chez des contacts déjà vaccinés ou chez des nourrissons ayant des anticorps maternels. Les personnes affectées étaient asymptomatiques ou présentaient une brève augmentation de la température, des maux de tête, des symptômes pseudo grippaux et rarement une discrète éruption. La létalité dans ces formes était inférieure à 1%.

2.2.1.4. Diagnostic paraclinique

Le diagnostic de la variole est confirmé par l'identification du virus ou de ses antigènes dans les raclures des lésions cutanées, le liquide papuleux, vésiculaire ou pustuleux, les croûtes, les prélèvements sanguins et les prélèvements amygdaliens. Ce diagnostic se fait dans un laboratoire de sécurité biologique de niveau 4 où les membres du personnel ont été vaccinés. On distingue les méthodes directes et les méthodes indirectes :

➤ **Les méthodes directes**

Certaines sont spécifiques au virus variolique et d'autres sont destinés aux orthopoxvirus en général.

- **L'examen au microscope électronique**

Il permet d'identifier le virus de la variole qui a une forme caractéristique en brique le distinguant du virus varicelle-zona (Voir photo 3 annexe 1).

- **L'immunohistochimie**

Elle permet de mettre en évidence l'antigène viral.

- **La culture virale**

Elle se fait sur œuf embryonné et permet l'isolement du virus suivi de l'identification d'espèces d'orthopoxvirus par des acides nucléiques ou par croissance sur chorioallantoïne.

- **La PCR « Polymerase Chain Reaction »**

Les techniques moléculaires de PCR demeurent la référence. Elles constituent non seulement une méthode rapide pour la détection précoce et l'identification du virus de la variole ; mais pathogènes humains.

➤ **Les méthodes indirectes**

Ce sont les tests sérologiques qui ne sont guère utiles dans la variole, car ils ne permettent pas de distinguer les différents orthopoxvirus. Des méthodes plus récentes, qui détectent les réponses IgM, peuvent cependant améliorer la sensibilité et la spécificité des tests sérologiques.

2.2.1.5. Prise en charge de la variole

➤ **Traitements curatifs**

Les buts du traitement étaient non seulement d'éviter la transmission de la maladie mais également de prévenir les complications ; et de les traiter le cas échéant.

Pour cela, un cas suspect de variole devait être géré en isolement dans une chambre à pression négative, si possible vacciné, en particulier si la maladie était à un stade précoce. A ce jour, aucun traitement spécifique n'a été approuvé par la FDA pour la variole. Le traitement était donc symptomatique et passait par:

- L'utilisation d'antibiotiques résistants à la pénicillinase en cas de surinfection bactérienne des lésions
- la correction des troubles hydroélectrolytiques et apports protidiques en cas d'atteinte cutanée étendue à l'origine de désordres hydroélectrolytiques
- L'idoxuridine topique (Dendrid, Herplex ou Stoxil) qui devrait être envisagée pour le traitement des lésions cornéennes, bien que son efficacité ne soit pas prouvée pour la variole.

➤ **Traitement préventif**

Il reposait exclusivement sur la vaccination et l'isolement des patients varioleux.

Cette vaccination était contre – indiquée chez certaines populations : les femmes enceintes, les patients atteints d'eczéma grave et les personnes immunodéprimées dont les PVVIH. De nos jours, de nouveaux vaccins pouvant être utilisés chez ces populations ont été proposés et d'autres candidats vaccins sont en développement [72, 73].

2.2.1.6. Leçons apprises de l'éradication de la variole

L'éradication de la variole est sans aucun doute le plus grand succès ; sinon l'un des plus grands succès de l'OMS en termes de santé des populations. Le processus qui a abouti à cette éradication doit être étudié en détail pour s'en enrichir.

La première leçon est qu'il est possible d'éradiquer une maladie infectieuse. La vaccination de masse a grandement contribué à l'éradication de la variole. L'OMS a cependant identifié six caractéristiques (en rapport avec la maladie et le vaccin) qui l'ont rendu possible :

- La variole est une maladie infectieuse strictement humaine. Il n'existe pas de réservoir animal dans lequel le virus pourrait persister et à partir duquel il serait susceptible d'être réintroduit dans la population humaine.
- Le virus variolique ne peut pas être la cause d'infections latentes ou persistantes car les sujets qui guérissent de la maladie éliminent la totalité des virus.
- La variole est une maladie grave et les signes en sont facilement reconnaissables. Les sujets infectés étaient donc rapidement identifiés et leurs contacts potentiels pouvaient ensuite être vaccinés.
- Le vaccin conférait une immunité protectrice de longue durée et il était efficace contre toutes les souches de virus variolique.
- Aucun variant du virus variolique ne pouvait échapper à l'immunité protectrice par des variations antigéniques en raison de la grande fidélité de l'ADN (acide désoxyribonucléique) polymérase virale et de la présence d'antigènes multiples.
- Le vaccin était facile à préparer, peu coûteux et stable sans réfrigération, ce qui a facilité son transport dans de bonnes conditions au cours de la campagne mondiale d'éradication.

La 2^e leçon est l'importance des systèmes de surveillance : un accent a été mis sur le renforcement de la surveillance et du retour d'information par le biais de rapports réguliers pour permettre une réponse rapide aux flambées.

L'adoption de stratégies efficientes a également été une leçon de ce succès : le passage d'une vaccination de masse à une vaccination en cercles ou en anneaux autour des cas a été une stratégie très cout-efficace. Il a permis aux administrateurs de la santé de nombreux pays de réaliser que de tels objectifs de santé publique pouvaient être atteints même avec de petits budgets et un personnel bien formé si les objectifs étaient clairs et des mesures adéquates prises [74].

Le rôle important de la communauté : la participation communautaire notamment sur l'identification et la référence des cas a été très contributive. Ceci a été possible par l'éducation des populations locales et des chefs de village sur les méthodes de prévention des maladies ainsi que sur la nécessité d'une identification et d'un traitement précoce des cas.

Les leçons tirées de l'éradication de la variole ouvrent la perspective à l'éradication d'autres maladies notamment la rougeole, la poliomyélite, entre autres.

2.2.2. Historique de la VCV

Depuis 1980, la variole a été la seule maladie infectieuse à être éradiquée. Cette réussite découle de facteurs spécifiques à la maladie notamment épidémiologiques et virologiques; mais aussi de l'existence de la VCV qui proférait une immunité solide et durable.

« La variolisation a été la première mesure utilisée pour lutter contre la variole. Elle consistait à prélever des fragments de pustules sur un sujet infecté et à inoculer le virus variolique à un sujet non immun en procédant par insufflation ou scarification. Ce procédé entraînait un taux élevé de mortalité (0,5 à 2 %), mais se révélait bénéfique compte tenu du taux de mortalité que comportait la transmission naturelle de la variole par la voie respiratoire (jusqu'à 40 %).

La variolisation a été pratiquée pendant des siècles en Inde et en Chine avant d'être introduite en Europe occidentale en 1723 et elle est restée le seul moyen de protection contre la variole jusqu'à ce qu'Edward Jenner invente la vaccination en 1796 » [19].

Cette vaccination se faisait à partir d'un virus vivant : le virus de la variole bovine puis, le virus de la vaccine (VACV) à partir de 1939. Le développement en 1950 d'un vaccin lyophilisé et la mise au point de l'aiguille bifurquée ont permis la mise à l'échelle mondiale de la VCV, aboutissant à l'éradication. Des stratégies de vaccination en masse puis de vaccination en cercles ou en anneaux (autour des cas) ont été adoptées permettant ainsi d'éviter la transmission interhumaine et endiguer les épidémies de variole. Parmi les particularités de cette vaccination : elle laisse une cicatrice caractéristique indélébile (Voir

photo 4 annexe 1), elle procure une immunité solide et durable et peut être à l'origine d'effets secondaires graves à type d'encéphalite et d'infections sévères qui surviennent principalement chez les sujets immunodéprimés et ceux présentant un eczéma chez qui la vaccination était contre-indiquée [19].

2.2.3. Vaccination contre la variole et immunité anti-infectieuse

La VCV, consistant à utiliser un virus vivant dérivé d'un hôte hétérologue pour induire une infection localisée, entraînait une réaction cutanée locale suffisante pour déclencher d'importantes réponses immunitaires protectrices contre la variole.

Des études antérieures ont montré que la réponse initiale à la vaccination primaire avec la vaccine était une augmentation rapide des niveaux de réponses des lymphocytes T [75]. Cette immunité cellulaire T spécifique de la vaccine pouvait persister jusqu'à 50 ans comme rapporté précédemment [11].

De même, en ce qui concerne l'immunité humorale, il a été montré que les cellules B mémoire spécifiques du virus de la vaccine pouvaient persister pendant plus de 50 ans chez les sujets vaccinés [10].

A l'image des autres nouveaux vaccins, la réponse immunitaire induite par la VCV pourrait être appréciables à deux niveaux. En effet, cette vaccination induit des réponses immunitaires cellulaires et humorales.

-- Une première évaluation de la réponse cellulaire devra alors reposer sur l'étude de la spécificité lymphocytaire T. Elle consiste d'abord en l'isolement des cellules mononucléées du sang (lymphocytes et monocytes) de la personne vaccinée. La deuxième étape sera la phase d'activation des isolées par l'antigène vaccinal. Les niveaux d'activation spécifiques des cellules T CD4 et CD8 seront enfin appréciés par cytométrie en flux par la recherche des marqueurs de surface CD25, CD38 et CD69 antérieurement décrits. Cette technique sera similaire à celle actuellement utilisée dans l'infection tuberculeuse et appelée ELISPOT.

-- le second niveau d'appréciation d'une activation immunitaire chronique induite par la VCV reposera sur la recherche des cellules B mémoires aisément activables. En effet, il a été démontré une persistance des lymphocytes B mémoires en cas de vaccination contre la variole pendant plusieurs années. La mise en contact de telles cellules avec l'antigène vaccinal permet leur transformation rapide en plasmocytes producteurs d'anticorps. Ces immunoglobulines seront alors dosées par ELISA.

2.2.4. Recherches sur la vaccination contre la variole

Depuis l'éradication de la variole, il n'existe que 2 laboratoires où sont conservés les virus de la variole restants :

- le centre collaborateur OMS pour la variole et les autres poxviroses sis au Center for Disease Control and prevention (CDC) d'Atlanta, Georgia (États-Unis)
- le centre collaborateur OMS pour le diagnostic des orthopoxviroses et conservatoire des souches et de l'ADN du virus variolique, sis au Centre de Recherche d'État en Virologie et Biotechnologie VECTOR de Koltovo, région de Novossibirsk (Fédération de Russie).

Le maintien de ces stocks a été autorisé par l'Assemblée Mondiale de la Santé aux fins de la poursuite des travaux de recherche. Ces recherches portent sur plusieurs points parmi lesquels la VCV [19].

Des recherches ont été entreprises pour l'élaboration de vaccins plus sûrs pour la vaccination de routine pour plusieurs raisons :

- la contre-indication du VACV chez les sujets immunodéprimés et chez les personnes présentant un eczéma
- la hantise d'une attaque bioterroriste utilisant la variole à titre d'arme.

Parmi ces candidats vaccins, l'ACAM2000 a été homologué aux États-Unis en août 2007 mais ne peut être utilisé que chez les personnes en bonne santé car susceptible de provoquer

des effets indésirables semblables à ceux des vaccins Lister ou Dryvax classiques utilisés lors de la campagne d'éradication de la variole [3, 19].

Le LC16m8, vaccin vivant et atténué homologué au Japon depuis 1975 est actuellement stocké au Japon en vue d'une potentielle attaque bioterroriste. Depuis 2014, des articles scientifiques ont été publiés sur la sécurité de la souche LC16m8 du virus de la vaccine chez la souris. Les études ont montré que LC16m8 est environ 5000 fois plus sécuritaire que la souche Lister du virus de la vaccine. Même chez les souris dont l'immunocompétence a été réduite par un traitement avec la cyclosporine, LC16m8 n'induisait aucun signe clinique, contrairement à la souche Lister du virus de la vaccine. La vaccination de souris immunodéficientes a également induit une forte immunité, suggérant que le vaccin LC16m8 pourrait être efficace chez les personnes immunodéprimées. Une étude de surveillance post-commercialisation chez 268 militaires a confirmé la sécurité et l'efficacité du vaccin, sans rapport d'événements indésirables graves. La recherche continue sur les anticorps neutralisants, la séroconversion et le mécanisme de l'efficacité de LC16m8 avec le soutien du CDC [3].

Il a été démontré que le vaccin contre la variole non reproducteur, basé sur la souche du virus de la vaccine Ankara modifiée (MVA) dénommé Imvanex® en Europe et Imvamune® aux USA et au Canada est un candidat prometteur comme vaccin contre la variole ; plus sûr, même pour les personnes immunodéprimées de par sa tolérance et son immunogénicité. Il est actuellement en essai clinique de phase III pour démontrer la non-infériorité d'Imvamune® par rapport au vaccin ACAM2000 et devrait bientôt être soumis à la FDA (Food and Drug administration) pour approbation [2, 3].

2.3. Revue de la littérature sur la vaccination contre la variole et l'infection à VIH

En 1993, Siefkes émettait l'hypothèse selon laquelle le virus VIH-1, recombinant naturel du virus de la leucémie bovine (BLV) et du virus Visna, aurait peut-être été transféré à l'homme

par le biais du programme d'éradication de la variole intensifié mené en Afrique subsaharienne à la fin des années 1960 et durant les années 1970 mais cette théorie présentait de nombreux points faibles [4]. Dans la même lancée, les professeurs Weinstein et Alibek émettaient l'hypothèse selon laquelle le VIH en Afrique n'avait émergé qu'après que l'immunité naturelle et acquise de la variole avait diminué dans les populations locales. Partant de cette théorie, ceux-ci avaient entrepris une comparaison de la susceptibilité au VIH-1 dans les cellules mononucléaires du sang périphérique des sujets immunisés avec le virus de la vaccine à ceux des donneurs non vaccinés. En regardant les globules blancs prélevés sur des personnes récemment vaccinées contre la variole, ils avaient trouvé des taux de réplication du VIH nettement inférieurs par rapport à ceux des témoins non vaccinés [5]. L'étude, publiée en 2010 suggérait que l'immunisation préalable avec le virus de la vaccine pouvait donner à un individu un certain degré de protection contre l'infection par le VIH ou la progression ultérieure. Cependant, la durée de cette protection restait à être déterminée [76]. Une autre étude menée sur une population d'anciens combattants américains en 2007, a trouvé qu'après une vaccination robuste, les anticorps neutralisants étaient maintenus pendant des périodes prolongées malgré la chute des cellules CD4 [77]. Edghill-Smith et al en 2003, quant à eux, soulignaient qu'une stratégie de vaccination utilisant une approche de prime-boost avec un poxvirus fortement atténué suivi de Dryvax (vaccin contre la variole) pouvait augmenter la tolérance du dit vaccin à partir du modèle animal [78]. Des études menées en Guinée-Bissau en milieu rural et urbain rapportaient que la présence d'une cicatrice de VCV était apparue associée à une moindre mortalité même chez les PVVIH. [6, 9].

Cependant, dans son édition 2010 intitulée «Analyse scientifique sur la recherche du virus variolique, 1999-2010», l'OMS indiquait que la vaccination traditionnelle contre la variole entraînait des complications majeures chez les immunodéprimés d'où sa contre-indication

dans cette population [19]. Cette contre-indication était connue depuis longtemps car des cas de complications dues à la vaccination traditionnelle avaient été décrits dans le passé. Le plus célèbre avait été décrit par Redfield et al en 1987 : il s'agissait d'un jeune recrue militaire infecté par le VIH et qui à la suite de la vaccination contre la variole avait développé une éruption cutanée disséminée. Malgré les traitements, le décès était survenu dans les 18 mois [79].

Mais en 2002, au cours d'une table ronde portant sur la vaccination contre la variole et l'infection à VIH, Bartlett et al signalaient que bien que la vaccination contre la variole soit contre-indiquée chez les patients immunodéprimés au VIH, celle-ci ne présentait pas de risque élevé chez les patients dont l'infection à VIH était bien contrôlée [80]. Les mêmes constats avaient été faits par Amorosa et Tasker et al dans leur publication respectivement en 2003 et 2004. Ils avaient montré que le vaccin contre la variole, constitué du virus de la vaccine (VACV), était bien toléré chez les patients VIH ayant un taux de CD4 normal et une charge virale indétectable sous TARV [81, 82]. Cependant, des études portant sur de nouveaux vaccins ont été faites non seulement pour pallier à ces effets secondaires mais également pour prévenir les risques en cas de bioterrorisme. Parmi ces études, celle de Cosma et al en 2007 qui avait réalisé une étude portant sur l'évaluation de la souche de virus de la vaccine Ankara modifiée (MVA) comme une alternative de vaccin contre la variole chez les patients VIH-1 sous traitement ARV. Les réponses immunitaires observées dans cette étude suggéraient que la MVA hautement atténuée pouvait être utilisée comme vaccin de substitution contre la variole chez les personnes infectées par le VIH-1 sous traitement antirétroviral [83]. Ces résultats avaient été confirmés par Greenberg et al en 2012 qui montraient que la MVA était un candidat prometteur comme vaccin contre la variole, plus sûr même pour les personnes immunodéprimées, un groupe pour lequel les vaccins contre la variole actuels avaient un profil de sécurité inacceptable [2].

DEUXIEME

PARTIE

3. Hypothèse de recherche

Les PVVIH précédemment vaccinées contre la variole présentent un niveau d'AIC moins élevé que celles qui n'ont pas été vaccinées.

4. Objectif

Évaluer l'influence d'une précédente VCV (présence de cicatrice de VCV) sur le niveau d'AIC (niveau de $\beta 2m$) dans une population sénégalaise de PVVIH naïves de TARV.

5. Méthodes

5.1. Contexte de l'étude

Cette étude a été réalisée dans le cadre d'un mémoire de fin d'études spécialisées en maladies infectieuses et tropicales. Elle a été menée au Centre Régional de Recherche et de Formation à la prise en charge du VIH et maladies associées du Service des Maladies Infectieuses et Tropicales (SMIT/CRCF) avec la collaboration du Centre de Traitement Ambulatoire (CTA), du Centre de Promotion de la Santé (CPS) Hyacinthe Thiandoum et du Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS) à Dakar au Sénégal.

5.2. Type et période d'étude

Il s'agissait d'une étude transversale analytique chez les PVVIH naïves de TARV sur une période allant du 1^{er} Juillet 2015 au 31 Mars 2017.

5.3. Population d'étude

La population de notre étude a été sélectionnée à partir de quatre sources : la cohorte clinique des PVVIH suivies au SMIT/CRCF, la cohorte clinique des PVVIH suivies au CTA, la cohorte clinique des PVVIH suivies au CPS Hyacinthe Thiandoum et les donneurs de sang dépistés et confirmés VIH positifs au CNTS de Dakar.

La première étape du processus de sélection était un entretien avec un médiateur (PVVIH travailleuse sociale) de la structure de suivi du candidat participant. Après avoir vérifié que le

candidat remplissait les critères d'inclusion dans notre étude, il lui expliquait l'étude dans un langage simple et lui proposait d'y participer. Si le candidat donnait son consentement oral, il se rendait au SMIT/CRCF selon sa convenance pour inclusion dans l'étude. Il était reçu par le clinicien qui vérifiait dans un premier temps que le candidat remplissait bien les critères d'inclusion :

- Suivi ambulatoire au moment de l'étude
- Naïf de TARV
- Consentement libre et éclairé signé
- Etre né en 1980 ou avant

Après matérialisation de son accord de participer par la signature du consentement éclairé, un examen clinique complet était réalisé de même qu'un prélèvement de 15 ml de sang.

5.4. Collecte des données

Les données cliniques étaient recueillies au cours de la visite médicale et les données biologiques à partir des rendus de résultat des différents laboratoires. Ces données étaient mentionnées sur une fiche d'évaluation clinique et paraclinique ou « Case Report Form (CRF) » conçue pour les besoins de l'étude (voir annexe 5).

5.4.1. Exposition

La variable d'exposition était l'antécédent de vaccination contre la variole. Les données sur les antécédents de VCV étaient recueillies au cours de la visite médicale (à partir de l'interrogatoire et de l'examen clinique). La cicatrice de VCV est facile à reconnaître à partir des critères suivants : elle est enfoncée, avec une zone centrale lisse, un bord périphérique rugueux, des lignes partant du centre vers l'extérieur (Voir photo 4 annexe 2). Elle est plus grande que la cicatrice de vaccination laissée par le bacille de Calmette et Guérin (BCG) qui est située sur la partie supérieure du bras gauche avec un centre surélevé. Deux cliniciens se sont prononcés indépendamment sur la présence ou non de la cicatrice de VCV et seuls les

cas concordants (accord sur présence ou absence) ont été retenus. Un échantillon de sang a été prélevé le même jour et acheminé au laboratoire pour dosage de la β 2m et d'autres paramètres biologiques.

5.4.2. Evénement

La variable événement « outcome » était le niveau de β 2m.

Les niveaux plasmatiques de β 2m ont été mesurés à l'aide du système automatisé Abbott Architect ci4100 (Abbott Laboratories, Wiesbaden, Allemagne) conformément aux instructions du fabricant en utilisant des réactifs Quantia β 2m dans des conditions calibrées. Les échantillons de plasma décongelés qui ont été recueillis dans des tubes EDTA ont été utilisés pour un dosage unique. Les résultats sont exprimés en mg/l de β 2m selon la norme internationale de l'OMS [84].

Les autres variables étudiées étaient les caractéristiques sociodémographiques (âge, sexe, situation matrimoniale, profession, niveau d'éducation), les données cliniques (indice de masse corporelle (IMC), pression artérielle, présence de cicatrice de BCG), les données en rapport avec l'infection à VIH (sérotype viral, stade clinique OMS, niveau de CD4, ratio CD4/CD8, charge virale plasmatique) et la présence de comorbidités (diabète, hypertension artérielle (HTA), maladie cardiovasculaire (MCV), insuffisance rénale chronique (IRC), accident vasculaire cérébral (AVC), hépatite virale B ou C).

5.5. Exploitation des données

La saisie des données a été faite sur une base de données Epi info 7 conçue pour les besoins de l'étude. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de la version 14 du logiciel Stata.

- Description de la population

Elle a concerné tous les patients qui remplissaient les critères de sélection de l'étude. Leurs principales caractéristiques ont été résumées dans un ou plusieurs tableaux. Chaque variable

quantitative a été représentée par sa moyenne avec son écart type ou sa médiane avec son intervalle interquartile (IIQ), ceci en fonction de la distribution de la variable. Pour chaque variable qualitative, les pourcentages et les intervalles de confiance (IC) des différentes modalités ont été présentés.

Des figures ont été également utilisées pour illustrer la distribution de certaines variables catégorielles.

- Comparaison des caractéristiques des populations

Les participants qui avaient une cicatrice de VCV ont été comparés à ceux qui n'en présentaient pas.

Les variables catégorielles ont été comparées à l'aide du test du Chi-carré ; ou du test exact de Fisher si nécessaire.

Les comparaisons de variables quantitatives ont été réalisées par le test T de Student, l'ANOVA ; ou les tests non paramétriques (Kruskall Wallis ou Wilcoxon) le cas échant.

- Evaluation de l'effet des antécédents de VCV sur le niveau d'AI

Elle a été faite à partir d'un modèle de régression linéaire et d'un modèle de régression logistique. Dans le premier cas, la variable dépendante était le niveau de $\beta 2m$ (variable continue) alors que dans le 2^e cas, la variable dépendante était un niveau de $\beta 2m \geq$ médiane.

La construction du modèle final a été faite selon une procédure manuelle descendante en trois étapes :

- 1) Spécification des variables : les variables à considérer dans le modèle initial ont été déterminées à partir de la littérature, des analyses univariées et des hypothèses de recherche.
- 2) Évaluation de la confusion : la variation relative de la mesure d'effet (entre variable d'exposition et la variable événement) a permis de retenir ou de retirer les variables restantes du modèle avec un seuil de 10%.

3) Analyse des interactions : les interactions non significatives (test de Wald et test du Likelihood Ratio) ont été retirées du modèle alors que celles significatives ont été conservées dans le modèle final ainsi que les variables qui les composent.

Nous avons vérifié l'hypothèse de linéarité de l'effet des variables continues et en cas de non linéarité, une catégorisation ou une transformation arithmétique a été réalisée.

Dans un dernier temps, l'adéquation du modèle a été étudiée par le test de Hosmer et Lemeshow et l'appréciation du pouvoir discriminant du modèle logistique par l'« area under the curve » (AUC).

Au terme de cette analyse, la présence de cicatrice de VCV était considérée comme associée au niveau de $\beta 2m$ si l'IC à 95% du coefficient bêta excluait la valeur 0 ou de l'odds ratio (OR) excluait la valeur 1.

5.6. Aspects éthiques et règlementaires

Dans le cadre de notre étude, un protocole de recherche a été soumis au préalable au Comité National d'Éthique pour la Recherche en Santé (CNERS) du Sénégal pour évaluation éthique et obtention d'une autorisation administrative du ministère de la santé et de l'action sociale (MSAS). Un avis éthique favorable ainsi que l'autorisation du MSAS ont été obtenus avant que ne débute l'étude (Voir annexe 6). Une notice d'information et un formulaire de consentement éclairé ont été remis aux participants (Voir annexes 3 et 4). La signature du consentement éclairé après lecture exhaustive de la notice d'information était nécessaire pour participer à l'étude. Tous les documents de l'étude ont été rendus anonymes avec le seul numéro du participant.

6. Résultats

Durant la période d'étude allant du 1^{er} Juillet 2015 au 31 Mars 2017, nous avons inclus 101 PVVIH naïves de TARV.

6.1. Caractéristiques de la population d'étude

Les caractéristiques de la population sont résumées dans les tableaux 3, 4 et 5.

Tableau 3 : Caractéristiques démographiques et socio-économiques de la population d'étude

Caractéristiques	Effectif	Médiane (IQ ^a) ou %
Tranche d'âge (ans)	101	47(42 – 55)
35 - 45	44	43,6
46 - 55	34	33,7
> 55	23	22,8
Sexe	101	
Féminin	58	57,4
Homme	43	42,6
Statut matrimonial	101	
Marié	55	54,5
Célibataire	14	13,9
Veuf	12	11,9
Divorcé	20	19,8
Profession	101	
Sans profession	34	33,7
Travailleur informel	51	50,5
Autre travailleur du secteur public ou privé	9	8,9
Cadre du secteur privé ou public	7	6,9
Niveau d'instruction	101	
Non instruit	24	23,8
Primaire	35	34,6
Moyen/Secondaire	30	29,7
Supérieur	12	11,9

^a : Intervalle interquartile

La médiane d'âge de notre population était de 47 ans (intervalle interquartile (IQ) = 42 – 55).

Il y avait plus de femmes que d'hommes dans notre population d'étude avec un sex-ratio de 1,35. Parmi les catégories professionnelles, la plus fréquente était celle des travailleurs informels et seulement 11,9% (IC95% = 6,8 – 19,9) de notre population avait un niveau d'études supérieur.

Tableau 4 : Caractéristiques cliniques de la population d'étude

Caractéristiques	Effectif	Médiane (IQ ^a) ou %
Cicatrice de VCV	101	
Oui	66	65,4
Non	35	34,6
Nombre de cicatrices		
1	49	74,2
2	12	18,2
3	5	7,6
Cicatrice de BCG	101	
Oui	60	59,4
Non	41	40,6
IMC (kg/m ²)	101	22 (19,8 – 27,3)
< 18,5	19	18,8
18,5 -24,9	44	43,6
≥ 25	38	37,6
Présence de Comorbidités	101	
Oui	41	40,6
Non	60	59,4
Stade OMS	101	
Stade 1 ou 2	87	86,1
Stade 3 ou 4	14	13,9

^a : Intervalle interquartile

Un effectif de 66 participants (65,4% ; IC 95% = 55,4 – 74,1) présentait au moins une cicatrice de VCV. Parmi eux, une proportion de 25,8% (IC 95% = 13,5 – 47) avait plus d'une cicatrice de VCV. Le diamètre moyen de la plus grande cicatrice de VCV était de 17,3 mm (écart-type = 7,4). Une cicatrice de BCG était retrouvée chez 59,4% de la population d'étude (IC 95% = 49,4 – 68,7). Une proportion de 40,6% présentait au moins une comorbidité parmi lesquelles 15 participants avaient un antigène HBs (hepatitis B surface antigen) positif. Parmi ces derniers, les anticorps anti VHC ont été retrouvés chez un individu. La majorité des patients était au stade clinique 1 ou 2 de l'OMS (86,1% ; IC 95% = 77,8 – 91,7) avec un indice de masse corporelle (IMC) médian de 22 kg/m² (IQR = 17,8 – 27,3).

Tableau 5 : Caractéristiques biologiques de la population d'étude

Caractéristiques	Effectif	Médiane (IIQ ^a) ou %
Type de VIH	101	
VIH-1	75	74,3
VIH-2	22	21,8
VIH-1+2	4	3,9
Taux de CD4 (cellules/ μ l)	99	411 (149 – 580)
< 500	56	56,6
\geq 500	43	43,4
Ratio CD4/CD8	99	0,4 (0,2 – 0,9)
< 1	77	77,8
\geq 1	22	22,2
Charge virale (copies/ml)	78	124500 (12400 – 741000)
< 10000	28	23,1
\geq 10000	60	76,9
Taux d'Hb (g/dl)	99	11,8 (10,7 – 12,7)
< 10	12	12,1
\geq 10	87	87,9
MDRD eGFR ^b (ml/min/1,73m ²)	101	86,9 (72,7 – 104,5)
\leq 60	10	9,9
$>$ 60	91	90,1
Cholestérol (g/l)	101	1,9 (1,6 – 2,1)
\leq 2	65	64,1
$>$ 2	36	35,9
HDL cholestérol (g/l)	101	0,6 (0,5 – 0,7)
$<$ 0,4	18	17,8
\geq 0,4	83	82,2
Triglycérides (g/l)	101	1,04 (0,9 – 1,2)
$<$ 1,5	91	90,1
\geq 1,5	10	9,9

^a: Intervalle interquartile

^b: débit de filtration glomérulaire estimée par MDRD (Modification of the Diet in Renal Disease)

Le VIH-1 était le sérotype le plus fréquemment retrouvé. Un effectif de 56 participants (56,6% ; IC 95% = 46,5 – 66,1) avait un taux de CD4 < 500 cellules/ μ l et le ratio CD4/CD8 était < 1 chez 77,8% des participants (IC 95% = 68,3 – 85). La charge virale était > 10000 copies /ml chez 76,9% de la population d'étude ; IC 95% = 66 – 85,1. Par ailleurs, une anémie (taux d'hémoglobine < 10 g/dl) était retrouvée chez 12 participants soit une proportion de 12,1% (IC 95% = 6,9 – 20,3).

Le taux médian de béta-2-microglobuline était de 2,6 mg/l (IIQ = 2,1 – 3,9) et le taux moyen de β 2m était de 3,3 mg/l (1,84).

6.2. Caractéristiques de la population d'étude selon la présence de la cicatrice de VCV

Les caractéristiques des patients qui présentaient une cicatrice de VCV ont été comparées à celles des patients qui n'en présentaient pas. Les résultats sont présentés dans les tableaux 6 et 7.

Tableau 6 : Caractéristiques démographiques, socio-économiques et cliniques de la population d'étude selon la présence d'une cicatrice de VCV

Caractéristiques	Avec Cicatrice		Sans cicatrice		P	
	Effectif	Médiane (IIQ ^a) ou %	Effectif	Médiane (IIQ ^a) ou %		
Tranche d'âge	66	48 (44 - 56)	35	42 (39 - 52)	0,008	
35 - 45	22	33,3	22	62,9		
46 - 55	27	40,9	7	20		
> 55	17	25,8	6	17,1		
Sexe	66		35		0,967	
Masculin	28	42,4	15	42,9		
Féminin	38	57,6	20	57,1		
Statut matrimonial	66		35		0,533	
Célibataire	8	12,1	6	17,1		
Marié	38	57,6	17	48,6		
Veuf	9	13,6	3	8,6		
Divorcé	11	16,7	9	25,7		
Profession	66		35		0,749	
Sans profession	24	36,4	10	28,6		
Travailleur informel	33	50	18	51,4		
Autre travailleur du secteur public ou privé	5	7,6	4	11,4		
Cadre du secteur privé ou public	4	6,1	3	8,6		
Niveau d'instruction	66		35		0,595	
Non instruit	16	24,2	8	22,9		
Primaire	25	37,9	10	28,6		
Moyen/Secondaire	19	28,8	11	31,4		
Supérieur	6	9,1	6	17,1		
Stade OMS	66		35		0,369	
Stade 1 ou 2	55	83,3	32	91,4		
Stade 3 ou 4	11	16,7	3	8,6		
Comorbidités	66		35		0,347	
Oui	29	43,9	12	34,3		
Non	37	56,1	23	65,7		
Cicatrice BCG	66		35		0,001	
Oui	47	71,2	13	62,9		
Non	19	28,8	22	37,1		

Les patients qui présentaient une cicatrice de VCV avaient un âge médian plus élevé que ceux qui n'en présentaient pas : 48 ans contre 42 ans ($p = 0,008$). Ils avaient plus fréquemment une cicatrice de BCG (71,2 % contre 28,8 % ; $p = 0,001$). Il n'y avait pas d'association entre un stade avancé de l'infection à VIH, les comorbidités et la présence de cicatrice de VCV.

Tableau 7 : Caractéristiques paracliniques de la population d'étude selon la présence d'une cicatrice de VCV

Caractéristiques	Avec Cicatrice		Sans cicatrice		p	
	Effectif	Médiane (IIQ ^a) ou %	Effectif	Médiane (IIQ ^a) ou %		
IMC (Kg/m ²)	66	22,2 (19,4 – 27,4)	35	22 (19,8 – 26,9)	0,740	
< 18,5	12	18,2	7	20		
18,5 – 24,9	30	45,5	14	40		
≥ 25	24	36,4	14	40		
Taux d'Hb (g/dl)	66	12 (10,9 – 12,7)	33	11,2 (10,6 – 12,3)	0,131	
4,8 – 9,9	5	7,6	7	21,2		
≥ 10.	61	92,4	26	78,8		
Type de VIH	66		35		0,361	
VIH-1	47	71,2	28	80		
VIH-2	17	25,8	5	14,3		
VIH-1+2	2	3	2	5,7		
Taux de CD4 (cellules/μl)	66	393 (138 – 580)	33	501 (184 – 568)	0,622	
5 - 499	40	60,6	16	48,5		
> 500	26	39,4	17	51,5		
Ratio CD4/CD8	66	0,4 (0,2 – 1)	33	0,4 (0,3 – 0,7)	0,795	
< 1	49	74,2	28	84,8	0,231	
≥ 1	17	25,8	5	15,2		
Charge virale (log copies/ml)	48	4,8 (3,5 – 5,8)	30	5,1 (4,4 – 5,9)	0,465	
B2M (mg/l)	66	2,6 (2,1 – 3,9)	35	2,3 (2 – 3,8)	0,600	
< 2,59	31	47	19	54,3		
≥ 2,59	35	53	16	45,7	0,484	
eGFR ^b (ml/min/1,73m ²)	66	89,2 (72,6 – 105,6)	35	85 (72,7 – 100,2)	0,881	
52,5 – 60	7	10,6	3	8,6		
>60	59	89,4	32	91,4	0,745	

^b: débit de filtration glomérulaire estimée par MDRD (Modification of the Diet in Renal Disease)

Les proportions de patients infectés par le VIH-2, de patients ayant un taux de CD4 < 500 et de patients ayant un ratio CD4/CD8 ≥ 1 étaient plus importantes en cas de présence de cicatrice de VCV: 25,8 % contre 14,3 % ; 60,6 % contre 48,5 ; 25,8 % contre 15,2 %, respectivement. Ces différences n'étaient pas statistiquement significatives.

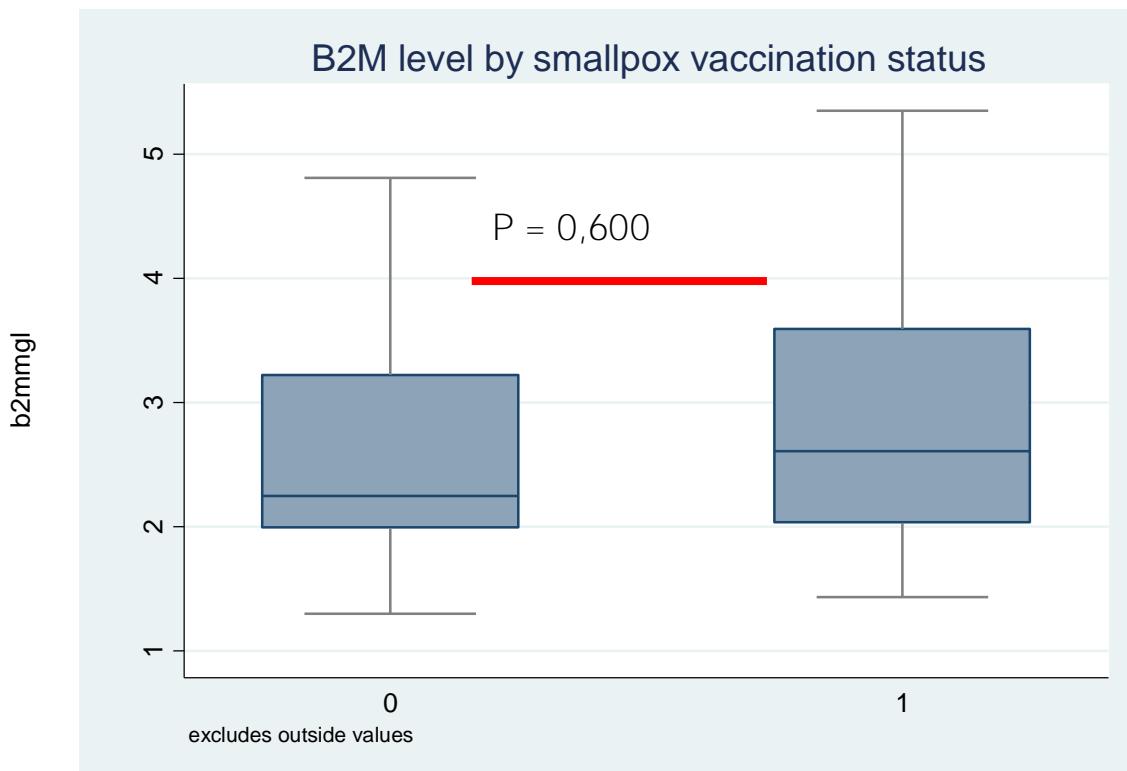
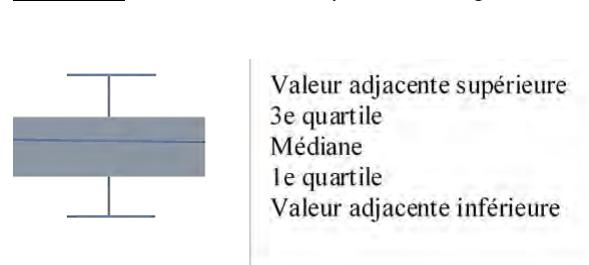


Figure 3 : Niveau médian de β 2m selon la présence de VCV



Les niveaux moyens de β 2m étaient similaires entre les participants ayant une cicatrice de VCV : 3,3 (0,22) et ceux sans cicatrice : 3,2 (0,34) ; $p = 0,985$.

Les niveaux médians respectifs étaient de 2,6 mg/l (IIQ = 2,1 – 3,9) et 2,3 mg/l (IIQ = 2 – 3,8).

6.3. Association entre VCV et niveau d'AIC

6.3.1 Analyses principales

L'association entre la présence de cicatrice de VCV et le niveau de β 2m a été évaluée à travers plusieurs modèles de régression logistique et un modèle de régression linéaire. L'analyse principale a été réalisée en prenant comme point de coupure la médiane de β 2m avec comme événement un niveau de β 2m $\geq 2,59$ mg/l (tableau 8).

Tableau 8 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV sur un niveau de $\beta 2m \geq 2,59$ mg/l

Caractéristiques	Analyse univariée		Analyse multivariée*	
	OR brut (IC95%)	P	OR ajusté (IC95%)	p
Cicatrice de VCV				
Non	1		1	
Oui	1,34 (0,58 – 3,05)	0,485	0,94 (0,32 – 2,77)	0,908
Tranche d'âge				
35 - 45	1		1	
46 - 55	3,81 (1,47 – 9,91)	0,006	3,02 (1,01 – 8,99)	0,047
> 55	1,22 (0,44 – 3,40)	0,701	1,24 (0,38 – 4,06)	0,716
Sexe				
Masculin	1		1	
Féminin	1,83 (0,83 – 4,07)	0,137	1,61	0,363
Niveau d'instruction				
Non instruit	1		1	
Primaire	1,43(0,5 – 4,12)	0,505	1,34 (0,42 - 4,37)	0,623
Moyen/Secondaire	0,65 (0,22 – 1,91)	0,429	0,63 (0,17 – 2,87)	0,415
Supérieur	0,28 (0,06 – 1,31)	0,106	0,32 (0,04 – 2,36)	0,262
Stade OMS				
Stade 1 ou 2	1		1	
Stade 3 ou 4	4,31 (1,12-16,53)	0,033	4,19 (0,75 – 23,34)	0,102
Cicatrice de BCG				
Non	1		1	
Oui	0,68 (0,31 – 1,52)	0,353	0,63 (0,23 – 1,74)	0,372
Taux d'Hb (g/dl)				
Hb \geq 10	1		1	
Hb < 10	0,77 (0,61 -0,98)	0,031	1,93 (0,39 – 9,44)	0,417

* modèle multivarié ajusté sur les variables de confusion suivantes (en utilisant une variation de 10% dans les méthodes d'estimation): âge, sexe, niveau d'éducation, stade clinique de l'OMS, taux d'hémoglobine et présence de cicatrice de BCG

En analyse univariée, l'OR pour l'association entre la présence d'une cicatrice de VCV et un niveau $\beta2m \geq 2,59$ mg/l était de 1,34; IC 95% = 0,58 – 3,05; p = 0,485. Un niveau de $\beta2m \geq 2,59$ mg/l était néanmoins associé à l'IMC et au taux d'hémoglobine avec des OR de 0,92 (IC 95% = 0,86 – 0,99; p = 0,036) et 0,77 (IC 95% = 0,61 – 0,98; p = 0,031), respectivement. Un niveau de $\beta2m \geq 2,59$ mg/l était également associé à la charge virale (OR = 2,83; IC 95% = 1,67 – 4,78; p <0,001) et au stade clinique de l'OMS (OR = 4,31; 95% CI = 1,12 – 16,53; p = 0,033).

Après ajustement, il n'y avait pas d'association entre le niveau de $\beta2m \geq 2,59$ mg/l et la présence d'une cicatrice de VCV : OR = 0,94 ; IC 95% = 0,32 – 2,77 ; p = 0,908).

L'absence d'association entre la présence de cicatrice de VCV et le niveau de $\beta2m$ a été confirmée par le modèle de régression linéaire (tableau 9).

Tableau 9 : Modèle de régression linéaire évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV sur le niveau de β 2M

Caractéristiques	Analyse univariée		Analyse multivariée*	
	β brut (IC ^c 95%)	p	β ajusté (IC ^c 95%)	p
Cicatrice de VCV				
Non	1		1	
Oui	0,03 (-0,74 – 0,79)	0,945	-0,08 (-0,80 – 0,63)	0,818
Tranche d'âge				
35 - 45	1		1	
46 - 66	0,02 (-0,02 – -0,07)	0,320	0,02 (-0,02 – 0,06)	0,363
Sexe				
Masculin	1		1	
Féminin	0,55 (-0,17 – 1,29)	0,133	1,11 (0,26 – 1,97)	0,011
IMC (Kg/m ²)				
< 18,5	1		1	
\geq 18,5	-0,12 (-0,18 – -0,06)	0,000	-0,08 (-0,15 – -0,01)	0,028
Type de VIH				
VIH-1	1		1	
VIH-2	-0,28 (-1,16 – 0,61)	0,535	1,01 (-2,21 – 4,24)	0,533
VIH-1+2	1		1	
Stade OMS				
Stade 1 ou 2	1		1	
Stade 3 ou 4	2,74 (1,84 – 3,65)	0,000	2,11 (1,01 – 3,21)	0,000
Comorbidités				
Non	1		1	
Oui	-0,16 (-0,90 – 0,59)	0,673	-0,05 (-1,02 – 0,37)	0,357
Cicatrice de BCG				
Non	1		1	
Oui	-0,75 (-1,48 – -0,02)	0,044	-0,12 (-0,85 – 0,61)	0,744
Taux d'Hb (g/dl)				
Hb \geq 10	1		1	
Hb < 10	-0,29 (-0,47 – -0,10)	0,003	-0,05 (-0,24 – 0,14)	0,601

* modèle multivarié ajusté sur les variables de confusion suivantes (en utilisant une variation de 10% dans les méthodes d'estimation): âge, sexe, IMC, type de VIH, stade clinique de l'OMS, taux d'hémoglobine, présence de comorbidité et présence de cicatrice de BCG.

Après ajustement sur les facteurs de confusion potentiels, la mesure d'association (β) entre la présence de cicatrice de VCV et l'augmentation d'une unité du niveau de β 2m était de -0,08 (IC95% = -0,80 – 0,63 ; p = 0,818).

6.3.2 Analyse secondaire

Une analyse secondaire a été réalisée en prenant en compte un point de coupure au niveau du 4^e quintile de la valeur de β 2m avec comme événement un niveau de β 2m \geq 4,73 mg/l. Les résultats du modèle de régression logistique correspondant sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 10 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV sur le niveau de $\beta 2m \geq 4,73$ mg/l

Caractéristiques	Analyse univariée		Analyse multivariée*	
	OR (IC ^c 95%)	p	OR (IC ^c 95%)	p
Cicatrice de VCV				
Non	1		1	
Oui	0,75 (0,27 – 2,05)	0,575	0,66 (0,10 – 4,74)	0,681
Tranche d'âge				
35 – 41	1		1	
42 – 46	0,39 (0,06 – 2,38)	0,309	0,54 (0,06 – 4,89)	0,581
47 – 54	2,91 (0,78 – 10,93)	0,113	0,88 (0,10 – 8,05)	0,912
≥ 55	0,59 (0,12 – 2,96)	0,519	0,37 (0,03 – 4,42)	0,432
Sexe				
Masculin	1		1	
Féminin	1,96 (0,69 – 5,62)	0,209	4,97 (0,61 – 40,79)	0,135
IMC (Kg/m²)				
< 18,5	1		1	
18,5 -24,9	0,17 (0,05 – 0,57)	0,004	0,29 (0,03 – 2,54)	0,266
≥ 25	0,08 (0,02 – 0,34)	0,001	0,14 (0,01 – 1,78)	0,129
Niveau d'instruction				
Non instruit	1		1	
Primaire	0,89 (0,26 – 3)	0,849	0,46 (0,08 – 2,53)	0,373
Moyen/Secondaire	0,5 (0,14 – 1,77)	0,283	0,33 (0,04 – 2,48)	0,285
Stade OMS				
Stade 1 ou 2	1		1	
Stade 3 ou 4	12,44 (3,52 – 43,97)	0,000	16,08 (1,15 – 224,89)	0,039
Cicatrice de BCG				
Non	1		1	
Oui	0,37 (0,14 – 1,01)	0,053	1,08 (0,23 – 0,495)	0,924
Taux d'Hb (g/dl)				
Hb ≥ 10	1		1	
Hb < 10	0,62 (0,44 – 0,86)	0,023	12,08 (1,42 – 102,96)	0,023

* modèle multivarié ajusté sur les variables de confusion suivantes (en utilisant une variation de 10% dans les méthodes d'estimation): âge, sexe, niveau d'instruction, stade clinique de l'OMS, taux d'hémoglobine et présence de cicatrice de BCG.

En analyse univariée, l'OR pour l'association entre la présence d'une cicatrice de VCV et un niveau $\beta2m \geq 4,73\text{mg/l}$ était de 0,75; IC 95% = 0,27– 2,05; p = 0,575. Un niveau de $\beta2m \geq 4,73\text{mg/l}$ était associé à l'IMC, au taux d'hémoglobine et au stade clinique OMS.

En analyse multivariée, il n'y avait pas d'association entre le niveau de $\beta2m \geq 4,73\text{mg/l}$ et la présence d'une cicatrice de VCV : OR = 0,66 : IC 95% = 0,10 – 4,74 ; p = 0,681.

6.3.3: Analyses de sensibilité

Nous avons réalisé plusieurs analyses supplémentaires notamment sur des sous-groupes de patients et en utilisant différentes mesures de l'exposition (présence cicatrice de VCV).

Dans le sous-groupe de participants nés avant 1974, l'association entre la présence de cicatrice de VCV et un niveau de $\beta2m \geq 2,59\text{ mg/l}$ n'était pas statistiquement significative après ajustement (tableau 11).

Tableau 11 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV sur le niveau de $\beta2M \geq 2,59\text{ mg/l}$ chez les sujets nés avant 1974.

	Analyse univariée		Analyse multivariée*	
	N = 79		N = 77	
Cicatrice de VCV		OR brut (IC 95%)	p	OR ajusté (IC 95%)
Absente	1		1	
Présente	0.99 (0.36 – 2.71)	0.984	0.94 (0.25 – 3.51)	0.931

* modèle multivarié ajusté sur les variables de confusion suivantes (en utilisant une variation de 10% dans les méthodes d'estimation): âge, sexe, niveau d'instruction, stade clinique de l'OMS, taux d'hémoglobine et présence de comorbidité et présence de cicatrice de BCG.

L'association n'était pas non plus significative en comparant le sous-groupe de participants qui présentaient une cicatrice de VCV + une cicatrice de BCG par rapport aux participants qui ne présentaient ni cicatrice de VCV, ni cicatrice de BCG : OR = 0,62 ; IC 95% = 0,16 – 2,36 ; p = 0,487 (tableau 12).

Tableau 12 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet d'une cicatrice de VCV et d'une cicatrice de BCG sur le niveau de $\beta 2m \geq 2,59$ mg/l

	Analyse univariée		Analyse multivariée *	
	N = 69		N = 67	
Cicatrice des VCV et de BCG	OR brut (IC 95%)	p	OR ajusté (IC 95%)	p
Absentes	1		1	
Présentes	0.79 (0.28 – 2.19)	0.646	0.62 (0.16 – 2.36)	0.487

* modèle multivarié ajusté sur les variables de confusion suivantes (en utilisant une variation de 10% dans les méthodes d'estimation): âge, sexe, niveau d'instruction, stade clinique de l'OMS, taux d'hémoglobine et présence de comorbidité et présence de cicatrice de BCG.

Le tableau 13 présente les résultats des modèles de régression logistique ayant évalué l'association entre la présence de plusieurs cicatrices de VCV (≥ 2 contre < 2) et un niveau de $\beta 2m \geq 2,59$ mg/l. L'OR ajusté était de 0,59 ; IC95% = 0.17 – 2.06 ; P = 0,411.

Tableau 13 : Modèle de régression logistique évaluant l'effet de plusieurs cicatrices de VCV sur le niveau de $\beta 2M \geq 2,59$ mg/l.

	Analyse univariée		Analyse multivariée *	
	N = 69		N = 67	
Cicatrice des VCV et de BCG	OR brut (IC 95%)	p	OR ajusté (IC 95%)	p
< 2	1		1	
≥ 2	0.84 (0.30 – 2.41)	0.756	0.59 (0.17 – 2.06)	0.411

* modèle multivarié ajusté sur les variables de confusion suivantes (en utilisant une variation de 10% dans les méthodes d'estimation): âge, sexe, niveau d'instruction, stade clinique de l'OMS, taux d'hémoglobine et présence de comorbidité et présence de cicatrice de BCG

7. Discussion

7.1. Résumé des principaux faits

Dans notre étude qui a porté sur 101 PVVIH naïves de TARV au Sénégal, il n'y avait pas de différence statistiquement significative du niveau de $\beta2m$ entre les PVVIH qui présentaient une cicatrice de VCV et celles qui n'en avaient pas. Après ajustement, nous n'avons pas trouvé d'association entre le niveau de $\beta2m$ et la présence d'une cicatrice de VCV.

7.2. Discussion méthodologique

Comme toutes les études transversales, notre travail comporte des points faibles.

La population d'étude était constituée par les personnes vivantes au moment de l'étude. Celles qui avaient des problèmes de santé au moment de la vaccination antivariolique étaient probablement décédées avant la mesure du résultat. Cela peut être le cas pour ceux à qui le vaccin contre la variole était contre-indiqué.

Une taille d'échantillon plus élevée avait été établie lors de l'élaboration du protocole mais deux éléments ont limité le recrutement : la majorité des PVVIH était née après 1980 et les lignes directrices de l'OMS recommandaient une initiation de plus en plus précoce du TARV. D'autre part, nous essayions d'établir une association entre une exposition et un résultat mesuré plus de 37 ans après l'exposition ce qui rend notre hypothèse difficile à confirmer.

Nous avons préféré la $\beta2m$ aux marqueurs cellulaires (CD25, CD38, HLA-DR) qui certes sont plus spécifiques, mais ne peuvent pas être réalisés en routine dans les PRL. La $\beta2m$ est très accessible techniquement et financièrement. Elle est faisable dans les environnements défavorisés d'où son intérêt en santé publique dans les PRL.

Les antécédents de VCV ont été appréciés sur la base de la cicatrice de VCV. Cette cicatrice présente des particularités et a été recherchée de façon indépendante par deux cliniciens formés afin de minimiser les erreurs de classification. Cependant, il n'existe pas de caractéristique pathognomonique de cette cicatrice et elle peut être confondue avec une

cicatrice de BCG ou d'un autre type. La confrontation de cette mesure avec l'information recueillie sur les carnets de vaccination ou sur les registres de vaccination pourrait donner plus de fiabilité à cette mesure mais ni les carnets, ni les registres n'étaient disponibles.

Notre population d'étude était relativement homogène et nous avons collecté toutes les informations souhaitées notamment sur la profession, le niveau d'éducation et d'autres comorbidités qui pourraient influencer l'association entre le niveau de $\beta2m$ et la présence d'une cicatrice de VCV. Les résultats de nos analyses sont demeurés inchangés lorsque l'on considère les personnes qui étaient au moins à l'âge scolaire lorsque la vaccination antivariolique a été interrompue ou lorsqu'on exclut les personnes ayant une cicatrice de BCG. Ils n'ont pas changé ni en considérant ceux qui ont des cicatrices de VCV et de BCG comparés à ceux qui n'ont aucune cicatrice; ni en comparant ceux avec moins de 2 cicatrices et ceux avec au moins 2 cicatrices de VCV. Ce qui limite le biais de sélection.

7.3. Mise en perspective

Nous n'avons trouvé aucune étude qui évaluait l'association entre une VCV antérieure et une activation immunitaire chez les PVVIH comme dans notre étude. Mais plusieurs études se sont intéressées à l'association entre une précédente VCV et la morbi-mortalité dont certaines chez les populations de PVVIH. Dans cette population, un effet de la VCV sur la morbi-mortalité passerait probablement par l'AIC qui est le principal facteur de progression de l'infection à VIH.

Parmi ces études, certaines ont rapporté un effet protecteur de la VCV chez les PVVIH en termes de réponses immunitaires et de mortalité. Des titres d'anticorps neutralisants persistant à distance d'une VCV ont été démontrés chez les PVVIH d'origine américaine et pourraient offrir une certaine protection contre l'infection à VIH [78]. Weinstein RS et al ont trouvé une réplication in vitro plus lente du VIH-1 à tropisme CCR suggérant une certaine protection contre l'infection ou la progression de la maladie [5].

Les études menées en Guinée-Bissau ont rapporté des avantages à long terme de la VCV sur la mortalité 26 ans après la vaccination. Elles ont montré que la présence d'une cicatrice vaccinale contre la variole était associée à une mortalité plus faible chez les PVVIH. La première a eu lieu dans un milieu urbain et a rapporté un risque relatif de décès de 0,60 dans la population adulte globale comprenant 502 PVVIH et le risque relatif n'était pas différent dans ce groupe [9]. La deuxième a rapporté un risque relatif de 0,22 parmi 193 PVVIH en zone rurale [6]. Ce qui n'est pas le cas d'une récente étude cas-cohorte menée sur une population de 5316 écoliers nés entre 1965-1976 et enregistrés dans le registre de santé scolaire de Copenhague (CSHRR): le risque relatif de mortalité ajusté (RR) pour ceux qui étaient vaccinés contre la variole par rapport aux non vaccinés était de 0,75 (IC 95% = 0,47 - 1,22). Cette étude n'a pas confirmé les résultats de la Guinée-Bissau, bien que les auteurs avancent une tendance à une réduction de la mortalité qui ne serait pas apparente en raison du temps de suivi limité [7]. Une autre étude dans le même CSHRR a rapporté que la VCV était associée à un moindre risque d'hospitalisation pour maladies infectieuses [8]. Dans ces deux études danoises, on a utilisé une mesure plus précise de la VCV. En effet, le statut vaccinal a été récupéré à partir des cartes de vaccination où ces informations ont été collectées systématiquement ; constituant ainsi une force par rapport aux études de la Guinée-Bissau qui utilisaient la cicatrice comme mesure de la vaccination contre la variole.

Dans notre étude, nous n'avons pas trouvé une association entre une précédente VCV et le niveau d'AIC mesuré par le niveau de β 2m. Ce qui est potentiellement en désaccord avec les précédentes études. Un tel désaccord peut avoir plusieurs explications parmi les suivantes. L'activation immunitaire consécutive à la vaccination antivariolique a une durée limitée qui n'est pas aussi longue que la période considérée dans notre étude. Il a déjà été rapporté une baisse lente et progressive des réponses cellulaires T antivirales alors que les réponses

« anticorps » antiviraux restaient stables pendant des décennies après la vaccination contre la variole ou l'infection [85].

Les différences de mortalité observées antérieurement pourraient ne pas être liées à l'activation immunitaire mais à d'autres voies non liées à la progression de l'infection à VIH. Ceci est soutenu par le fait que les bénéfices observés chez les PVVIH sont également observés chez les personnes séronégatives [6-9]. En outre, les vaccins vivants, tels que le vaccin contre la variole et le vaccin contre la rougeole, ont des avantages à long terme sur la santé, même après la résolution de l'infection ciblée: c'est le concept d'effet non ciblé des vaccins [86]. De plus, d'autres auteurs ont retrouvé que la cicatrice de la VCV conférait une certaine protection contre d'autres affections non liées au VIH [7, 8, 87 – 94].

Généralement, l'immunogénicité des vaccins est plus faible chez les PVVIH lorsque la réplication virale n'est pas contrôlée et lorsque le nombre de lymphocytes TCD4 est inférieur à 500 cellules/ μ l et plus préférablement inférieur à 200. La protection obtenue est de courte durée et nécessite des rappels plus fréquents que chez les personnes immunocompétentes [95]. Une proportion relativement importante de notre population étudiée avait un nombre de lymphocytes TCD4 inférieur à 500 cellules/ μ l. Cela peut être soutenu par les résultats de Kan VL et al. sur les anciens combattants américains qui ont reçu deux vaccinations Dryvax avant 1991. En comparant les anticorps neutralisants contre la variole chez 20 PVVIH et 20 personnes séronégatives (selon l'âge et l'entrée dans le service militaire), ils ont trouvé des anticorps neutralisants parmi 95% des PVVIH et 100% des témoins, mais des niveaux protecteurs chez seulement 40% des PVVIH et 70% des témoins [77]. Ces proportions seraient probablement plus faibles dans notre population où 74,2% des participants ayant des cicatrices de vaccin n'avaient qu'une seule cicatrice.

Certains groupes ayant un niveau socioéconomique plus élevé pourraient avoir plus facilement accès à la vaccination en général et devraient avoir une meilleure survie. Ceci est soutenu par le fait que dans notre population étudiante, les participants ayant une cicatrice de VCV avaient plus souvent une cicatrice de BCG. Bien que le niveau d'étude et la profession n'étaient pas différents entre les deux groupes et que les estimations étaient ajustées sur ces variables, elles n'indiquent pas exactement le niveau socioéconomique au moment de la vaccination contre la variole qui s'est produite plusieurs décennies avant. Cela pourrait avoir un impact sur les mesures d'association dans notre étude ainsi que dans des études antérieures de la Guinée-Bissau.

Enfin, nous ne pouvons pas écarter un biais de publication. Il est admis que les études rapportant des résultats positifs ont plus de chance d'être publiées contrairement aux études de qualité rapportant des résultats négatifs [96, 97].

8. Conclusion

La variole est une maladie infectieuse à potentiel épidémique qui a été éradiquée en 1980. Malgré cela, le risque de résurgence demeure et les travaux sur le vaccin variolique se poursuivent. Ils permettent d'envisager l'utilisation de la VCV chez les PVVIH ; rendant intéressant l'évaluation épidémiologique de la relation entre la VCV et le VIH ; plus particulièrement son mécanisme central de progression qui est l'AIC. A la suite de plusieurs théories et études sur la VCV et la morbi-mortalité des PVVIH, nous avons étudié l'association entre une précédente VCV et le niveau d'AIC.

Dans cette étude, nous avons émis l'hypothèse selon laquelle les PVVIH naïves de TARV qui avaient été vaccinées contre la variole avaient un niveau d'AI plus faible que celles qui n'avaient pas été vaccinées. En utilisant un devis d'étude transversale, nous avons trouvé que 65,5% des PVVIH présentaient une cicatrice de VCV mais il n'y avait aucune association entre la présence de cicatrice de VCV et le niveau de $\beta2m$; ce qui est en faveur de l'absence d'un effet délétère de la VCV sur le système immunitaire de PVVIH. Dans la littérature scientifique, nous n'avons trouvé aucune étude antérieure qui ait analysé l'association entre le niveau d'AI et la vaccination antivariolique, bien que certaines études aient rapporté des avantages de la vaccination antivariolique en termes de morbidité et de mortalité dans différentes populations, y compris les PVVIH. Ces avantages sont attribués aux effets non ciblés du vaccin contre la variole dont les mécanismes sous-jacents ne sont pas totalement compris. Les résultats de notre étude suggèrent que le niveau d'AI pourrait ne pas être un déterminant important de l'effet non ciblé de la vaccination antivariolique chez les PVVIH. Cependant, des mesures plus précises des antécédents de la vaccination contre la variole telles que le taux d'anticorps après activation des cellules et un meilleur devis d'étude (étude de cohorte ou cas – témoin) permettraient de comprendre davantage la relation entre la vaccination antivariolique et l'AI chez les PVVIH.

9. Références bibliographiques :

- 1- The Independent Advisory Group on Public Health Implications of Synthetic Biology Technology Related to Smallpox, 2015
- 2- Greenberg RN, Overton ET, Haas DW, Frank I, Goldman M, von Krempelhuber A et al. Safety, immunogenicity, and surrogate markers of clinical efficacy for modified vaccinia Ankara as a smallpox vaccine in HIV-infected subjects. *J Infect Dis.* 2013 Mar 1; 207(5):749-58.
- 3- World Health Organisation. WHO Advisory Committee on Variola Virus Research: Report of the Eighteenth Meeting. Geneva, Switzerland, 2–3 November 2016
- 4- Siefkes D. The origin of HIV-1, the AIDS virus. *Med Hypotheses.* 1993 Oct;41(4):289-99.
- 5- Weinstein RS, Weinstein MM, Alibek K Inventors; Weinstein RS, Weinstein MM, Alibek K assignees. Compositions and methods for treating or preventing HIV infection. United States patent US20100189747 A1, 2010 jul 29.
- 6- Jensen ML, Dave S, Schim van der Loeff M, da Costa C, Vincent T, Leligdowicz A, et al. Vaccinia scars associated with improved survival among adults in rural Guinea-Bissau. *PLoS One.* 2006 Dec 20;1:e101.
- 7- Rieckmann A, Villumsen M, Sørup S, Haugaard LK, Ravn H, Roth A et al. Vaccinations against smallpox and tuberculosis are associated with better long-term survival: a Danish case-cohort study 1971-2010. *Int J Epidemiol.* 2017 Apr 1;46(2):695-705.
- 8- Sørup S, Villumsen M, Ravn H, Benn CS, Sørensen TIA, Aaby P et al Smallpox vaccination and all-cause infectious disease hospitalization: a Danish register-based cohort study. *Int J Epidemiol.* 2011 August 1; 40 (4):955–963

- 9- Aaby P, Gustafson P, Roth A, Rodrigues A, Fernandes M, Sodemann M, et al. Vaccinia scars associated with better survival for adults. An observational study from Guinea-Bissau. *Vaccine*. 2006 Jul 17;24(29-30):5718-25.
- 10- Crotty S, Felgner P, Davies H, Glidewell J, Villarreal L, Ahmed R. Cutting Edge: Long-Term B Cell Memory in Humans after Smallpox Vaccination. *J Immunol* 2003; 171:4969-4973.
- 11- Demkowicz WE Jr, Littaua RA, Wang J, Ennis FA. Human cytotoxic T-cell memory: long-lived responses to vaccinia virus. *J Virol*. 1996 Apr;70(4):2627-31.
- 12- Taub DD, Ershler WB, Janowski M, Artz A, Key ML, McKelvey J et al. Immunity from smallpox vaccine persists for decades: a longitudinal study. *Am J Med*. 2008 Dec;121(12):1058-64.
- 13- Miedema F, Hazenberg MD, Tesselaar K, van Baarle D, de Boer RJ, Borghans JA. Immune Activation and Collateral Damage in AIDS Pathogenesis. *Front Immunol*. 2013 Sep 26;4:298.
- 14- Study Group on Death Rates at High CD4 Count in Antiretroviral Naive Patients, Lodwick RK, Sabin CA, Porter K, Ledergerber B, van Sighem A, Cozzi-Lepri A, et al. Death rates in HIV-positive antiretroviral-naive patients with CD4 count greater than 350 cells per microL in Europe and North America: a pooled cohort observational study. *Lancet*. 2010 Jul 31;376(9738):340-5.
- 15- Phillips AN, Gazzard B, Gilson R, Easterbrook P, Johnson M, Walsh J, et al; UK Collaborative HIV Cohort Study. Rate of AIDS diseases or death in HIV-infected antiretroviral therapy-naïve individuals with high CD4 cell count. *AIDS*. 2007 Aug 20;21(13):1717-21.

- 16-Chege D, Chai Y, Huibner S, Kain T, Wachihi C, Kimani M, et al. R. Blunted IL17/IL22 and pro-inflammatory cytokine responses in the genital tract and blood of HIV-exposed, seronegative female sex workers in Kenya.
- 17- UNAIDS. AIDS by the numbers. UNAIDS, Genève, Suisse 2016. Disponible à partir de : URL : http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/AIDS-by-the-numbers-2016_en.pdf
- 18- Netea MG, van de Veerdonk FL, van Deuren M, van der Meer JW. Defects of pattern recognition: primary immunodeficiencies of the innate immune system. *Curr Opin Pharmacol.* 2011 Aug;11(4):412-22.
- 19- Organisation Mondiale de la Santé. Analyse scientifique de la recherche sur le virus variolique, 1999-2010. OMS, Décembre 2010.
- 20- Hsu DC, Sereti I. Chronic Immune Activation in HIV. *Encyclopedia of AIDS.* 2014 Sep 20 ; pp 1-10
- 21- Marchetti G, Tincati C, Silvestri G. Microbial Translocation in the pathogenesis of HIV Infection and AIDS. *Clin. Microbiol. Rev.* 2013, 26(1):2.
- 22- Paiardini M, Muller-Trutwin M. HIV-associated chronic immune activation. *Immunol Rev.* 2013; 254(1):78–101.
- 23- Psomas C, Younas M, Reynes C, Cezar R, Portalès P, Tuailon E et al. One of the immune activation profiles observed in HIV-1-infected adults with suppressed viremia is linked to metabolic syndrome: The ACTIVIH study. *Ebiomedicine.* June 2016 ; Volume 8 : Pages 265–276.
- 24- Stellbrink HJ, Baldus S, Behrens G, Bogner JR, Harrer T, Hoffmann C et al. HIV-induced immune activation - pathogenesis and clinical relevance. Summary of a workshop organised by the German AIDS Society (DAIG e.v.) and the ICH Hamburg,

Hamburg, Germany, November 22, 2008. European Journal of Medical Research. 2010. **15**:1.

- 25- Sereti I, Altfeld M. Immune activation and HIV: an enduring relationship. *Current Opinion in HIV & AIDS*: March 2016 - Volume 11 - Issue 2 - p 129–130.
- 26- Appay V, Sauce D. Immune activation and inflammation in HIV- 1 infection: causes and consequences. *The Journal of pathology*, 2008
- 27- John L, Lutwama F. A review of the use of activation markers in Africa. *J HIV Ther*. 2010 Mar;15(1):11-4.
- 28- Radkowski M, Sadowska M, Kopicz-Kamińska E, Horban A, Slusarczyk J. Coexpression of CD4 and CD8 antigens and the appearance of HLA-DR and CD25 receptors on lymphocytes as markers of immune activation in patients with HIV infection. *Pol Merkur Lekarski*. 1996 Nov;1(5):325-6.
- 29- Mahalingam M, Peakman M, Davies ET, Pozniak A, McManus TJ, Vergani D. T cell activation and disease severity in HIV infection. *Clin Exp Immunol*. 1993 Sep;93(3):337-43.
- 30- Dunham RM, Cervasi B, Brenchley JM, Albrecht H, Weintrob A, Sumpter B et al. CD127 and CD25 expression defines CD4+ T cell subsets that are differentially depleted during HIV infection. *J Immunol*. 2008 Apr 15;180(8):5582-92. (19)
- 31- Nixon DE, Landay AL. Biomarkers of immune dysfunction in HIV. *Curr Opin HIV AIDS*. 2010 November; 5(6): 498–503.
- 32- Sousa AE, Carneiro J, Meier-Schellersheim M, Grossman Z, Victorino RMM. CD4 T Cell Depletion Is Linked Directly to Immune Activation in the Pathogenesis of HIV-1 and HIV-2 but Only Indirectly to the Viral Load. *J Immunol*. 2002; 169:3400-3406.

- 33- Nyamwera S, Townend J, Zaman A, Steele SJ, Jeffries D, Rowland-Jones S, et al. Are plasma biomarkers of immune activation predictive of HIV progression: a longitudinal comparison and analyses in HIV-1 and HIV-2 infections? *PLoS One*. 2012;7(9):e44411.
- 34- Svatoňová J, Bořecká K, Adam P, Lánská V. Beta2-microglobulin as a diagnostic marker in cerebrospinal fluid: a follow-up study. *Dis Markers*. 2014;2014:495402.
- 35- Thiébaut R, Charpentier C, Damond F, Taieb A, Antoine R, Capeau J et al. Association of Soluble CD14 and Inflammatory Biomarkers with HIV- 2 Disease Progression. *Clin Infect Dis*. 2012. 55 (10): 1417-1425
- 36- Armah KA, McGinnis K, Baker J, Gibert C, Butt AA, Bryant KJ et al. HIV status burden of comorbid disease and biomarkers of inflammation, altered coagulation, and monocyte activation. *Clin Infect Dis*, 2012 Apr; 55 (1): 126-136
- 37- Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC et al. Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. *PLOS Medicine*, 2008 Oct, volume 5
- 38- Funderburg NT. Identification of immune activation profiles that may predict morbidity during Antiretroviral Therapy treated HIV infection. *Ebiomedicine*, 2016 Jun; 8: 16-17
- 39- McComsey GA, Kitch D, Sax PE, Tierney C, Jahed NC, Melbourne K et al. Associations of Inflammatory Markers With AIDS and Non-AIDS Clinical Events After Initiation of Antiretroviral Therapy: AIDS Clinical Trials Group A5224s, a Substudy of ACTG A5202. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2014 Feb 1; 65(2): 167–174

- 40- Kamat A, Misra V, Cassol E, Ancuta P, Yan Z, Li C et al. A plasma biomarker signature of immune activation in HIV patients on Antiretroviral Therapy. PLOS One, 2012
- 41- Bagalopal A, Gupte N, Shivakoti R, Cox AL, Yang W-T, Berendes S et al. Continued elevation of interleukin-18 and INF-γ after initiation of ART and clinical failure in a diverse multicountry HIV cohort. Open forum infect Dis, 2016; 3, volume 3
- 42- Ghislain M et al. Late Antiretroviral Therapy initiation is associated with long-term persistence of systemic inflammation and metabolic abnormalities : the ARNS Copana cohort. PLOS One, 2015; 10, volume 12
- 43- Neuhaus J, Jacobs DR, Baker JV, Calmy A , Duprez D, La Rosa A et al. Markers of inflammation, coagulation and renal function are elevated in adults with HIV infection. J Infect Dis, 2010; 201 (12): 1788-1795
- 44- Kalayjian RC, Machekano RN, Rizk N, Robbins GK, Gandhi RT, Rodriguez BA et al. Pretreatment Levels of Soluble Cellular Receptors and Interleukin-6 Are Associated with HIV Disease Progression in Subjects Treated with Highly Active Antiretroviral Therapy . J Infect Dis (2010) 201 (12): 1796-1805.
- 45- Hattab S, Guiguet M, Carcelain G, Fourati S, Guihot A, Autran B et al. Soluble biomarkers of immune activation and inflammation in HIV infection: impact of 2 years of effective first-line combination antiretroviral therapy. HIV Medicine (2015), 16, 553–562.
- 46- Stiksrud B, Lorvik K B, Kvale D, Mollnes TE, Ueland PM, Trøseid M et al. Plasma IP-10 Is Increased in Immunological NonResponders and Associated With Activated Regulatory T Cells and Persisting Low CD4 Counts. J Acquir Immune Defic Syndr. 2016 October 1; Volume 73(2):138–148.

- 47- Malherbe G, Steel HC, Cassol S, De Oliveira T, Seebregts CJ, Anderson R et al. Circulating Biomarkers of Immune Activation Distinguish Viral Suppression from Nonsuppression in HAART-Treated Patients with Advanced HIV-1 Subtype C Infection. *Mediators of Inflammation*. 2014.
- 48- Wada NI, Bream JH, Martínez-Maza O, Macatangay B, Galvin SR, Margolick JB et al. Inflammatory biomarkers and mortality risk among HIV-suppressed men: A multisite prospective cohort study. *Clin Infect Dis*, 2016; 63 (7): 984-990
- 49- Grome HN, Barnett L, Hagar CC, Harrison DG, Kalams SA, Koethe JR. Association of T cell and macrophage activation with arterial vascular health in HIV. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2016 Sep 14; volume 33.
- 50- Sandler NG, Wand H, Roque A, Law M, Nason MC, Nixon DE et al. Plasma Levels of Soluble CD14 Independently Predict Mortality in HIV Infection. *J Infect Dis* (2011) 203 (6): 780-790
- 51- Justice AC, Freiberg MS, Tracy R, Kuller L, Tate JP, Bidwell M et al. Does an Index Composed of Clinical Data Reflect Effects of Inflammation, Coagulation, and Monocyte Activation on Mortality Among Those Aging With HIV? *Clin Infect Dis* (2012) 54 (7): 984-994.
- 52- So-Armah KA, Tate JP, Chang C-CH, Butt AA, Gerschenson M, Gibert CL. Do Biomarkers of Inflammation, Monocyte Activation, and Altered Coagulation Explain Excess Mortality Between HIV Infected and Uninfected People?. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2016 Jun 1; 72(2): 206–213.
- 53- Bygum T, Gideon K, Janne E, Holger P, Møller J, Moestrup SK et al. Plasma Soluble CD163 Level Independently Predicts All-Cause Mortality in HIV-1-Infected Individuals. *Infect Dis* (2016) 214 (8): 1198-1204

- 54- Hunt PW. Soluble CD163 and clinical outcomes in treated HIV infection: insights into mechanisms. *J Infect Dis*. 2016; 214 (8): 1132-1133
- 55- Kiepiela P, Smith AN, Rosenberg E. Laboratory markers associated with progression of HIV infection. *Best Pract Res Clin Obstet Gynaecol*. 2005 Apr;19(2):243-54.
- 56- Piwowar EM, Tugume SB, Grant RM, Lutalo T, Pattishall K, Katongole-Mbidde E. Beta-2 Microglobulin values among human immunodeficiency virus (HIV)-negative, HIV-positive asymptomatic, and HIV-positive symptomatic Ugandans. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1995 Mar;2(2):236-7.
- 57- French MA, King MS, Tschampa JM, da Silva BA, Landay AL. Serum immune activation markers are persistently increased in patients with HIV infection after 6 years of antiretroviral therapy despite suppression of viral replication and reconstitution of CD4+ T cells. *J Infect Dis*. 2009 Oct 15;200(8):1212-5.
- 58- Amirayan-Chevillard N, Tissot-Dupont H, Obadia Y, Gallais H, Mege JL, Capo C. Highly active antiretroviral therapy (HAART) and circulating markers of immune activation: specific effect of HAART on neopterin. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000 Sep;7(5):832-4.
- 59- Anderson RE, Lang W, Shibuski S, Royce R, Jewell N, Winkelstein W Jr. Use of beta 2-microglobulin level and CD4 lymphocyte count to predict development of acquired immunodeficiency syndrome in persons with human immunodeficiency virus infection. *Arch Intern Med*. 1990 Jan;150(1):73-7.
- 60- Sidenius N, Sier CF, Ullum H, Pedersen BK, Lepri AC, Blasi F, et al. Serum level of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor is a strong and independent predictor of survival in human immunodeficiency virus infection. *Blood*. 2000 Dec 15;96(13):4091-5.

- 61- Mildvan D, Spritzler J, Grossberg SE, Fahey JL, Johnston DM, Schock BR, et al. Serum neopterin, an immune activation marker, independently predicts disease progression in advanced HIV-1 infection. *Clin Infect Dis.* 2005 Mar 15;40(6):853-8. Epub 2005 Feb 18.
- 62- Hsu DC, Sereti I. Serious Non-AIDS Events: Therapeutic Targets of Immune Activation and Chronic Inflammation in HIV Infection. *Drugs.* April 2016; 76(5): 533–549
- 63- Hunt PW. HIV and Inflammation: Mechanisms and Consequences. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2012 Jun;9(2): 139–147
- 64- Baker JV. Chronic HIV disease and activation of the coagulation system. *Thrombosis research.* 2013 Nov; 132(5) : 495-499
- 65- Crowell TA, Ganesan A, Berry SA, Deiss RG, Agan BK, Okulicz JF et al. Hospitalizations among HIV controllers and persons with medically controlled HIV in the U.S. Military HIV Natural History Study. *J Int AIDS Soc.* 2016; 19(1): 20524.
- 66- Serrano-Villar S, Perez-Elias MJ, Dronda F, Casado JL, Moreno A, Royuela A et al. Increased risk of serious non-AIDS-related events in HIV-infected subjects on antiretroviral therapy associated with a low CD4/CD8 ratio. *PloS One.* 2014; 9(1).
- 67- Mudd JC, Lederman MM. CD8 T cell persistence in treated HIV infection. *Curr Opin HIV AIDS.* 2014 Sep; 9(5): 500–505.
- 68- Bruno G, Saracino A, Monno L, Angarano G. The revival of an "old" marker: CD4/CD8 ratio. *AIDS Rev.* 2017 Feb 9; 19(2).
- 69- Thèves C, Crubézy E, Biagini P. History of Smallpox and Its Spread in Human Populations. *Microbiol Spectr.* 2016 Aug;4(4).
- 70- Babkin IV and Babkina IN. The Origin of the Variola Virus. *Viruses.* 2015 Mar; 7(3): 1100–1112.

- 71- Thèves C, Biagini P, Crubézy E. The rediscovery of smallpox. *Clin Microbiol Infect.* 2014 Mar; 20(3):210-8. doi: 10.1111/1469-0691.12536.
- 72- Breman JG, Henderson DA. Diagnosis and management of smallpox. *N Engl J Med.* 2002 Apr 25; 346(17):1300-8.
- 73- Scaramozzino N, Ferrier-Rembert A, Favier AL, Rothlisberger C, Richard S, Crance JM et al. Real-time PCR to identify variola virus or other human pathogenic orthopox viruses. *Clin Chem.* 2007 Apr; 53(4):606-13.
- 74- Henderson DA, Klepac P. Lessons from the eradication of smallpox: an interview with D. A. Henderson. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 2013 Jun 24; 368(1623)
- 75- Kennedy JS, Frey SE, Yan L, Rothman AL., Cruz J, Newman FK et al. Induction of Human T Cell-Mediated Immune Responses after Primary and Secondary Smallpox Vaccination. *J Infect Dis* (2004) 190 (7): 1286-1294.
- 76- Weinstein RS, Weinstein MM, Alibek K, Bukrinsky MI, Brichacek B. Significantly reduced CCR5-tropic HIV-1 replication in vitro in cells from subjects previously immunized with Vaccinia Virus. *BMC Immunol.* 2010 May 18;11:23.
- 77- Kan VL, Manischewitz J, King LR, Golding H. Durable neutralizing antibodies after remote smallpox vaccination among adults with and without HIV infection . *AIDS.* 2007 Feb 19; 21(4):521-4.
- 78- Edghill-Smith Y, Venzon D, Karpova T, McNally J, Nacsá J, Tsai WP et al. Modeling a safer smallpox vaccination regimen, for human immunodeficiency virus type 1-infected patients, in immunocompromised macaques. *J Infect Dis.* 2003 Oct 15;188(8):1181-91.
- 79- Redfield RR, Wright DC, James WD, Jones TS, Brown C, Burke DS. Disseminated vaccinia in a military recruit with human immunodeficiency virus (HIV) disease. *N Engl J Med.* 1987 Mar 12; 316(11):673-6.

- 80- Bartlett J, del Rio C, DeMaria A Jr, Sepkowitz KA. Smallpox vaccination and the HIV-infected patient: a roundtable. *AIDS Clin Care*. 2003 Jul; 15(7):61-3.
- 81- Amorosa VK, Isaacs SN. Separate worlds set to collide: smallpox, vaccinia virus vaccination, and human immunodeficiency virus and acquired immunodeficiency syndrome. *Clin Infect Dis*. 2003 Aug 1;37(3):426-32. Epub 2003 Jul 22.
- 82- Tasker SA, Schnepf GA, Lim M, Caraviello HE, Armstrong A, Bavaro M et al. Unintended smallpox vaccination of HIV-1-infected individuals in the United States military. *Clin Infect Dis*. 2004 May 1;38(9):1320-2.
- 83- Cosma A, Nagaraj R, Staib C, Diemer C, Wopfner F, Schätzl H et al. Evaluation of modified vaccinia virus Ankara as an alternative vaccine against smallpox in chronically HIV type 1-infected individuals undergoing HAART. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007 Jun; 23(6):782-93.
- 84- WHO International Laboratory for Biological Standards. The International Standard for beta 2 microglobulin. WHO, Medicine and Healthcare Products Regalatory Agency, 1996.
- 85- Hammarlund E, Lewis MW, Hanifin JM, Mori M, Koudelka CW, Slifka MK. Antiviral immunity following smallpox virus infection: a case-control study. *J Virol*. 2010 Dec;84(24):12754-60. doi: 10.1128/JVI.01763-10.
- 86- Muraille E. The Unspecific Side of Acquired Immunity Against Infectious Disease: Causes and Consequences. *Front Microbiol*. 2016 Jan 11;6:1525.
- 87- Gilat T, Hacohen D, Lilos P, Langman MJ. Childhood factors in ulcerative colitis and Crohn's disease. An international cooperative study. *Scan J Gastroenterol* 1987;22:1009-24.

- 88- Kurtzke JF, Hellested K, Arbuckle JD, Bronnum-Hansen H, Wallin MT, Heltberg A, et al. Multiple sclerosis in the Faroe Islands. 7. Results of a case control questionnaire with multiple controls. *Acta Neurol Scand* 1997;96:149–57.
- 89- Pfahlberg A, Køhmel KF, Grange JM, et al. Inverse association between melanoma and previous vaccinations against tuberculosis and smallpox: results of the FEBIM study. *J Invest Dermatol* 2002;119:570–5.
- 90- Kolmel KF, Grange JM, Krone B, Mastrangelo G, Rossi CR, Henz BM, et al. Prior immunisation of patients with malignant melanoma with vaccinia or BCG is associated with better survival. A European Organization for Research and Treatment of Cancer cohort study on 542 patients. *Eur J Cancer* 2005;41(1):118–25.
- 91- Bager P, Westergaard T, Rostgaard K, Nielsen NM, Melbye M, Aaby P. Smallpox vaccination and risk of atopy and asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111:1127–31.
- 92- Blom L, Nyström L, Dahlquist G. The Swedish childhood diabetes study. Vaccinations and infections as risk determinants for diabetes in childhood. *Diabetologia* 1991;34:176–81.
- 93- Classen J, Classen DC. Immunization in the first month of life may explain decline in incidence of IDDM in The Netherlands. *Autoimmunity* 1999;31:43–5.
- 94- Mayr A. Taking advantage of the positive side-effects of smallpox vaccination. *J Vet Med B Infect Dis Vet Public Health*. 2004 Jun;51(5):199-201.
- 95- Crum-Cianflone NF, Sullivan E. Vaccinations for the HIV-Infected Adult: A Review of the Current Recommendations, Part II. *Infect Dis Ther*. 2017 Aug 5.
- 96- Lynch JR, Cunningham MR, Warne WJ, Schaad DC, Wolf FM, Leopold SS. Commercially funded and United States-based research is more likely to be published; good-quality studies with negative outcomes are not. *J Bone Joint Surg Am*. 2007 May; 89 (5):1010-8.

97- Canestaro WJ, Hendrix N, Bansal A, Sullivan SD, Devine EB, Carlson JJ. Favorable and publicly funded studies are more likely to be published: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Epidemiol*. 2017 Aug 31; (17)30134-

10. Annexes

10.1. Annexe 1 : Photo 3 : Virus de la variole et varicelle-zona en microscopie électronique

Virus de la variole



Varicelle-Zona virus



10.2. Annexe 2 : Photo 4 : Cicatrice indélébile faisant suite à la vaccination contre la variole



10.3. Annexe 3: Notice d'information du participant

Présentation de l'étude

Madame, Monsieur,

On vous propose de participer à un projet de recherche qui portera sur la vaccination contre la variole (VCV) et l'activation immunitaire chronique (AIC) chez les personnes infectées par le VIH et n'ayant pas encore commencé le traitement antirétroviral. Cette étude est menée par des chercheurs appartenant à un groupe ouest africain nommé WAPHIR en collaboration avec le Service des Maladies Infectieuses et Tropicales (SMIT), le Centre de Traitement Ambulatoire (CTA) et le Centre de Promotion de la Santé (CPS) Hyacinthe Thiandoum. Votre participation est tout à fait volontaire. Vous êtes libre de refuser de participer ou de vous retirer de l'étude à n'importe quel moment sans aucune conséquence négative.

Afin de décider d'y participer en toute connaissance de cause, vous devez lire ce document. Prenez le temps de le lire attentivement (ou de vous le faire lire) et ensuite de poser toutes les questions que vous voulez à votre médecin pour bien comprendre de quoi il s'agit. Lorsque vous aurez reçu toutes les informations que vous aurez jugées nécessaires quant à la nature de l'étude, et si vous choisissez d'y participer, il vous sera demandé de dater et signer le formulaire de consentement éclairé ci-joint dont vous conserverez un exemplaire. Vous pouvez prendre quelques jours pour y réfléchir avant de nous donner votre réponse.

Pourquoi cette étude ?

Certains scientifiques suggèrent que la VCV confère une certaine protection au système immunitaire et que cette protection est longue et durable même pour les personnes vivant avec le VIH. Cette protection serait à l'origine d'une évolution plus lente de l'infection à VIH voire d'une moindre mortalité. Les études à l'origine de ces hypothèses manquaient cependant de rigueur scientifique : ce qui fait que beaucoup d'autres auteurs mettent en cause cette hypothèse. Malgré cela, aucune étude scientifique rigoureuse n'a évalué l'influence de la VCV sur la progression de l'infection à VIH notamment le niveau d'AIC qui est actuellement reconnu comme étant le meilleur marqueur de la progression de l'infection à VIH.

Objectifs de l'étude

Le but de cette étude est de déterminer si le niveau d'AIC (béta-2-microglobuline) des PVVIH précédemment vaccinées contre la variole est différente (inférieure) de celui des PVVIH non vaccinées ; mais aussi de voir si la B2M (qu'on peut facilement doser dans le sang) est un bon marqueur de l'AIC.

Vous pouvez participer à cette étude si vous remplissez les conditions suivantes:

- Vous êtes infecté par le VIH
- Vous êtes suivi en ambulatoire au moment de l'étude
- Vous n'avez jamais reçu de traitement ARV
- Vous signez le consentement éclairé

Vous ne pouvez pas participer à cette étude si vous êtes malade au moment de l'étude, si vous avez déjà reçu un traitement ARV ou si vous refusez de signer le consentement

Cette étude est une enquête qui sera proposée à toutes les PVVIH naïves et suivies en ambulatoire à Fann (CTA et SMIT) et au CPS. Toutes celles qui accepteront de participer seront incluses dans l'étude jusqu'à un effectif de 200.

Méthodes et procédures

Notre étude ne nécessitera qu'une seule visite pour chaque participant. Si vous acceptez de participer, vous devrez remplir un questionnaire qui prendra environ 15 mn et accepter un examen clinique et un prélèvement de sang d'environ une cuillérée à soupe. Tout ceci se fera en fonction de votre disponibilité.

Participation et retrait

Si vous commencez à participer à cette étude, vous avez le droit de vous en retirer à n'importe quel moment. Si vous décidez de vous en retirer, ça n'aura aucune conséquence à votre niveau. Le commanditaire de l'étude (WAPHIR) peut décider de l'arrêter à n'importe quel moment pour plusieurs raisons: inclusions insuffisantes, refus importants, problèmes affectant le bon déroulement de l'étude. Dans ce cas, l'information vous sera communiquée. Si vous

décidez de ne pas participer ou de vous retirer de l'étude, on vous proposera de nous donner les raisons de ce refus ou de ce retrait sans que vous y soyez obligé.

Risques, effets secondaires et préjudices

Les seuls préjudices relatifs à cette étude concernent le temps du remplissage du questionnaire (15 mn) et la prise de sang. Lors du prélèvement, il y a la possibilité de saignement, d'un léger malaise et des rougeurs qui disparaîtront normalement en quelques jours.

Grossesse, allaitement

Cette étude n'a aucune incidence sur la grossesse ou l'allaitement. Les femmes enceintes ou allaitantes peuvent tout à fait participer à cette étude sans aucun risque associé à la grossesse ou à l'allaitement.

Avantages potentiels

La participation à cette étude ne vous garantit aucun avantage personnel. Vous bénéficierez d'une analyse de sang (anémie, rein, foie, diabète, lipides, hépatites).

Remboursements et compensations

Vous n'aurez aucun frais à débourser pour participer à l'étude. Si vous encourez des préjudices résultant directement de votre participation à l'étude, la prise en charge requise vous sera prodiguée sans aucun frais. En signant ce formulaire, vous ne renoncez à aucun de vos droits et ne dégagez ni les investigateurs, ni les commanditaires, ni les établissements impliqués de leurs responsabilités légales et professionnelles. (Ceci sera mentionné sur la page de signature). Une compensation d'un montant de 2500 FCFA vous sera remise à l'issue de votre participation.

Diffusion des résultats

Tous les résultats seront remis à votre médecin traitant dès qu'ils seront disponibles. Tout participant qui le désire pourra avoir accès à ces résultats auprès de son médecin.

Confidentialité

Toutes les informations vous concernant seront strictement confidentielles et protégées par les règles du secret médical et professionnel. L'anonymat sera garanti dans cette étude depuis la

signature du consentement jusqu'au rendu des résultats. Les données recueillies ne portent pas la mention de votre nom, mais sont identifiées par un code (lettres, chiffres) durant toute l'étude et avant toute saisie informatique. Vous êtes le seul à pouvoir réclamer vos résultats. Sur simple demande de votre part, vous pourrez avoir accès à ces données à tout moment par l'intermédiaire du responsable de l'étude.

Contacts pour plus d'informations

Si vous avez des questions, quelles qu'elles soient, à propos de l'étude ou de son organisation ; ou en cas de préjudice veuillez contacter ***Dr Assane DIOUF au Fann Tel : 77 649 57 37.*** Pour des informations concernant vos droits en tant que participant à la recherche, veuillez contacter ***le CNERS au Ministère de la Santé et de l'Action Sociale Tel : 33 869 43 13***

10.4. Annexe 4: Formulaire de consentement éclairé

10.4.1. Formulaire de consentement éclairé 1

Titre de l'étude: Influence de la vaccination contre la variole sur le niveau d'activation immunitaire chronique des personnes vivant avec le VIH naïves de traitement antirétroviral au Sénégal.

Promoteur : West African Partnership for HIV Intervention Research (WAPHIR)

Investigateurs principaux : Dr Assane DIOUF, SMIT, CHU Fann, Tel : 00(221)776495737.

Pr Moussa SEYDI, SMIT, CHU Fann, Tel : 00(221)338691881

Dr Ndéye Fatou NGOM-GUÉYE, CTA, CHU Fann, Tel : 00(221)0338250662

Dr Daniel SARR, CPS Hyacinthe Thiandoum, Rond-Point Unité 26 Parcelles Assainies, Tel : 00(221)338353407.

- J'ai lu et compris la notice d'information qui m'a été remise.
- J'ai eu assez de temps pour réfléchir aux renseignements fournis et pour demander conseil au besoin.
- Je confirme que les termes, les notions et les techniques mentionnés dans la notice m'ont été expliqués à ma satisfaction et que j'ai reçu des réponses satisfaisantes à mes questions.
- Je comprends que tous les renseignements recueillis seront traités de façon confidentielle et que les résultats ne seront utilisés qu'à des fins scientifiques.
- Je consens à la publication des résultats de cette étude dans la mesure où les données restent anonymes ou déguisées de façon à rendre impossible l'identification des participants.
- J'ai été informé que ma participation à l'étude est volontaire et que je suis entièrement libre de refuser d'y participer ou de m'en retirer à n'importe quel moment sans aucune conséquence négative sur ma santé.
- J'ai été informé qu'en signant ce formulaire de consentement libre éclairé, je ne renonce à aucun de mes droits et ne dégage aucunement les investigateurs, les commanditaires ou les établissements de santé où se déroule l'étude de leurs responsabilités légales et professionnelles.

- Je comprends que rien ne garantit que cette étude me sera bénéfique.
 - J'ai lu ce formulaire de consentement éclairé et consens librement à participer à cette étude.
 - On m'a avisé que j'allais recevoir une copie datée et signée de ce formulaire.

Nom du participant _____ Signe _____

Signature du participant

Date

Nom du représentant légal du participant

Signature du représentant légal du participant

Date

10.4.2. Formulaire de consentement éclairé 2

Titre de l'étude: Influence de la vaccination contre la variole sur le niveau d'activation immunitaire chronique des personnes vivant avec le VIH naïves de traitement antirétroviral au Sénégal.

Promoteur: West African Partnership for HIV Intervention Research (WAPHIR)

Investigateurs principaux : Dr Assane DIOUF, SMIT, CHU Fann, Tel : 00(221)776495737.

Pr Moussa SEYDI, SMIT, CHU Fann, Tel : 00(221)338691881

Dr Ndéye Fatou NGOM-GUÉYE, CTA, CHU Fann, Tel : 00(221)0338250662

Dr Daniel SARR, CPS Hyacinthe Thiandoum, Rond-Point Unité 26 Parcelles Assainies, Tel : 00(221)338353407.

Je, _____, déclare que les avantages, les risques potentiels et les interventions associés à cette étude ont été entièrement expliqués au participant, _____, et qu'il a eu amplement le temps et l'occasion de poser toutes ses questions et de décider s'il voulait participer ou non. Je confirme que le participant semble comprendre l'explication et qu'il a donné librement son consentement à participer à l'étude. Je confirme que le volontaire peut poser des questions à n'importe quel moment dans le futur et qu'il est libre de se retirer de l'étude sans préjudice. Une copie signée de ce formulaire sera donnée au participant.

Nom de la personne qui recueille le consentement

Signature

10.5. Annexe 5: Case report Form (CRF)

FICHE D'EVALUATION CLINIQUE ET PARACLINIQUE

Critère d'inclusion

Toutes les questions doivent être répondues pour recruter le patient.

1. Le patient est naïf (n'a pas initié les ARV) Non Oui

Prénoms et nom du clinicien :

Numéro patient: VCV&AIC _____

DDN : | _____ | / | _____ | / | _____ | sinon **Age :** | _____ | ans

Sexe : Masculin Féminin Poids | | | |, | kg

Taille | _____ |, _____ | m T° | _____ |, _____ | °C PAS /PAD | _____ |, _____ | / | _____ | mm Hg

STATUT SOCIOÉCONOMIQUE

Adresse : _____

Statut matrimonial : Célibataire Marié Veuf Divorcé

□ **Profession** :

Type d'instruction : français arabe langue nationale Autre

Niveau d'instruction : non instruit primaire moyen/secondaire supérieur

INFECTION A VIH

Statut VIH : VIH 1 VIH 2 VIH 1+2

Stade OMS : Stade 1 Stade 2 Stade 3 Stade 4

ANTÉCÉDENT DE VARIOLE

Oui Non Ne sait pas

VACCINATIONS

Carnet de vaccination

Disponible : Oui Non

Si oui vaccination variole : Oui Non BCG : Oui Non

Examen cicatrices de vaccination : examinateur 1

Cicatrice de vaccination variole : Oui Non

Si oui nombre de cicatrices : _____ Diamètre plus grande cicatrice : _____ mm

Cicatrice de BCG : Oui Non

Examen cicatrices de vaccination : examinateur 2

Cicatrice de vaccination variole : Oui Non

Si oui nombre de cicatrices : _____ Diamètre plus grande cicatrice : _____ mm

Cicatrice de BCG : Oui Non

CO-MORBIDITÉS

Oui Non Si oui, préciser

CMV Diabète HTA MCV IRC

VHB VHC AVC Autre, préciser :

SUIVI CLINIQUE

Date	Suivi	Poids (kg)	Taux de CD4	CV (copies/ml)	Observance (%)

BIOLOGIE

Date de prélèvement : |____|____|____|____|____|____|

Taux d'Hb : |____|____|,|____| g/dl

Taux de Prothrombine : |____|____|____|%

Lymphocytes totaux : |____|____|____|____|

Neutrophiles : |____|____|____|____|____|/µL

Plaquettes : |____|____|____|____|____|/ml

ASAT : |____|____|____|, |____| UI/l ALAT : |____|____|____|, |____| UI/l

Créatininémie : |____|____|____|, |____| mg/l Glycémie à jeun : |____|,|____| g/l

Cholestérolémie : |____|____|____|, |____| g/l Triglycéridémie : |____|,|____| g/l

Cholestérol HDL : |____|____|____|, |____| g/l

Ag HBs : Oui Non Ac anti-VHC : Oui Non

Taux de CD4 : |____|____|____|____|/µl

ARN VIH : |____|____|____|____|____|____|____| copies/ml

Béta 2 microglobuline : |____|____|____|, |____| mg/l

BULLETIN D'ANALYSES (CRCE)

Numéro patient: VCV&AIC____ Date de prélèvement : _____

Age : |____| Sexe : Masculin Féminin

Prénom _____ et _____ nom _____ clinicien: _____

PRÉLÈVEMENTS

Tubes EDTA de 5 cc : _____ Tube sec de 5 cc : _____

HÉMATOLOGIE

Hémogramme Plaquettes

BIOCHIMIE

<input type="checkbox"/> ASAT	<input type="checkbox"/> ALAT
<input type="checkbox"/> Créatininémie	<input type="checkbox"/> Glycémie à jeun
<input type="checkbox"/> Cholestérolémie	<input type="checkbox"/> Triglycéridémie
<input type="checkbox"/> Cholestérol HDL	<input type="checkbox"/> Cholestérol LDL

IMMUNOLOGIE-VIROLOGIE

<input type="checkbox"/> Ag HBs	<input type="checkbox"/> Ac anti-VHC
<input type="checkbox"/> Taux de CD4	

BIOTHÉQUE

aliquots de plasma

BULLETIN D'ANALYSES (CV)

Numéro patient: VCV&AIC____|____|____|____|

Date de prélèvement : _____|_____|_____

Age : |____|____| Sexe : Masculin Féminin

Type VIH : VIH-1 VIH-2 VIH-1 + VIH-2

Prénom et nom clinicien:

ARN VIH

BULLETIN D'ANALYSES (Immuno)

Numéro patient: VCV&AIC____|____|____|____|

Date de prélèvement : _____|_____|_____

Age : |____|____| Sexe : Masculin Féminin

Prénom et nom clinicien:

Béta 2 microglobuline

10.6. Annexe 6: Accord comité d'éthique

REPUBLIQUE DU SENEGAL
Un Peuple - Un But - Une Foi

N° 0000096 MSAS/DPRS/CNERS

MINISTERE DE LA SANTE
ET DE L'ACTION SOCIALE

Dakar, le 29 MAY 2015

DIRECTION DE LA PLANIFICATION
DE LA RECHERCHE ET DES STATISTIQUES

NERS

SENEGAL
Comité National d'Ethique
pour la Recherche en Santé

Le Coordonnateur

AVIS ETHIQUE ET SCIENTIFIQUE

Protocole 15/20 : Activation immunitaire chronique et vaccination contre la variole chez les personnes vivant avec le VIH naïves de traitement ARV en Afrique de l'Ouest

Docteur,

Nous accusons réception de votre lettre en date du 15 avril 2015, portant réponses aux commentaires qui vous ont été adressés le 13 avril 2015. Considérant les informations, rectifications et documents reçus et consignés à la date de signature de ce document réglementaire relatifs :

- Au rajout des critères de jugement et les référentiels de performance en page 6 de la dernière version du protocole,
- Au rajout des contacts du CNERS à la notice d'information (page 23 du même protocole)
- A la production de la lettre d'acceptation de votre directrice de thèse en annexe.,

Le CNERS, satisfait de ses réponses, émet un avis éthique et scientifique favorable pour vous permettre de dérouler votre étude.

Je vous prie de croire, *Docteur*, à l'expression de ma considération distinguée et de mes encouragements renouvelés.

Docteur Assane DIOUF
Assistant Chef de Clinique
CRCF – CHUN de FANN

dradiouf@gmail.com



Ministère de la Santé et de l'Action Sociale ; Direction de la Planification, de la Recherche et des Statistiques ; Division de la Recherche ; tel 33 969 43 13 email : cns2008@live.fr; N° Assurance du CNERS : IRB002659/OHROP

REPUBLIQUE DU SENEGAL
Un Peuple – Un But – Une Foi

EN-0453
N° MSAS/DPRS/DR

MINISTÈRE DE LA SANTE
ET DE L'ACTION SOCIALE

Dakar, le 01 JUN 2015

DIRECTION DE LA PLANIFICATION
DE LA RECHERCHE ET DES STATISTIQUES

LE DIRECTEUR

AUTORISATION ADMINISTRATIVE

Protocole 15/20 : Activation immunitaire chronique et vaccination contre la variole chez les personnes vivant avec le VIH naïves de traitement ARV en Afrique de l'Ouest

Docteur,

Réf : Avis éthique et scientifique n°96/MSAS/DPRS/CNERS en date du 29 mai 2015

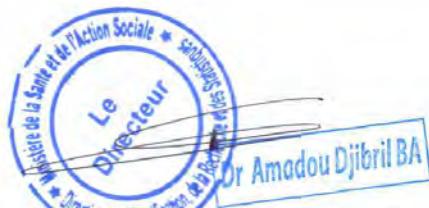
Docteur,

Sur la base de la non objection du Comité National d'Ethique pour la Recherche en Santé, je vous accorde une autorisation administrative d'une année (**mai 2015 – mai 2016**) pour vous permettre de mettre en œuvre votre étude.

Je vous prie de croire, **Docteur**, à l'assurance de ma parfaite considération et de mes encouragements renouvelés.

Docteur Assane DIOUF
Assistant Chef de Clinique
CRCF – CHUN de FANN

dradiouf@gmail.com



REPUBLIQUE DU SENEGAL
Un Peuple - Un But - Une Foi

N° 004 MSAS/DPRS/CNERS

MINISTERE DE LA SANTE
ET DE L'ACTION SOCIALE

Dakar, le 03 JAN 2017

DIRECTION DE LA PLANIFICATION
DE LA RECHERCHE ET DES STATISTIQUES



Le Coordinateur

AVIS ETHIQUE ET SCIENTIFIQUE

Objet : Demande de prolongation

Protocole 15/20 : Activation immunitaire chronique et vaccination contre la variole chez les personnes vivant avec le VIH naïves de traitement ARV en Afrique de l'Ouest

Docteur,

Nous accusons réception de votre lettre en date du 31 décembre 2016, accompagnée du rapport d'étude assez succinct de votre projet de recherche.

Prenant acte des informations incluses dans ce rapport, le comité émet un avis éthique et scientifique favorable pour vous permettre de poursuivre votre étude.

Je vous prie de croire, *Docteur*, à l'expression de ma considération distinguée et de mes encouragements renouvelés.

Docteur Assane DIOP
Assistant Chef de Clinique
CRCF - CHU de FANN

drdiopuf@gmail.com



NB/ Toutefois, il vous recommande pour de prochaines sollicitations, de bien vouloir adjointre à votre requête plus de détails par rapport à vos objectifs poursuivis afin de permettre au comité de mieux vous suivre

Résumé

Contexte de l'étude

Le risque de bioterrorisme et les développements en biologie synthétique soulèvent des inquiétudes quant à la réémergence de la variole. Cela a contribué à la poursuite de la recherche sur la vaccination antivariolique. L'impact de cette vaccination chez les personnes vivant avec le VIH (PVVIH) est particulièrement intéressant. Plusieurs études ont analysé la relation entre la vaccination antivariolique et l'infection par le VIH et certains suggèrent qu'il existe un avantage en termes de morbidité et de mortalité qui serait attribué à l'activation immunitaire. Notre objectif était d'évaluer l'association entre un antécédent de vaccination antivariolique et l'activation immunitaire dans une population de PVVIH naïves de traitement antirétroviral.

Méthodes

Nous avons mené une étude transversale au Sénégal de Juillet 2015 à Mars 2017. La VCV était mesurée par la présence d'une cicatrice de VCV et l'AI par le niveau plasmatique de β -2-microglobuline (β 2m). L'association a été analysée en utilisant des modèles de régression logistique et un modèle de régression linéaire.

Résultats

La population étudiée était constituée de 101 PVVIH nées avant 1980 avec un âge médian de 47 ans (intervalle interquartile (IIQ) = 42 – 55); 57,4% étaient des femmes. La cicatrice de VCV était présente dans 65,3% et le niveau médian de β 2m était de 2,59 mg / l (IIQ = 2,06 – 3,86). Les participants présentant une cicatrice vaccinale antivariolique avaient un âge médian

plus avancé (48 ans contre 42 ans: $p = 0,008$) et étaient plus susceptibles d'avoir également une cicatrice vaccinale BCG (71,2 vs 37,1; $p = 0,001$) que ceux sans cicatrice vaccinale antivariolique. Le niveau médian de $\beta2m$ était similaire entre les deux groupes: 2,6 mg / L contre 2,3 mg / L; $p = 0,600$. Après ajustement, la présence de cicatrice de VCV n'était pas associée à un niveau de $\beta2m \geq 2,59$ mg / l: OR ajusté = 0,98: IC 95% = 0,32 – 2,77. Ce résultat a été confirmé par le modèle de régression linéaire.

Conclusion

Notre étude n'a trouvé aucune association entre la présence de cicatrice de VCV et le niveau de $\beta2m$ et ne soutient aucune association entre une précédente VCV et la progression de l'infection à VIH. Elle indique que l'AI pourrait ne pas être un déterminant important de l'effet non ciblé de la VCV chez les PVVIH.

Mots clés

Naïf de TARV, activation immunitaire, vaccination contre la variole, Sénégal.

Abstract

Background

The risk of bioterrorism and developments in synthetic biology raise concerns about re-emergence of smallpox. This has contributed to continuing research on smallpox vaccination. Of particular interest is its impact on people living with HIV (PLHIV). Several studies analyzed the relationship between smallpox vaccination and HIV infection and some suggest there is a benefit in terms of morbidity and mortality which would be attributed to immune activation. We aimed to evaluate the association between a history of smallpox vaccination and immune activation in a population of antiretroviral therapy-naïve PLHIV.

Methods

We conducted a cross-sectional study in Senegal between July 2015 and March 2017. Smallpox vaccination was ascertained by the presence of smallpox vaccine scar and immune activation by the plasma level of beta-2-microglobulin (β 2m). The association was analysed using regression logistic models and a linear regression model.

Results

The study population was constituted by 101 PLHIV born before 1980 with a median age of 47 years (interquartile range (IQR) = 42 – 55); 57.4% were women. Smallpox vaccine scar was present in 65.3% and the median β 2m level was 2.59 mg/L (IQR = 2.06 – 3.86). The participants with smallpox vaccine scar had more advanced median age (48 years versus 42 years: $p = 0.008$) and were more likely to also have a BCG vaccine scar (71.2 vs 37.1; $p = 0.001$) than those without a smallpox vaccine scar. The median β 2m level was similar

between the two groups: 2.6 mg/L versus 2.3 mg/L; $p = 0.600$. After adjustment, the presence of smallpox vaccine scar was not associated with a $\beta2m$ level ≥ 2.59 mg/L : adjusted OR = aOR = 0.98; 95% CI = 0.32 – 2.77. This result was confirmed with the linear regression model.

Conclusion

Our study does not find any association between the presence of smallpox vaccine scar and the $\beta2m$ level and does not support any association between a previous smallpox vaccination and HIV-disease progression. It indicates that the IA might not be a significant determinant of the reported non-targeted effect of smallpox vaccination in PLHIV.

Key words

ART-naïve, immune activation, smallpox vaccination, Senegal