

ADCC :	Anti-body-Dependent Cellular Cytotoxicity
ADN :	Acide Désoxyribonucléique
ARN :	Acide Ribonucléique
ARV :	Antirétroviraux
AZT :	Azidothymidine
CD4 :	Classe de Différenciation 4
CD8 :	Classe de Différenciation 8
CDC :	Center for Disease Control
CHU :	Centre Hospitalier Universitaire
EDTA :	Ethylene Diamine Tétracétique
ELISA :	Enzyme Linked Immuno-Sorbant Assay
Env :	Enveloppe
FACS :	Fluorescence Activated Cell Sorter
FITC :	Fluorescein IsoThioCyanate
Gag :	Groupe spécifique antigène
Gp :	Glycoprotéine
HALD :	Hôpital Aristide le Dantec
HTLV-1 :	Human T leukemia Virus 1
HTLV-3 :	Human T leukemia Virus 3
HTLV-4 :	Human T leukemia Virus 4
INNRT :	Inhibiteur Non Nucléosidiques de la Reverse Transcriptase
INRT :	Inhibiteur Nucléosidiques de la Reverse Transcriptase
IP :	Inhibiteur de la Protéase
ISAARV :	Initiative Sénégalaise d'Accès aux Antirétroviraux
KD :	KiloDalton
LAV :	Lymphadenopathy AIDS Virus
LPG :	Lymphadénopathie Persistante Généralisée
LTR :	Long Terminal Repeat
NASBA :	Nucleic Acid Sequenced Base Amplification
Nef :	Negative regulator factor
NFS :	Numération Formule Sanguine
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
ONUSIDA :	Organisation de Nations Unies sur le SIDA

P :	Protéine
PBMC :	Peripheral Blood Mononuclear Cells
PCR :	Polymérase Chain Réaction
PE :	PhytoErythrine
Pol :	Polymérase
Rev :	Régulation of expression viral
RIPA :	Radio-Immunooprécipitation
RNA :	Ribonucleic Acid
Rnase H :	Ribonucléase H
RT :	Reverse Transcriptase
SIDA :	Syndrome d'Immunodéficience Aquisse
SIV :	Simium Immunodeficiency Virus
SPSS :	Statical Package for Social Sciences
Tat :	Transactvery of transcription
Vif :	Virion infectivity factor
VIH-1 :	Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 1
VIH-2 :	Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 2
Vpr :	Viral protein R
Vpu :	Viral protein U
Vpx :	Viral protein X
ZDV :	Zidovudine

LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX ET DES FIGURES

Figure 1 : Structure du VIH.....	9
Figure 2 : Organisation génomique VIH-2/VIH-1.....	11
Figure 3 : Cycle de réplication du VIH.....	14
Figure 4 : Schéma de l'évolution virologique et immunologique de l'infection à VIH.....	27
Figure 5 : Matériel d'extraction pour le Nuclisens.....	34
Figure 6 : Matériel d'amplification pour la Nuclisens.....	34
Figure 7 : Matériel pour le Facscount.....	35
Figure 8 : Résumé de la technologie Nuclisens : Extraction Boom, Amplification et détection en temps réel.....	37-40
Figure 9 : Principe de la Cytométrie en Flux.....	41
Figure 10 : Représentation de la population selon le stade clinique.....	43
Figure 11 : Représentation du traitement Antirétroviraux des patients à l'inclusion.....	44
Figure 12 : Représentation de l'évolution du poids au cours du suivi des patients.....	46
Figure 13 : Représentation de l'évolution du taux de lymphocytes TCD4+ des patients au cours du suivi.....	47
Figure 14 : Représentation de l'évolution de la charge virale des patients au cours du suivi.....	48
Tableau I : La classification de L'OMS.....	22
Tableau II : Indication du traitement antirétroviral anti-VIH.....	31
Tableau III : Les principaux antirétroviraux.....	32
Tableau IV : Caractéristique de la population selon l'âge et la sexe.....	42
Tableau V : Première ligne de traitement ARV des patients.....	43
Tableau VI : Les lymphocytes TCD4+ à l'inclusion.....	44
Tableau VII : Le poids des patients au cours du suivi.....	45
Tableau VIII : Le taux de lymphocytes TCD4+ au cours du suivi.....	46
Tableau IX : La charge virale des patients (log CV) des patients au cours du suivi.....	47

SOMMAIRE

SOMMAIRE

PAGES

INTRODUCTION	1
CHAPITRE 1 : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES	
1- Aspects épidémiologique de l'infection à VIH-2.....	3
1-1- Définition, Classification et Origine du VIH-2.....	3
1-1-1- Définition et Classification.....	3
1-1-2- Découverte et Origine du VIH-2.....	4
1-2- L'épidémie du VIH-2.....	5
1-2-1- Dans le monde.....	5
1-2-2- En Afrique.....	6
1-2-3- Au Sénégal.....	6
1-2-4- les modes de transmission du VIH-2.....	6
2- Aspects virologiques de l'infection à VIH-2.....	8
2-1- Morphologie et structure du VIH-2.....	8
2-2- Organisation génomique du VIH-2.....	9
2-3- Cycle de réplication du VIH-2.....	11
2-4- Tropisme cellulaire.....	15
2-5- Variabilité génétique.....	16
2-6- Physiopathologie de l'infection par le VIH.....	17
2-7- Réponse immunitaire à la réplication virale.....	17
2-7-1- les réactions humorales.....	17
2-7-2- les réponses cellulaires.....	18
3- Aspects cliniques de l'infection à VIH-2.....	18
3-1- Les stades évolutifs de la maladie.....	19
3-2- les affections opportunistes associées à l'infection à VIH.....	21
3-3- Classification de l'infection par le VIH	21
4- Diagnostic et suivi biologique de l'infection à VIH-2.....	22
4-1- Le diagnostic.....	22
4-1-1- Le principe du diagnostic de l'infection par VIH	22
4-1-2- L'isolement des virus.....	23
4-1-3- La sérologie.....	24
4-1-4- La détection des antigènes du VIH.....	25

4-1-5-	la détection de l'ARN et de l'ADN du VIH.....	25
4-1-6-	Remarque sur le diagnostic de l'infection par le VIH-2.....	26
4-2-	Le suivi biologique.....	26
4-2-1-	Les paramètres immuno-hématologiques.....	27
4-2-2-	Les paramètres virologiques.....	27
4-2-3-	Bilan de surveillance.....	28
5-	Traitement antirétroviral de l'infection à VIH-2.....	28
5-1-	Les objectifs du traitement.....	28
5-2-	Les moyens Thérapeutiques.....	29
5-2-1-	les inhibiteurs de la reverse transcriptase.....	29
5-2-1-1-	Les inhibiteurs nucléosidiques de la reverse transcriptase.....	30
5-2-1-2-	Les inhibiteurs non nucléosidiques de la reverse transcriptase.....	30
5-2-2-	les inhibiteurs de la protéase.....	30
5-2-3-	les inhibiteurs de la fixation du virus sur son récepteur.....	31
5-2-4-	Indication du traitement antirétroviral.....	31

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODE

1-	Cadre et population d'étude	33
2-	Matériel.....	33
2-1-	Matériel pour le Nuclisens EasyQ.....	33
2-2-	Matériel pour le Facscount.....	35
3-	méthodologie.....	35
3-1-	Charge virale par la technologie de Nuclisens EasyQ.....	35
3-2-	Numération lymphocytaire sur Facscount.....	41
3-3-	Analyse statistique.....	41

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET DISCUSSION

1-	Caractéristique de la population d'étude à l'inclusion.....	42
2-	Caractéristique de la population d'étude au cours du suivi.....	45
3-	Discussion.....	49

CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	53
--	-----------

BIBLIOGRAPHIE

INTRODUCTION

Le virus de l'immunodéficience humaine VIH-2 est le deuxième type pouvant être responsable du SIDA avec le VIH-1. Le SIDA est un ensemble de maladies qui découle d'une immunodépression profonde par une destruction progressive de lymphocytes TCD4.

L'infection par le VIH-2 concerne un faible nombre de patients et reste confiner depuis sa description en Afrique de l'Ouest. Cette zone constitue son épicode avec les plus fortes séroprévalences. Ce virus est également retrouvé en Angola au Mozambique en Afrique. En Europe, le Portugal dénombre comme la France un grand nombre de cas à cause de ses échanges historiques avec l'Afrique de l'Ouest (Ariyoshi *et al.*, 2000). Au Sénégal, L'infection par le VIH en général et par le VIH-2 en particulier est stable avec une faible prévalence inférieure à 1% d'après les données de la surveillance épidémiologique sentinelle, ou l'Enquête Démographique de Santé de 2005 (EDS).

Au début de l'avènement du VIH/SIDA dans le pays, la prévalence du VIH-2 était plus élevée que celle du VIH-1 dans les groupes sentinelles mais depuis 1994, on assiste à une inversion des tendances entre le VIH-1 et le VIH-2 (*).

Depuis le début de l'épidémie, de nombreux progrès ont été réalisés sur les plans épidémiologiques, diagnostiques et thérapeutiques. Ainsi les antirétroviraux ont considérablement amélioré la qualité de vie des patients infectés dans les pays du nord. Dans ces pays l'infection à VIH/SIDA est devenue une maladie chronique.

Dans les pays en développement, les thérapeutiques antirétrovirales ont vu le jour à la fin des années 90 et ont concernés à leur début surtout les patients infectés par le VIH-1.

Au Sénégal le traitement antirétroviral a commencé en 1998 par une initiative gouvernementale dénommée ISAARV (Initiative Sénégalaise d'accès au antirétroviraux). Dans cette initiative les sujets infectés par le VIH-2 ont pu bénéficier de cette prise en charge qu'en 2001 (Landman *et al.*, 2003).

Pour une prise en charge globale l'administration des médicaments antirétroviraux doit être suivie sur le plan biologique pour affirmer ou infirmer le succès thérapeutique. Ce suivi passe par une numération des lymphocytes TCD4+ et une détermination de la charge virale plasmatique de façon séquentielle dans le temps. Les outils nécessaires pour ce suivi font souvent défaut dans les pays en développement aussi bien pour le VIH-1 que pour le VIH-2.

Le suivi immunologique qui détermine le statut immunitaire du sujet infecté est plus accessible et la même technique est utilisée pour les deux types de virus.

*Données épidémiologiques de VIH/SIDA au Sénégal 2004/2005

Par contre pour la détermination de la charge virale plasmatique la plupart des techniques commerciales se limitent au seul virus VIH-1. Pour le VIH-2 seules des techniques dites «maison» de mesure de la charge virale existent, mais elles ont le désavantage d'être lourdes et s'effectuant dans un environnement de laboratoire généralement non disponible dans les pays Africains (Soriano *et al.* , 2000).

Avec l'évolution de la biologie moléculaire et l'arrivée de la PCR en temps réel qui a considérablement amélioré la sensibilité et la spécificité des techniques de diagnostic moléculaire, la gamme des techniques commerciales s'est largement développée. C'est ainsi qu'en 2005 Rodès *et al* ont pu montrer que le Nuclisens Easy Q des laboratoires Biomerieux arrivait à quantifier aussi le VIH-2 et a pu déceler un cas d'échec thérapeutique dû à ce virus chez un individu co-infecté par le VIH-1 et le VIH-2 (Rodès *et al.* , 2005). Avec la disponibilité de cet équipement au Sénégal en fin 2005 nous nous sommes proposé d'entreprendre ce travail pour améliorer le suivi biologique des patients infectés par le VIH-2 qui se limitait avant seulement au taux de lymphocytes TCD4+ en plus de la clinique. Ainsi, de façon séquentielle, la charge virale plasmatique est déterminée par l'utilisation de la technologie Nuclisens EasyQ des laboratoires de Biomérieux. La charge virale au démarrage du traitement : J0, Charge virale à M1 puis à M6 et tous les 6 mois seront à déterminer. Le suivi immunologique par la détermination des TCD4 est effectué est parallèle excepté à M1.

Les résultats obtenus permettront d'apprécier l'efficacité du traitement antirétroviral des patients infectés par le VIH-2.

Pour atteindre ces objectifs fixés, le présent travail sera articulé comme suit :

- une première partie de rappels d'ordre épidémiologique, virologique, clinique et thérapeutique.
- Une deuxième partie consacrée au matériel et méthodologie utilisés, aux résultats, commentaire et discussion et enfin à une conclusion et recommandations.

CHAPITRE : 1

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1- Aspects épidémiologiques de l'infection à VIH-2

1-1-Rappels

1-1-1-Définition et classification

Le monde des virus (parasites stricts de la cellule) est probablement aussi ancien que les cellules elles-mêmes. La plus part des virus proviennent d'ailleurs vraisemblablement de ces dernières, par échappement de certains gènes clés à l'intégration fonctionnelle de l'entité cellulaire (Montagnier, 1989).

Les rétrovirus ont probablement cette origine, et l'on trouve dans le génome de beaucoup d'espèces des éléments qui sont apparentés aux rétrovirus (rétro transposon), en particulier parce qu'ils codent pour l'enzyme clé des rétrovirus, la transcriptase inverse (Montagnier, 1989).

Les rétrovirus sont ainsi définis, dans leur nom même, par la présence de cette enzyme qui permet la transcription rétrograde de l'ARN en ADN, alors que le flux de l'information génétique de la cellule va habituellement de l'ADN des chromosomes aux protéines par l'intermédiaire de l'ARN messager (Montagnier, 1989).

Les VIH appartiennent à la famille des Rétrovirus (Coffin, 1992). Ces virus sont définis par leur mode de répllication qui passe par une étape de rétrotranscription de leur matériel génétique constitué de deux molécules d'ARN identiques en ADN. Cette étape indispensable à la multiplication du virus est possible grâce à une enzyme présente dans le virus : la transcriptase inverse.

Selon la dernière classification taxonomique, (Coffin *et al.* , 2003), la famille des Rétrovirus est subdivisée en sept genres :

- les Alpharetrovirus (Rétrovirus type C aviaires)
- les Betaretrovirus (Rétrovirus type B des mammifères)
- les Gammaretrovirus (Rétrovirus type C des mammifères)
- les Deltaretrovirus (BLV-HTLV)
- les Epsilonretrovirus (Rétrovirus type D)
- les Lentivirus (VIH, SIV ...)
- les Spumavirus.

1-1-2-Découverte et origine du VIH-2

En 1981, les premiers cas de SIDA sont décrits chez des homosexuels atteints de pneumocystose pulmonaire par Michael Gottlieb, à Los Angeles. En fin 1981, les premières données épidémiologiques indiquant que le SIDA était une maladie infectieuse transmissible par voie sexuelle et sanguine deviennent disponibles (*).

En 1983, Barre Sinoussi *et al* de l'équipe de Montagnier isolèrent le premier virus responsable du SIDA à partir des cellules ganglionnaires d'un homosexuel atteint de lymphadénopathie persistante et le nomment Lymphadenopathy Associated Virus (LAV). (Barre-Sinoussi *et al.* , 1983)

En 1983, l'équipe de Gallo publia l'isolement et la caractérisation du premier rétrovirus humain, Human T-cell Leukemia / Lymphoma Virus (HTLV-1) (Gallo *et al.* , 1983).

L'existence du virus de l'immunodéficience humaine type 2 (VIH-2) a été évoquée pour la première fois par les travaux de Barin *et al*, en 1985 à partir de sérum de travailleuses du sexe du Sénégal et l'ont dénommé HTLV-4 (Barin *et al.* , 1985).

Mais ce n'est qu'en 1986 que le professeur Luc Montagnier et son équipe à l'institut Pasteur, ont découvert le VIH-2 en collaboration avec les chercheurs et médecins de l'hôpital Claude Bernard (Paris) et de l'hôpital Egas Moniz (Lisbonne) (Clavel *et al.* , 1986).

En mai 1986, un comité international de nomenclature propose l'acronyme de VIH-1 pour le premier virus et VIH-2 pour le deuxième virus.

Le VIH-1 est le virus responsable de la pandémie du SIDA. Son code génétique est trop éloigné de celui du VIH-2 pour penser qu'il dérive par simple mutation (Montagnier, 1993).

De nombreuses études sur les origines du VIH ont montré des liens avec des virus simiens. La phylogénie moléculaire a montré d'évidentes transmissions de virus du singe (Peeters *et al.* , 2003). Pour le VIH-2 il s'agit du virus (SIVsm) vers l'homme du fait de leurs multiples relations de cohabitation et de parenté génétiques (Peeters *et al.* , 2003). Plusieurs études ont été effectuées pour savoir le processus de transmission des SIV vers les humains. L'évidence suggère que cela s'est passé plusieurs fois. Plusieurs VIS ont été identifiés jusqu'à ici, y compris un chez les chimpanzés (SIVcpz) qui est le plus proche du VIH-1, le virus qui s'est propagé dans le monde entier.

*Center for Disease Control, 1981

Un virus simien différent qu'on trouve chez les Sooty mangabeys monkeys (*Cercocebus atys*), les petits singes verts d'Afrique (SIVsm), est le plus proche du VIH-2, un virus qui a peu contribué à la pandémie globale en dehors de l'Afrique Occidentale (Hirsch *et al.* , 1989 ; Gao *et al.* , 1999 ; Bock *et al.* , 2001 ; Lemey *et al.* , 2002 ; Jackson *et al.* , 2004 ; Santiago *et al.*, 2005).

1-2- L'épidémie du VIH-2

1-2-1-Dans le monde

La progression de la pandémie du SIDA demeure stupéfiante lorsqu'on considère l'ensemble de la planète. On estime qu'en 2005, 38,6 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde. Les estimations établies font état de 4,1 millions de nouveaux cas d'infections et 2,8 millions de décès imputables au SIDA (*).

Les deux types de virus co-existent avec une nette prédominance pour le VIH-1. Cependant le VIH-2 demeure élevé en Afrique de l'Ouest et dans les anciennes colonies portugaises (Mozambique et Angola) (Ariyoshi *et al.* , 2000).

➤ En Amérique du Nord, Europe Occidentale et Europe central

Dans l'ensemble de ces régions, on compte à 2,0 millions le nombre de personnes qui vivent avec le VIH (*).

La présence du VIH-2 en Amérique du Nord est suffisamment rare pour que les autorités fédérales pensent qu'il est inutile, aux Etats-Unis, de tester les dons de sang contre le virus de l'immunodéficience humaine VIH-2. Cependant le VIH-2 est relativement fréquent dans la plupart des pays de l'Europe de l'Ouest (Soro *et al.* , 1993).

➤ Les Caraïbes

On constate avec regret que dans de nombreux pays des Caraïbes, l'absence d'une rigoureuse surveillance de la progression du virus nuit à une claire évaluation des récentes tendances épidémiologiques. Le VIH-2 est également fréquent dans cette région (Soro *et al.* , 1993 ; *).

➤ En Asie

Dans ce deuxième pays la plus peuplé au monde, l'organisation nationale de lutte contre le SIDA, (National AIDS Control Organisation) estimait à 5,2 millions le nombre de personne âgé de 15 à 49 ans qui vivaient avec le VIH en 2005. Des cas de diagnostics concernant le VIH-2 n'ont pas été reportés dans ces pays (*).

1-2-2-En Afrique

L'Afrique, en particulier au sud du Sahara est la région la plus touchée par le VIH / SIDA et en particulier par le VIH-2. Ce virus de l'immunodéficience humaine est répandu dans toute l'Afrique de l'Ouest, son épiceutre étant la Guinée Bissau (Soro *et al.* , 1993 ; Arioyoshi *et al.* , 2000).

Un peu plus de la moitié de la population mondiale vit en Afrique Subsaharienne soit 24,5 millions de personnes. On estime à 2,7 millions le nombre de personnes récemment infectées dans la région et à 2,0 millions celui des adultes et des enfants décédés après avoir contracté le SIDA (*).

1-2-3-Au Sénégal

Les résultats du système de surveillance de l'infection à VIH par sites sentinelles du Sénégal ont montré une épidémie de type concentré avec une circulation du VIH-1 et du VIH-2. Dans l'ensemble des sites, on note une prédominance du VIH-1 par rapport au VIH-2 avec quelques cas de double infection (Soro *et al.* , 1993)

La prévalence du VIH-2 était généralement plus élevée que celle du VIH-1 dans les groupes sentinelles. Mais depuis 1994, on observe une inversion des tendances entre VIH-1 et VIH-2 (*).

Au Sénégal, le processus épidémique repose principalement sur le commerce du sexe et le danger éventuel réside dans une rapide propagation du VIH au-delà des professionnels du sexe et de leur clientèle vers les populations moins exposées aux risques. Depuis une dizaine d'années, on constate que la prévalence du VIH se maintient à un niveau élevé parmi les professionnelles du sexe (20% à Dakar et 30% à Ziguinchor). En 2005, on estime que la prévalence nationale s'élevait à 0,9%, bien qu'une étude ait, elle, contribué à établir qu'elle atteignait près de 3% parmi la population adulte dans le sud du pays (*).

Chez les travailleuses du sexe, on note une prévalence plus élevée à Ziguinchor (29%) avec une prévalence du VIH-2 à 11% (*).

1-2-4-Les modes de transmission du VIH-2

L'infection par le virus du SIDA est une maladie transmissible mais seulement par les véhicules bien identifiés que sont le sang et les sécrétions sexuelles.

* *Données épidémiologiques de VIH/SIDA au Sénégal 2004/2005*

On distingue ainsi trois modes de transmission du VIH-2 tout comme le VIH-1 : la transmission sexuelle, la transmission sanguine et la transmission maternofoetale (Montagnier, 1993 ; Garrait *et al.* , 2000).

➤ **La transmission sexuelle**

C'est le mode de contamination le plus fréquent : 80% des infections ont été acquises lors de rapports sexuels non protégés avec un (e) partenaire contaminé (e).

Pour un rapport vaginal avec un partenaire séropositif, le risque de transmission est évalué à moins de 0,1%. Ce risque est augmenté par certains facteurs comme : partenaire avec une charge virale élevée, partenaire en phase de primo-infection, la présence de lésions génitales... (Garrait *et al.* , 2000).

La transmission par voie sexuelle est de la même efficacité pour le VIH-2 que pour le VIH-1 (Kaki, 1992 ; Soro *et al.*, 1993), mais des études ont montré que le risque de transmission sexuelle du VIH-2 est cinq fois plus bas que celui du VIH-1. Ceci s'explique par le fait que la charge virale des sécrétions cervico-vaginales est de 16% de particules HIV-2 infectantes et de 36,4% de HIV-1 infectantes (Bock *et al.* , 2001).

Il existe des données qui montrent que le risque de transmission de l'homme à la femme est plus important que dans le sens femme – homme (Griensven *et al.* , 1989).

En Amérique du Nord et en Europe, la maladie touche principalement les hommes qui ont des relations sexuelles avec d'autres hommes. (Griensven *et al.* , 1989 ; Gayle *et al.* , 2001 ; McGarrigle *et al.* , 2005)

Contrairement à l'Europe et l'Amérique du Nord, la transmission hétérosexuelle représente le mode de transmission dominant en Afrique et dans les pays tropicaux. (Griensven *et al.* , 1989 ; Montagnier, 1993 ; Jackson, 2004 ;). Cependant une étude effectuée à Dakar montre que les MSM (Men who have Sex with Men) participent fort à la transmission de la maladie. C'est ainsi qu'en 2000, ils ont dénombré 250 MSM à Dakar (Wade *et al.* , 2000).

Les contacts oraux – génitaux (fellation et cunnilingus) peuvent théoriquement transmettre le VIH s'il existe des lésions dans la bouche ou sur le sexe.

➤ **La transmission sanguine**

Elle concerne quatre groupes de populations : les toxicomanes intraveineux, les hémophiles, les transfusés, les professions médicales et paramédicales.

La contamination par échange de seringues chez les toxicomanes est le principal mode de transmission après la transmission sexuelle (Garrait *et al.* , 2000).

Ces utilisateurs de drogues par voie veineuse constituent, après les homosexuels masculins, le deuxième grand «groupe à risque» des pays Occidentaux (Etats-Unis et Europe) (Griensven *et al.* , 1989).

Par contre, en Afrique Subsaharienne, l'utilisation des drogues intraveineuses n'est pas fréquente et ce mode de transmission n'a probablement pas contribué énormément à la propagation du VIH (Jackson, 2004).

La transmission accidentelle par inoculation chez le personnel soignant en cas d'accident d'exposition au sang est estimée à 0,3%. Des cas exceptionnels de contamination de patients par des professionnels de santé porteurs du VIH (chirurgien et dentiste) ont également été rapportés (Garrait *et al.* , 2000)

➤ **La transmission maternofoetale**

La transmission a lieu essentiellement dans la période périnatale. Le risque de transmission par allaitement maternel est estimé à 10%. Le risque de transmission maternofoetale augmente si la mère est à un stade avancé de l'infection, si le taux de lymphocytes CD4 est faible, si la charge virale plasmatique est élevée (Montagnier, 1993 ; Garrait *et al.* , 2000 ; Gayle *et al.* , 2001).

Une étude en Afrique de l'Ouest démontre que la transmission du VIH-2 de la mère à son enfant est possible mais rare (Silva *et al.* , 1998).

Une étude montre que cette transmission existe mais est plus faible que celle du VIH-1 (Silva *et al.* , 1998).

Il a été démontré que l'administration de la Zidovudine (ZDV / AZT) peut éviter la transmission maternofoetale (Bardeguez *et al.* , 2003) et peut réduire jusqu'à 68% de la transmission mère enfant (Gayle *et al.* , 2001).

2- La particule virale (VIH-2)

2-1-Morphologie et Structure du VIH-2(Figure 1)

Il s'agit de virus enveloppés, se formant par bourgeonnement à la surface des cellules. En microscopie électronique, il se présente schématiquement sous la forme de particule de 80 à 120 nanomètres de diamètre avec un core excentré et une enveloppe avec des spicules. Ce core central est formé de deux molécules d'ARN simple brin et de trois protéines : une protéine interne majeur (p26), une protéine plus interne (p12) associée à l'ARN et qui est souvent subdivisée en deux sous unités (p7 et p9) et une protéine plus externe appelée protéine de membrane ou de matrix (p16), à laquelle est associée une enzyme virale : la protéase. Par ailleurs, le core viral contient des molécules de transcriptase inverse (RT) et d'intégrase (Brun-Vezinet *et al.* , 2000).

Autour de cette nucléocapside se trouve l'enveloppe virale, formée d'une double couche lipidique d'origine cellulaire et deux glycoprotéines virales (gp). La glycoprotéine transmembranaire (gp36) traverse la double couche lipidique ; elle est attachée par des liaisons faibles non covalentes à la glycoprotéine d'enveloppe externe (gp 140), qui fait saillie à la surface du virus sous forme de spicules (Alizon *et al.* , 1989 ; Montagnier, 1989 ; Brun-Vezinet *et al.* , 2000).

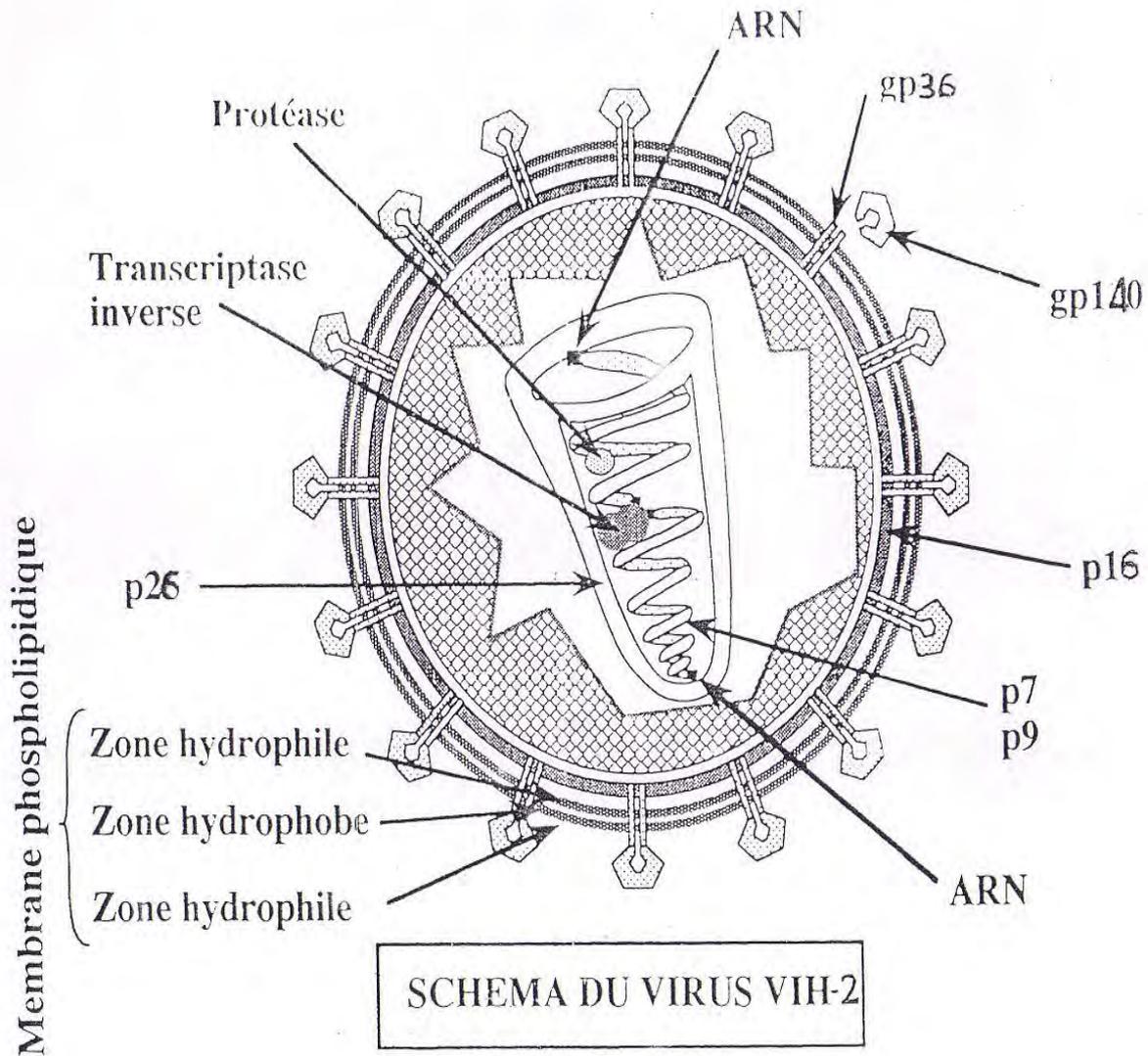


Figure 1 : Structure du VIH-2 (Brun-Vezinet *et al.* , 2000)

2-2-Organisation génomique du VIH-2

L'organisation génétique des virus VIH-1 et VIH-2 est plus complexe que tout autre virus animal (Franchini *et al.* , 1989).

Le génome rétroviral est constitué de deux molécules d'ARN simple brin de même polarité que les ARN messager soit (+). Cet ARN compte plus de 9700 nucléotides. Ces ARN, associés de

façon non covalente peuvent tous deux servir de matrice pour la synthèse de la forme d'ADN du génome rétroviral, effectuée par les enzymes virales : ADN polymérase, ARN dépendante ou transcriptase inverse et ribonucléase H. Une partie de cet ADN viral peut, après migration dans le noyau, être intégrée dans le génome de la cellule hôte par une activité endonucléasique, également contenue dans les particules virales. C'est cette forme intégrée du génome viral que l'on appelle provirus (Alizon, 1989).

A chaque extrémité, le provirus présente des répétitions terminales de certaines séquences, appelées en anglais « Long Terminal Repeat » qui ont un rôle capital dans l'intégration et le contrôle de la transcription des gènes du provirus. Les LTR sont composés de trois régions : U3, R et U5, R étant présent à chaque extrémité des deux copies d'ARN dans le virus.

On distingue comme chez tous les rétrovirus :

➤ **Des gènes de structure**

Ils codent pour les protéines de structure du virus et pour les protéines enzymatiques. De 5' à 3' nous avons :

- **le gène *gag***, codant pour les protéines internes, protéine de capsid ou de core dont p16 et p26
- **le gène *pol***, codant pour les enzymes de réplication que sont : la protéase, Reverse Transcriptase et intégrase
- **le gène *env***, codant pour les glycoprotéines d'enveloppe dont gp140, gp105-110 et gp36

Les gènes *gag* et *pol* ne présentent pas de particularités majeures par rapport aux gènes homologues d'autres rétrovirus.

➤ **Des gènes régulateurs** ;

Ils codent pour des protéines qui régulent la réplication virale dans les cellules infectées où on les trouve. Ils sont responsables de la complexité de l'organisme génétique du VIH. On peut citer :

- **le gène *tat*** pour « transactivateur », amplifie la synthèse de toutes les protéines virales de structure et de régulation.
- **le gène *vif*** pour « viral infectivity factor ». Il produit une protéine de 23 KD qui aurait un rôle structural, comme stabilisation des particules virales, ou qui permettrait leur pénétration dans la cellule.
- **le gène *nef*** pour « negative expression factor » est une protéine de 27 KD qui peut être impliquée dans une régulation négative de l'expression du virus. La destruction du gène *nef* dans un clone infectieux s'accompagnait d'une augmentation de la cytopathogénicité in vitro du virus produit. L'existence de protéines virales codées par les gènes ***vpr*** (viral protéin r) et ***vpu***, de VIH-1 a été indirectement démontrée par leur immunogénicité : on a pu détecter des

anticorps sériques anti-vpr et vpu, en utilisant comme antigène ces polypeptides fabriqués par des vecteurs d'expression. Le produit du gène *vpx* de VIH-2 (p16) et SIV (p14) a, de plus, pu être directement identifié comme une protéine de 14 à 16 KD et est associé aux virus matures. (Alizon *et al.* , 1989 ; Franchini *et al.* , 1989 ; Montagnier, 1989 ; Kanki, 1992) (Figure 2)

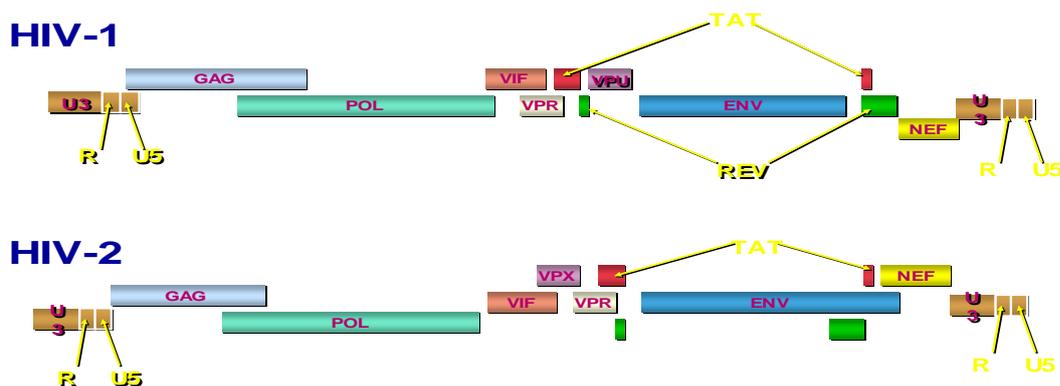


Figure 2 : Organisation génomique VIH-2/VIH-1 (Alizon *et al.*, 1989)

2-3- Cycle de réplication du VIH-2 (figure 3)

Ce cycle de réplication comporte différentes parties :

➤ Adsorption et pénétration :

Les virus sont adsorbés sur les récepteurs cellulaires qui sont généralement spécifiques.

De la même manière, HIV-1 et HIV-2 ont un tropisme particulier vers les lymphocytes T à CD4 qui est le récepteur spécifique pour ces virus (Kanki, 1992 ; Bock *et al.* , 2001 ; Osterhaus, 2004).

La pénétration se fait par fusion directe entre la membrane virale et la membrane plasmique et libération du « core » dans le cytoplasme. Il y a d'abord attachement à son récepteur spécifique, la molécule CD4, par l'intermédiaire de sa glycoprotéine d'enveloppe externe, la gp160. Il y a une interaction entre la glycoprotéine d'enveloppe externe et le corécepteur, fusion de l'enveloppe virale avec la membrane de la cellule, et l'entrée du VIH dans la cellule hôte (Montagnier, 1989).

Les virus de l'immunodéficience humaine utilisent un ensemble de corécepteurs. La plupart des souches virales utilise le corécepteur de chimiokine CCR5. Or la densité en CCR5 à la surface des cellules TCD4+ varie grandement d'un individu à l'autre mais est constante dans le temps

pour un individu donné (Corbeau, 2006). Cependant, une différence de cytopathogénicité a été évoquée en relation avec une utilisation de ces corécepteurs. Il a été démontré que le VIH-1, en plus des corécepteurs usuels avec le VIH-2 que sont CCR5 et CXCR4, est capable d'utiliser d'autres corécepteurs comme : CCR1, CCR2b, CCR3, CCR8, V28, BOB, CPR15... Cependant le VIH-2 utilise fréquemment le CCR5 ou le CXCR4. Cela se traduit par une diminution du nombre de virus infectés et par conséquent, les patients infectés par le VIH-2 peuvent vivre longtemps sans présenter la maladie du SIDA par leur taux de charge virale faible dans le plasma. (Kanki, 1992 ; Bock *et al.* , 2001 ; Mörner *et al.* , 2002 ; Blaak *et al.* , 2004 ;)

➤ **Synthèse du provirus** :

La transcriptase inverse présente dans les virions commence à fonctionner aussitôt (dans les heures qui suivent la pénétration) pour synthétiser d'abord une copie d'ADN complémentaire par l'intermédiaire de la RT (Reverse Transcriptase), puis après, élimination des matrices d'ARN par l'activité RNase H associée à la transcriptase. Cette RNase dégrade spécifiquement l'ARN hybridé à l'ADN. Ensuite, la RT synthétise un second brin d'ADN par une activité polymérisique, formant ainsi un ADN double chaîne linéaire.

Ces deux étapes sont génératrices de mutations, l'enzyme n'étant pas d'une très haute fidélité (une erreur de nucléotides sur 10^4 , comparé à une sur 10^9 pour les polymérases cellulaires). La diploïdie du virus (deux génomes d'ARN servant de matrice) permet un taux élevé de recombinaison génétique. Cependant, le saut possible de l'enzyme d'une molécule à l'autre (« copy choice ») peut en même temps limiter le rôle des cassures de l'ARN matrice et des erreurs de l'enzyme.

Bien que des copies linéaires d'ADN proviral puissent persister dans le cytoplasme, un certain nombre sont circularisées dans le noyau, ce qui est favorisé par la présence de courtes séquences répétées inversées à l'extrémité de chaque LTR (Montagnier, 1989).

➤ **Intégration** :

L'intégration de l'ADN viral circulaire dans l'ADN cellulaire complète la phase précoce de l'infection.

Elle est facilitée par l'état de répllication de l'ADN cellulaire, ce qui explique que l'établissement de l'infection rétrovirale nécessite une multiplication cellulaire, ou tout au moins un état d'activation permettant la synthèse d'ADN (Montagnier, 1989).

➤ **Transcription et traduction** :

Une fois intégré, l'ADN proviral dépend pour son expression d'une enzyme cellulaire (RNA polymérase DNA dépendante de type II) et des mêmes mécanismes de régulation que les gènes cellulaires. Il peut donc ne pas être transcrit et rester silencieux pendant une période plus ou

moins longue, ou n' être exprimé que dans certaines phases de l'activation et de la multiplication des cellules (Montagnier, 1989).

La transcription s'effectue à partir d'un promoteur unique, situé dans la région U3 de la LTR gauche (5'). Cette transcription dépendant de l'ARN polymérase II cellulaire nécessite une activation du promoteur par les facteurs de transcription cellulaire pour que la transcription puisse être initiée. Ce facteur de transcription est pour le HIV-1 le NF-KB et pour le HIV-2, c'est le CD3R/PuB1. Il a été aussi démontré la présence de facteur de transcription chez les HIV-2 et SIV. Cette molécule non présente chez les HIV-1 capable d'activer les monocytes et non les lymphocytes t est le peri-KB (Bock *et al.* , 2001 ; Freed *et al.* , 2004).

Il y a donc production de transcrits primaire équivalents des messagers précoces qui vont donner les protéines de régulation que sont : *Tat*, *Rev* et *Nef*. Ces dernières retournent dans le noyau, vont amplifier la production des différents messagers viraux, de l'ARN génomique et favoriser l'expression des protéines dites tardives que sont : *Gag*, *Pol*, *Vif*, *Vpr* et *Env* (Montagnier, 1989).

Les ARN messagers viraux sont alors traduits dans le cytoplasme en protéines virales grâce à la machinerie cellulaire. La synthèse des protéines d'enveloppe dépend d'un ARN messenger spécifique épissé, ne comportant pas les séquences *Gag* et *Pol*. Le précurseur protéique subit un processus complexe de glycosylation, analogue à celui des glycoprotéines cellulaires (première et deuxième glycosylation), pour être finalement clivé par une protéase cellulaire au moment de la maturation des virions en protéine externe transmembranaire (Montagnier, 1989).

➤ **Encapsidation et morphogénèse :**

La formation de la nucléocapside hélicoïdale à partir de deux molécules d'ARN et de la protéine basique du *Gag* est suivie de la constitution du « core » ou nucléoïde. L'interaction entre le « core » et la membrane plasmique où sont insérées les glycoprotéines virales induit probablement la formation de bourgeon viral. Après assemblage, les virus sortent de la cellule par bourgeonnement, sous une forme immature sous l'activation des protéines *vpx* et *vif*. La maturation extracellulaire est liée à l'action de la protéase virale (Montagnier, 1989).

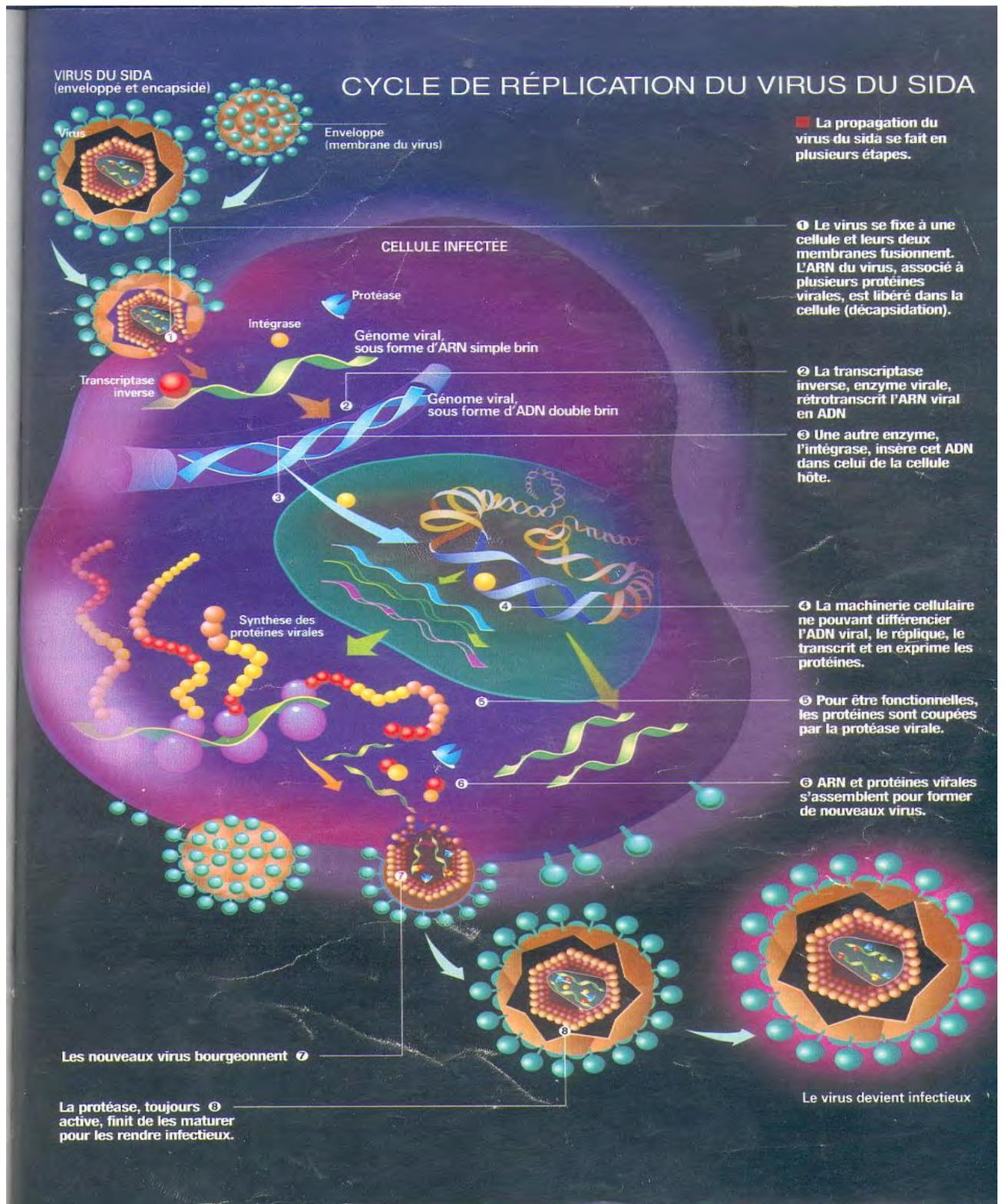


Figure 3 : Cycle de réplication du VIH (Girard *et al.*, 2004)

2-4- Le tropisme cellulaire

Chaque virus a un organe ou un tissu dans lequel il se réplique préférentiellement. Cette propriété, ou tropisme viral, est le plus souvent contrôlé par l'interaction d'un récepteur cellulaire avec une protéine de l'enveloppe virale.

En ce qui concerne le VIH-1, une série d'expérience a amené à identifier comme récepteur de ce virus la molécule CD4. Et la molécule CD4 est également le récepteur du VIH-2. C'est cette notion de spécificité entre protéine virale et la molécule CD4 qui détermine un tropisme de ces virus vers les cellules comportant cette molécule CD4. On peut citer :

➤ **Les lymphocytes TCD4+ :**

La diminution sélective du nombre des lymphocytes CD4+ circulant chez les patients infectés par le VIH, qui contraste avec la présence d'un nombre sensiblement normal de lymphocyte CD8+, suggère d'emblée un tropisme préférentiel du VIH pour les lymphocytes CD4. Cependant, l'expression de la molécule CD4 chez l'Homme n'est pas restreinte aux seuls lymphocytes T. Différentes études histologiques ont ensuite démontré que d'autres cellules que les lymphocytes CD4+ pourraient être infectés par le VIH (Klatzmann, 1989).

➤ **Les cellules de la lignée monocytes-macrophages :**

Ces cellules comprennent essentiellement les monocytes circulants, les cellules microgliales du cerveau, les cellules de Küpfer dans le foie ainsi que les macrophages résidant dans les différents organes ou tissu, expriment toutes la molécule CD4 à leur surface.

L'un des rôles physiologiques des monocytes-macrophages consiste à éliminer les agents étrangers de l'organisme. Elles forment un complexe immunoglobuline-agent infectieux qui sera internalisé dans un phagosome, où il va être ensuite dégradé. Pour certains virus au contraire, cette opsonisation peut favoriser l'infection. Dans le cadre de l'infection par le VIH, bien qu'il soit clairement démontré que l'infection des cellules monocytaires-macrophagiques CD4+ utilisent la molécule CD4 comme récepteur du VIH de façon identique aux lymphocytes CD4+, la présence du récepteur pour le fragment Fc des immunoglobulines pourrait favoriser l'infection de ces cellules en amenant à leur membrane ces complexes virus-anticorps ; le VIH serait ainsi amené au contact de son récepteur et pourrait pénétrer dans la cellule en évitant les voies habituelles de dégradation.

Il semble d'ailleurs que les monocytes-macrophages tolèrent mieux la réplication du VIH et soient moins susceptibles que les lymphocytes à la mort cellulaire induite par la réplication du virus. Ces observations ont fait suggérer par certains auteurs que ces cellules monocytes-macrophages pourraient être le principal réservoir du VIH dans l'organisme (Klatzmann, 1989).

➤ **Les cellules folliculaires dendritiques des ganglions :**

L'origine de ces cellules qui peuplent les centres germinatifs des ganglions fait encore l'objet de controverses. Certains rattachent ces cellules à la lignée des monocytes macrophages, d'autres leur donnent une origine fibroblastique. Ces cellules expriment la molécule CD4 à leur surface ainsi qu'un récepteur pour le complément. Leur rôle essentiel est de filtrer les complexes immuns antigènes-anticorps arrivant dans les ganglions (Klatzmann, 1989).

➤ **Les autres cellules présentatrices de l'antigène :**

Ce sont des cellules originaires des précurseurs hématopoïétiques de la moelle osseuse, distinctes des cellules de la lignée macrophagique. Elles expriment un nombre important de molécules de classe II du complexe majeur d'histocompatibilité à leur surface, ainsi que la molécule CD4. Contrairement aux monocytes-macrophages, ces cellules pourraient être sensibles aux effets cytopathogènes de la réplication du VIH et l'on observe d'ailleurs une disparition importante des cellules de Langerhans de l'épiderme au cours de l'évolution de l'infection par le VIH. (Klatzmann, 1989)

2-5- La variabilité génétique

Les VIH ont une capacité extraordinaire à s'adapter aux agents de leur milieu. De ce fait, ils sont en permanente mutation ; et pour tenir compte de ces variations, ils ont été classés en groupes et en sous groupes. Il est désormais parfaitement établi que plusieurs événements de transmission inter espèces sont à l'origine des VIH-1 des groupes M, N et O et du VIH-2 des sous groupes de A à G (Barin, 2006).

Au sein du VIH-1, trois groupes ont été définis : M, N et O. Le groupe M pour majeur a largement diffusé dans le monde et est responsable de la pandémie du SIDA. Depuis son émergence dans l'espèce humaine aux environs de 1930, le VIH-1 du groupe M s'est diversifié en neuf sous types purs : de A à D, F à H et K (Ckoiy *et al.* , 2003 ; Peeters *et al.* , 2003 ; Barin, 2006 ;) et au moins 34 formes recombinantes circulantes (CRF01 à CRF34) (Butler *et al.* , 2007). La diversité génétique du VIH-2 est moins large que celle du VIH-1. Cependant huit sous groupes ont été décrits : de A à H dont les sous groupes A et B sont prédominants. (Dieng-Sarr *et al.* , 2000 ; Peeters *et al.* , 2003) Le sous groupe A est plus fréquent en Afrique de l'Ouest (Sénégal et Guinée Bissau) et en Portugal (Soriano *et al.* , 2000) et le sous groupe B en Côte d'Ivoire. Les autres sous groupes ont été décrits dans un faible nombre de patients. Cependant le sous groupe G a été isolé chez des donneurs de sang en Cote d'Ivoire et les sous groupes C, D, E et F isolés chez des patients en Sierra Léone et en Libéria (Peeters *et al.* , 2003).

2-6- Physiopathologie de l'infection par VIH :

Le VIH s'attaque à tous les aspects de la réponse immunitaire. Il est donc logique de penser que le grand déficit immunitaire observé chez les patients infectés par le VIH résulte directement des effets du virus sur le système immunitaire.

L'infection par le VIH n'est donc pas une maladie du lymphocyte CD4, ni une maladie du monocyte-macrophage ou de toute autre cellules CD4+, c'est bien une maladie du système immunitaire tout entier. L'évolution de l'infection par le VIH semble dépendre d'un délicat équilibre entre la latence de l'infection dans certaines cellules et la réplication dans d'autres.

La compréhension plus précise de la physiopathologie de l'infection par le VIH viendra d'une meilleure connaissance des interactions entre le virus et son hôte (Klatzmann, 1989).

2-7- Réponse immunitaire à la réplication virale

La réponse immune permet habituellement à l'organisme de se protéger contre les agents pathogènes. Deux types de réactions aboutissent généralement à la guérison et à la prévention d'une éventuelle réinfection. Elles sont ainsi principalement mises en jeu au cours des infections virales : il s'agit des réponses immunes à médiation cellulaire, essentiellement assurées par les lymphocytes T, et de la réponse anticorps qui dépend des lymphocytes B.

En fonction de la phase de son cycle réplicatif, un virus qui a pénétré dans l'organisme peut se trouver à l'état de particule libre dans les humeurs, principalement le sang, ou bien à l'intérieur de sa cellule cible. Les mécanismes immunologiques efficaces de défense varient donc en fonction de cette phase (Gluckman, 1989).

2-7-1- Les réactions humorales

Les anticorps agissent surtout sur les virus extra-cellulaires. Les anticorps peuvent jouer un rôle protecteur important au cours de l'infection virale. Ils sont produits en réponse à différents types d'antigènes viraux mais seuls ceux qui reconnaissent certains épitopes, dits critiques, à la surface du virus sont susceptibles d'avoir un rôle neutralisant, c'est-à-dire d'inactiver in vitro l'infectivité virale en l'absence de tout autre facteur. Les anticorps neutralisant peuvent ainsi surtout interférer avec l'attachement du virus sur sa cible. Ils peuvent aussi bloquer sa pénétration, la libération intracytoplasmique de son matériel génétique, ou bien en toute autre phase ultérieure du cycle infectieux viral. L'infectivité d'un virus peut aussi être bloquée en présence de complément, par des anticorps qui ne sont pas neutralisants eux-mêmes mais qui induisent la lyse virale, ou bien la phagocytose des particules opsonisées dans ces conditions.

De tels mécanismes peuvent être aussi à l'origine d'une lyse de cellules infectées (Gluckman, 1989).

Enfin, des anticorps spécifiquement complexés à leurs antigènes peuvent se fixer sur le récepteur Fc de certaines cellules lymphoïdes ou des macrophases. Ainsi armées, ces cellules peuvent lyser des cibles porteuses de virus. Nul ne sait encore s'il existe, ou quelle serait la spécificité des anticorps réellement protecteurs contre le VIH. Cependant, on peut citer :

- Les anticorps dirigés contre les produits du gène *gag*
- Les anticorps dirigés contre la transcriptase inverse
- Les anticorps dirigés contre les glycoprotéines d'enveloppe
- Les anticorps neutralisants (Gluckman, 1989).

2-7-2- Les réponses cellulaires :

L'existence d'une réponse d'immunité à médiation cellulaire contre le VIH a pu être clairement démontrée (Klatzmann, 1989). Plusieurs équipes ont pu générer des lignées cellulaires ou même des clones de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques des protéines du VIH et ayant une cytotoxicité restreinte par les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité (Klatzmann, 1989).

Ces lymphocytes T cytotoxiques se caractérisent opérationnellement par les propriétés suivantes :

- elles ont une spécificité antigénique fine ;
- leur activité est restreinte par le complexe majeur d'histocompatibilité ;
- leur réponse n'est détectable in vitro qu'après exposition à l'antigène.

Les cellules tueuses naturelles à eux, lysent spontanément un large spectre de cibles tumorales ainsi que des cellules infectées par un virus. Elles appartiennent à une population particulière de cellules lymphoïdes qui seraient aussi les effecteurs du phénomène ADCC (« anti-body-dependent cellular cytotoxicity ») (Klatzmann, 1989).

3- Aspects cliniques de l'infection à VIH-2

Ce chapitre aborde la question de l'infection par le VIH et le SIDA dès l'infection initiale et le développement de l'infection aiguë par le VIH, en passant par la période souvent longue de l'infection asymptomatique et le développement progressif du SIDA (Jackson, 2004).

3-1- Les stades évolutifs de la maladie :

L'histoire naturelle de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) commence lorsque ce virus pénètre dans un organisme humain. L'infestation se fait habituellement par voie sexuelle. Dans ce cas, le virus va être stocké dans les cellules de Langerhans de la peau ou des muqueuses, avant de gagner secondairement les macrophages et les lymphocytes qui sont les cellules cibles préférentielles. En cas de pénétration par voie sanguine, les macrophages sont infectés directement. Effectivement, si l'on excepte la colonisation de certaines cellules cérébrales et des cellules précurseurs des lignées médullaires, c'est la destruction progressive de lymphocytes auxiliaires qui va déterminer l'apparition de manifestations cliniques (Coulaud *et al.* , 1989).

On distingue tout comme pour le VIH-1 et le VIH-2 quatre stades de l'infection et de la maladie :

➤ **La phase aiguë initiale de l'infection :** (primo-infection)

Le compte CD4 normal de 500 à 1200 cellules par ml subit une baisse provisoire et revient habituellement aux niveaux presque normaux dans un délai de deux à six semaines et la charge virale inférieure à 1000 copies par ml (Jackson, 2004).

Celle-ci est habituellement latente mais, dans à peu près 10% des cas, des manifestations cliniques peuvent être observées, deux à six semaines après la contamination. A ce stade, les tests ELISA sont négatifs ou douteux et les tests de western blot ne détectent habituellement que des anticorps dirigés contre les protéines du core avant que n'apparaissent ultérieurement les anticorps contre les protéines d'enveloppe nécessaires au diagnostic de certitude. En principe, les anticorps marqueurs de l'infection resteront présents tout au long de l'évolution pour ne plus disparaître que lors du stade ultime de SIDA avéré (Coulaud *et al.*, 1989).

➤ **Le niveau de base de l'infection :** (séroposivité asymptomatique)

Le compte CD4 est au dessus de 500 cellules par ml et la charge virale de 1000 à 100 milles copies par ml de VIH (Jackson, 2004).

Par ailleurs, 50% de ces sujets séropositifs ont, de façon stable ou intermittente, une recherche positive de virus à partir de leurs lymphocytes circulants (Coulaud *et al.* , 1989).

Comparé au VIH-1, l'infection par le VIH-2 se caractérise par : une phase asymptomatique plus longue, une faible charge virale, une diminution modérée du taux de CD4+ et un faible taux de mortalité (Zheng *et al.* , 2004).

Une étude effectuée en France indique que des donneurs de sang infectés par le VIH-2 ainsi que les receveurs peuvent vivre 14-16 ans sans signe d'immunodépression et deux sur trois des

patients HIV-2 séropositives peuvent vivre de façon stable après un diagnostic de SIDA (Kanki, 1992).

La période entre l'infection et le développement de la maladie plus longue pour le VIH-2 que pour le VIH-1 est due par une faible charge virale chez les patients infectés par le VIH-2 (Bock *et al.*, 2001).

➤ **Le début de la maladie liée au VIH :** (lymphadénopathie persistante généralisée)

Le compte CD4 de 200 à 500 cellules par ml, environ une cellule de CD4 sur 1000 est infectée, et la charge virale est inférieure à 100 milles copies par ml. (Jackson, 2004)

La définition de ce stade comporte obligatoirement la présence d'adénopathies périphériques dans deux aires ganglionnaires autre que l'aire inguinale. Ce stade survient chez la moitié des sujets séropositifs depuis plus de 30 mois, quelque soit leur origine ethnique ou leur mode d'infestation (Coulaud *et al.*, 1989).

➤ **Définition du SIDA :**

Le compte CD4 est inférieur à 200 cellules par ml ; près de 10% des cellules CD4 dans le sang sont infectés ; charge virale supérieur à 100 milles copies par ml (Jackson, 2004).

Ce stade correspond à une atteinte de l'état générale qui va se traduire par ce qu'il est convenu d'appeler « les symptômes constitutionnels ». C'est le stade de la grande dépression lymphocytaire qui favorise le développement des infections opportunistes et des processus tumoraux (Coulaud *et al.*, 1989).

Une étude menée sur des travailleuses du sexe à Dakar indique que la charge virale médiane est de 30 fois plus faible chez les HIV-2 par rapport au HIV-1. Cela pourrait amener à dire que la différence de pathogénicité entre ces deux virus est liée à la différence de leur charge virale (Popper *et al.*, 1999).

En effet, pour des stades cliniques équivalents, la charge virale plasmatique VIH-2 est significativement plus basse que celle observée lors de l'infection à VIH-1, mais les taux d'ADN total VIH-1 et VIH-2 sont similaires dans les PBMC de patients infectés (Gueudin *et al.*, 2006).

Cette différence de pathogénicité se manifeste sur le taux de mortalité induit par ces deux virus sur deux communautés différentes. Le taux de mortalité chez les infectés par le VIH-1 est dix fois plus élevé (Ariyoshi *et al.*, 2000).

L'évidence suggère que la plupart des personnes infectées par le VIH développent par la suite le SIDA, mais il est possible que certains y échappent.

On estime qu'un petit nombre de personnes séropositifs, environ 5%, on vécu 10-15 ans sans aucune signe de la maladie du VIH, et avec un compte CD4 normal. La profession médicale les

appelle des non-progresseurs à long terme. Ils peuvent avoir des souches faibles du virus, un système immunitaire particulièrement résistant, ou les deux. Un petit nombre semble également être génétiquement résistant au VIH parce qu'ils ont un défaut dans les récepteurs chimiques spécifiques nécessaires pour que le VIH puisse s'accrocher aux CD4 et aux autres cellules (Jackson, 2004).

3-2- Les affections opportunistes associées à l'infection à VIH :

L'infection par le VIH devient de plus en plus une maladie chronique et prend des formes plus ou moins sévères. Elle se traduit par l'apparition d'infections sévères causées par des microbes dits opportunistes ainsi que de certaines variétés de cancers comme le Sarcome de Kaposi. D'autres manifestations en particulier neurologiques peuvent faire partie aussi du tableau clinique (Jackson, 2004).

Les infections opportunistes ont en commun d'être dues à des micro-organismes à développement intracellulaire incapables d'entraîner un processus pathogène sévère chez un sujet immunocompétent, mais s'exprimant au mieux dans les conditions de l'immunodéficit (Coulaud, 1989).

Le spectre des maladies opportunistes sévères chez l'adulte infecté par le VIH en Afrique Sub-saharienne se caractérise par une grande fréquence de la tuberculose et des maladies bactériennes invasives qu'en Europe, et par la présence du paludisme. Ces trois groupes d'affections pouvant survenir assez tôt dans l'immunodépression, les adultes infectés par le VIH ont une probabilité plus élevée de développer un épisode de morbidité sévère au dessus de 200 CD4/mm³ en Afrique Sub-saharienne qu'en Europe (Coulaud, 1989).

3-3- Classification de l'infection par le VIH (Tableau I)

La classification actuellement utilisée est celle de l'OMS. Cette classification est double, à la fois clinique et biologique. L'infection par le VIH est donc classée en quatre stades cliniques (1-4) et trois catégories de manifestations cliniques A, B, C selon le nombre de lymphocytes CD4. La charge virale du VIH n'est pas prise en compte dans cette classification qui a un intérêt essentiellement épidémiologique (*).

**OMS, 2000*

Tableau I : Classification de l’OMS (OMS, 2000)

Classification en stades cliniques et biologiques					
Lymphocytes totaux (Imm3)	CD4 (Imm3)	Stades Cliniques			
2000>	500	1A	2A	3A	4A
1000-2000	200-500	1B	2B	3B	4B
>1000	<200	1C	2C	3C	4C

Les catégories

A : infection asymptomatique, lymphadénopathie persistante généralisée (LPG), primo-infection symptomatique, absence de critères B ou C.

B : manifestations cliniques sans critère C

C : sida

Les stades

Stade 1 : Asymptomatique, lymphadénopathie généralisée

Stade 2 : Perte de poids < 10% du poids corporel, manifestations cutanéomuqueuses mineurs, infection des voies respiratoire.....

Stade 3 : Perte de poids > 10%, fièvre prolongée non expliquée, tuberculose pulmonaire, infections bactériennes grave.....

Stade 4 : Syndrome cachectique dû au VIH, Sarcome de Kaposi, Encéphalopathies VIH...

4- Diagnostic et suivi biologique des patients infectés par le VIH

4-1- Le diagnostic

4-1-1- Principe du diagnostic de l’infection par VIH

La caractérisation de VIH-1 puis celle de VIH-2 ont rapidement permis de mettre au point des tests permettant de détecter les anticorps anti-VIH, en particulier par technique ELISA (Enzyme-Linked immunosorbant assay) en utilisant des préparations purifiées de virus comme antigènes. Des antigènes synthétiques, peptides ou protéines virales fabriquées par génie génétique, remplaceront de virus comme antigènes des tests ELISA de deuxième génération (Alison *et al.* , 1989).

La seule possibilité a longterm été l'isolement viral, mais il est maintenant possible de détecter divers constituants viraux, comme certaines protéines ou le matériel génétique, directement dans le sérum ou les cellules circulantes, ou après leur culture.

Deux techniques sont actuellement au point, dont l'utilisation va sans doute se généraliser : la détection d'antigènes viraux par test ELISA de type capture, et celle du matériel génétique, sous sa forme ADN, après son amplification enzymatique (Alison *et al.*, 1989).

Les deux virus sont proches par leurs propriétés biologiques et leur ultrastructure, et que seules leurs glycoprotéines d'enveloppe sont antigéniquement distinctes. Les tests de détection des anticorps ELISA utilisant le virus complet comme antigène peuvent donc confondre les deux types de VIH. Pour les distinguer, ont été mis au point des tests utilisant comme antigènes des peptides de synthèse correspondant à des domaines très immunogéniques de VIH-1 ou VIH-2. Les techniques d'hybridation moléculaire après amplification enzymatique de l'ADN viral, ou bien après isolement, permettent aussi de distinguer clairement les deux VIH (Alison *et al.*, 1989).

4-1-2- L'isolement des VIH

L'isolement de virus du sang ou des tissus obtenus de malades infectés a été et reste un outil indispensable à l'étude de l'histoire naturelle de l'infection, de la pathogénicité et du mode de transmission des VIH. C'est une technique essentielle au diagnostic de l'infection chez un enfant né de mère séropositive qui doit aider au diagnostic quand les techniques sérologiques ne permettent pas de conclure et qui est nécessaire lors d'études portant sur l'émergence de nouveaux variants (Brun-Vezinet, 1989).

Il s'agit d'une technique longue, astreignante, coûteuse, non standardisée, qui ne peut s'effectuer que dans les laboratoires de virologie équipés de conditions minimales de sécurité. L'isolement du virus s'effectue le plus souvent à partir des lymphocytes du sang périphérique. De plus, chez certains individus, il semble que le virus soit parfois mieux isolé des monocytes que des lymphocytes T. Il n'y a pas actuellement que peu d'informations concernant les pourcentages d'isolement du VIH-2 au cours de la progression de l'infection par ce virus. L'isolement du VIH-2 à partir des lymphocytes du sang périphérique a été rapporté chez des sujets présentant un SIDA (Brun-Vezinet, 1989).

Il s'agit pourtant d'une question essentielle pour l'évaluation des traitements anti-rétroviraux actuels, qui n'ont d'autre action possible que celle d'inhiber la multiplication du virus. Il est cependant possible que des isollements séquentiels à long terme chez des sujets sous anti-rétroviraux soient informatifs (Brun-Vezinet, 1989).

Il est donc indispensable de développer d'autres techniques de détection de VIH permettant de raccourcir la durée de culture, voire d'obtenir directement des évidences d'infection sur des cellules non cultivées.

4-1-3- La sérologie

La détection des anticorps anti-VIH se fait en première intention par méthode ELISA : les antigènes viraux fixés à un support sont mis en présence d'un sérum contenant éventuellement des anticorps spécifiques. La présence de complexes immuns formés sera révélée par l'addition d'un sérum immun anti-immunoglobulines humaines marqués par une enzyme. L'addition du substrat permettra une réaction colorée proportionnelle à la quantité d'anticorps contenue dans le sérum étudié. Initialement, ces tests étaient constitués de virus complet produit par culture virale. Rapidement sont apparus des tests ELISA utilisant des protéines de recombinaison génétique ou des peptides synthétiques concernant les épitopes antigénique majeurs. Ces techniques sont présentées sur des supports variables, elles sont rapides et les temps d'incubation très courts permettent un diagnostic dans un délai bref (Brun-Vezinet, 1989).

Il existe des tests associés, maintenant plus largement disponibles qui détectent simultanément les anticorps contre le VIH-1 et le VIH-2. Les tout derniers se composent de protéines obtenues à partir d'ADN recombinant qui représentent les antigènes central et de l'enveloppe du VIH-1 et les antigènes d'enveloppe du VIH-2, ou encore utilisant des peptides de synthèse ou une association de protéines recombinantes et de peptides de synthèse (Van Dyck *et al.* , 2000).

Il est cependant nécessaire de confirmer les résultats positifs obtenus avec un test sérologique de dépistage au moyen d'une autre méthode d'analyse ou d'un test de confirmation ; parmi ces tests, on peut citer :

➤ **Les techniques d'immunofluorescence**, utilisant des cellules infectées par ce virus sont préconisées uniquement comme méthode d'appoint.

➤ **La radio-immunoprécipitation** (RIPA) :

C'est une méthode fiable pour distinguer le VIH-1 du VIH-2 car utilisant les glycoprotéines de structure précurseur des protéines d'enveloppe et les glycoprotéines externes.

➤ **La méthode du Western Blot** (immunotransfert)

A l'heure actuelle, l'immunotransfert, est la méthode la plus utilisée pour confirmer la présence d'anticorps anti-VIH dans les sérum positifs au test de dépistage. L'immunotransfert utilise des protéines du VIH séparées par électrophorèse en gel et immobilisées sur nitrocellulose par transfert. Les anticorps dirigés contre chacune de ces protéines sont détectés directement sur ce support par réaction immuno-enzymatique. Les résultats obtenus avec les sérums testes sont

comparés à ceux que donne un sérum témoin standardisé qui réagit avec toutes les protéines virales. L'avantage majeur de cette méthode est la révélation des différents anticorps dirigés contre les protéines virales. Pour affirmer une sérologie positive, il est nécessaire que le sérum contienne au moins des anticorps dirigés contre l'une au moins des protéines d'enveloppe (gp160, gp110, gp41), associées ou non à des anticorps dirigés contre les protéines internes du virus (p26, p7, p9, p16) (Brun-Vezinet, 1989 ; Van Dyck *et al.* , 2000).

4-1-4 La détection des antigènes du VIH

Depuis 1986, de nombreuses publications ont montré l'intérêt que pourrait avoir ce test pour le diagnostic, le pronostic, ainsi que pour le suivi thérapeutique.

L'antigénémie p25 semble suivre une courbe biphasique : elle apparaît initialement pendant la primo-infection, puis disparaît après un temps variable chez 50% des patients. La recherche de l'antigène peut être utile :

- pour surveiller le développement du virus en culture cellulaire ;
- comme marqueur pronostique de l'évolution clinique chez les patients VIH positifs ;
- comme test diagnostique de l'infection à VIH chez l'enfant né de mère infectée ;
- pour évaluer l'efficacité des antiviraux.

Les changements des taux d'antigénémie en réponse au traitement par l'azidothymidine suggèrent que ce paramètre pouvait être index de l'efficacité d'un traitement anti-rétroviral. Il n'existe pas actuellement de réactifs permettant de détecter l'antigène p26 circulant du VIH-2 (Brun-Vezinet, 1989 ; Van Dyck *et al.* , 2000).

4-1-5- La détection de l'ADN et de l'ARN des VIH

La recherche d'ADN proviral intégré dans les lymphocytes circulants peut se faire par une technique appelée PCR (Polymerase Chain Reaction) car elle implique une amplification de gène (Brun-Vezinet, 1989 ; Van Dyck *et al.* , 2000).

Cette technique est utilisée pour la détection de l'ADN du HIV-2. Il existe cependant une technique qui peut détecter l'ARN du VIH-2, mais celle-ci n'est pas encore utilisée dans la routine, il s'agit de l'amplification NASBA avec le Nuclisens EasyQ des laboratoires de Biomérieux.

4-1-6- Remarque sur le diagnostic de l'infection par le VIH-2

L'identification d'un deuxième virus responsable du SIDA a remis en cause les démarches diagnostiques initiales et pose le problème de l'efficacité des techniques de détection

d'anticorps anti-VIH-1 utilisées actuellement. La réponse anticorps à l'infection par VIH-2 est très parallèle à celle obtenue au cours de l'infection par VIH-1 : la démarche diagnostique sera donc la même. Des techniques équivalentes, utilisant des antigènes spécifiques de VIH-2, sont disponibles (ELISA, Western blot).

Le degré d'homologie entre les deux virus est d'environ 60% pour les protéines codées par les gènes *gag* et *pol* et de 40% pour les protéines d'enveloppe (gène *env*). De ce fait, des réactions croisées apparaissent fortement pour les protéines des gènes *gag* et *pol*, plus rarement pour les protéines des gènes *env*. Ces réactions croisées peuvent être observées chez des sujets infectés par VIH-2 dont la sérologie est fortement positive. L'incubation de l'infection par VIH-2 semble plus longue que celle de l'infection par VIH-1, cependant le mécanisme physiopathologique de l'infection par VIH-2 semble très proche de celui de VIH-1 et durant l'évolution de la maladie, un certain nombre d'anticorps dirigés contre les protéines des gènes *pol* et *gag* diminuent ou disparaissent. Certains sérums fortement positifs peuvent donner un signal à la fois pour VIH-1 et pour VIH-2 en ELISA. L'analyse de ces sérums en Western blot permet de révéler la spécificité VIH-1 ou VIH-2 de leur réaction, par la présence d'anticorps dirigés contre les protéines d'enveloppe de l'un ou l'autre. Plus rarement, une double séropositivité peut être notée en Western blot, du fait de la présence d'anticorps dirigés contre les antigènes d'enveloppe de chacun de ces virus. Cependant, ces résultats s'expliquent le plus souvent par une réactivité croisée portant sur des antigènes communs aux deux virus et ne signifient pas une double infection. L'éventualité d'une double infection par VIH-1 et par VIH-2 n'est pas complètement exclue, notamment pour des sujets d'origine L'utilisation de peptides synthétiques très spécifiques de VIH-1 ou de VIH-2 permet maintenant une discrimination quasi complète des sérologies positives pour VIH-1 ou VIH-2 (Brun-Vezinet, 1989).

Les tests moléculaires de détection et de quantification de l'ARN viral plasmatique sont également affectés par la diversité génétique du VIH (Barin, 2006).

4-2- Le suivi biologique

A côté de la surveillance clinique, le suivi des patients repose sur l'évaluation régulière des marqueurs pronostiques biologiques. Cette évaluation s'opère par le biais des paramètres immuno-hématologiques mais aussi de la réplication virale qui, quelque soit le stade clinique, sont les témoins de son évolution.

4-2-1 Les paramètres immuno-hématologiques : (figure 4)

Le suivi de ces paramètres se résume à la réalisation d'une numération formule, la détermination des sous populations lymphocytaires, le dosage de la bêta-2-microglobuline et parfois des immunoglobulines. Les lymphocytes TCD4 sont la cible principale du VIH. Leur valeur normale varie de 600 à 1200/mm³. La survenue des manifestations cliniques est directement liée à la baisse du nombre de lymphocytes CD4. La diminution progressive du taux de lymphocytes CD4 et de leur fonctionnalité traduit le déficit immunitaire. Le rapport CD4/CD8 est normalement supérieur à un. Ce taux de lymphocyte TCD4 est le marqueur du niveau d'immunodépression ainsi que du risque de survenue d'infections opportunistes et de mortalité indépendamment de la charge virale. (Mouton, 1999 ; Garrait *et al.* , 2000) Les autres marqueurs comme la mesure des lymphocytes CD8, le rapport CD4/CD8 et la bêta-2-microglobuline n'ont pas de valeur pronostique (Garrait *et al.* , 2000).

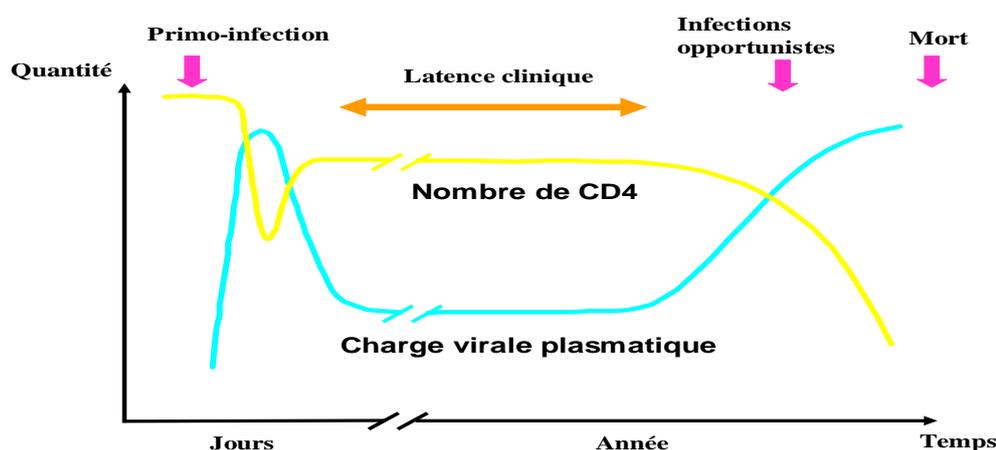


Figure 4 Schéma de l'évolution virologique et immunologique de l'infection à VIH (Jacomet, 1997)

4-2-2- Les paramètres virologiques : (figure 4)

Il s'agit essentiellement de la charge virale plasmatique. Il a été démontré que la quantification de l'ARN plasmatique du virus permet de prédire la progression de la maladie indépendamment du taux de lymphocytes CD4. Plus la charge virale plasmatique est élevée, plus le risque d'évolution vers le SIDA est important. La charge virale plasmatique mesure le nombre de particules d'ARN viral circulant et se fait préférentiellement sur le plasma.

Il est maintenant bien démontré que la charge virale plasmatique mesurée par PCR constitue un facteur pronostique majeur, jugé plus sensible et plus précoce que la mesure du taux de

lymphocyte CD4. Elle est le reflet de la vitesse d'évolution tandis que le taux de lymphocyte CD4 renseigne sur l'importance du déficit immunitaire.

La mesure de la charge virale plasmatique est également le principal outil de suivi de l'efficacité thérapeutique sous traitement antirétroviral. Il n'existe pas cependant, à l'heure actuelle, un kit commercial de quantification de la charge virale plasmatique pour le VIH-2. Ceci constitue un problème majeur dans le cadre du suivi biologique des patients infectés par ce type de virus. A part les techniques « maison » (culture cellulaire, il y a des alternatives comme la technologie de PCR en temps réel et la technique commerciale Nuclisens EasyQ des laboratoires de Biomérieux (Rodés *et al.* , 2007).

4-2-3- Bilan de surveillance :

D'abord, il faudrait que la séropositivité au VIH soit confirmée sur deux prélèvements et par un Western blot. Ce bilan de surveillance s'effectue en deux temps :

➤ En l'absence de traitement

Un bilan comportant une numération formule sanguine (NFS), plaquettes, un typage lymphocytaire CD4/CD8 et une charge virale plasmatique est réalisé tous les six mois si les CD4 sont $>$ à $500/\text{mm}^3$, et tous les trois mois s'ils sont compris entre 350 et $500/\text{mm}^3$ ou si la charge virale plasmatique est élevée (supérieur à 20000 copies/ml) (Garrait *et al.* , 2000).

➤ Sous traitement antirétroviral

La surveillance de la tolérance et de l'efficacité du traitement se fait tous les 2 à 3 mois en moyenne. La tolérance biologique est surveillée sur la NFS, plaquettes, les transaminases

L'efficacité est évaluée par le nombre de lymphocyte CD4 et la charge virale du VIH 3 à 4 fois par an avec une mesure précoce éventuelle un mois après une modification de traitement (Garrait *et al.* , 2000).

5- Le traitement antirétroviral de l'infection à VIH-2

5-1- Les objectifs du traitement

L'objectif d'un traitement étiologique de l'infection par VIH peut être formulé simplement : empêcher le virus de se répliquer et l'infection de se propager à de nouvelles cellules. Ils doivent être de :

- réduire la charge virale plasmatique au niveau le plus bas possible afin de la rendre « indétectable » le plus longtemps possible
- ralentir l'histoire naturelle de l'infection

- diminuer la mortalité et la morbidité grâce à une prévention et/ou une restauration du déficit immunitaire induit par l'infection du VIH.

5-2- Les moyens thérapeutiques

Il existe des substances capables d'inhiber la transcription de l'ARN en ADN après la pénétration de la particule virale dans la cellule. Ces drogues, pour la plupart, sont des analogues de nucléotides dont les effets ne peuvent toutefois empêcher l'expression de l'ADN viral déjà intégré dans l'ADN de la cellule (provirus). Les lentivirus ont le pouvoir de demeurer présent de façon latente sous forme provirale. Ainsi, un inhibiteur de la transcriptase inverse devrait être d'une efficacité absolue, mais aussi pouvoir être prolongé au-delà de la durée de vie de toutes cellules infectées et porteuse de provirus VIH de l'organisme. Or, il n'y a pas de précisions sur la nature de ces cellules réservoirs et leur durée de vie, et les molécules disponibles actuellement sont trop toxiques pour envisager des traitements à long cours. Une des propriétés absolues de la recherche pharmacologique est donc la mise au point d'inhibiteurs de la transcriptase inverse moins toxique. Il faut également chercher d'autres étapes du cycle viral qui pourraient faire l'objet d'un blocage pharmacologique, et la plus évidente est la pénétration du virus dans la cellule. L'interaction de l'enveloppe virale avec le corécepteur cellulaire CD4 sera bientôt suffisamment connue pour permettre la synthèse de composés capables d'empêcher la pénétration du VIH. La plupart des étapes postérieures à l'intégration de l'ADN proviral, et aboutissant à la production des particules virales, sont le fait de la machinerie cellulaire ; il semble donc exclu d'intervenir à l'un de ces niveaux. En revanche, la trans-activation et la stabilisation des ARN messagers de VIH, ainsi que la maturation du précurseur polyprotéique *gag-pol* par la protéase virale, pourraient être bloquées spécifiquement. Une thérapeutique intervenant à ce niveau du cycle viral aurait l'avantage de protéger les cellules déjà infectées, tout en prévenant la propagation du virus (Alizon *et al.* , 1989).

5-2-1- Les inhibiteurs de la Reverse Transcriptase

Parmi ces inhibiteurs, nous distinguons deux types qui diffèrent par leur mode d'action sur la RT elle-même. Ce sont : les analogues nucléosidiques et les analogues non nucléosidiques de la RT auxquels le VIH-2 est naturellement résistant (Bock *et al.* , 2001).

5-2-1-1- Les inhibiteurs nucléosidiques de la RT (INRT)

Ce sont des analogues des nucléosides naturels dont ils diffèrent généralement par l'absence d'hydroxyle en 3'. Ce sont des inhibiteurs compétitifs qui, après différentes métabolisations,

agissent au niveau du site de polymérisation de l'enzyme et bloquent l'élongation de l'ADN. (Diop, 2003). Le virus de l'immunodéficience humaine de type 2 est sensible aux INRT mais moindre que le VIH-1 (Bock *et al.* , 2001) .

5-2-1-2- Les inhibiteurs non nucléosidiques de la RT (INNRT)

Ils ne sont pas des analogues compétitifs. Ils agissent sans être transformés sur le site allostérique et modifient par ricochet la conformation du site actif de la RT rendant ainsi celle-ci inapte à remplir sa fonction de polymérisation. Ils sont spécifiques de la RT du VIH-1 et sont donc inactif sur le VIH-2 et les SIV (Bock *et al.* , 2001 ; Diop, 2003) .

Malgré une similarité de structure entre la RT du VIH-1 et de VIH-2, des différences moléculaires situées en particulier dans la poche hydrophobe de fixation des INNRT sont responsables de cette résistance (Ren *et al.* , 2002 ; Delaugerre, 2006). Une mutation au niveau des acides aminés Ile et Leu respectivement en position 181 et 188 est responsable de la résistance du VIH-2 à l'ensemble des INNRT (Auwers *et al.* , 2004).

Il est maintenant évident que la différence de conformation entre Ile-181 (HIV-2) et Tyr-181 (HIV-1) est responsable de la résistance des VIH-2 à l'ensemble des INNRT (Ren *et al.* , 2002 ; Auwerx *et al.* , 2004). De façon similaire, il existe une résistance naturelle aux INNRT du VIH-1 du groupe O (Peeters *et al.* , 2003 ; Delaugerre, 2006).

5-2-2- Les Inhibiteurs de la Protéase (IP)

Ce sont des peptides synthétiques, ils peuvent agir selon deux mécanismes : ils s'insèrent au niveau du site catalytique ou à l'interface entre les deux sous unités du dimère qui constituent l'enzyme et bloque son activité protéolytique de façon sélective et réversible. En présence d'IP, la maturation des précurseurs des protéines est donc impossible, ce qui bloque la formation de particules virales ou engendre des particules immatures et non infectieuses. (Diop, 2003)

L'ensemble des IP du VIH-1 sont aussi utilisés pour le traitement antirétroviral de l'infection à VIH-2. Cependant, il existe des mutations associées avec les inhibiteurs de la protéase qui sont responsables de résistances au traitement. (Colson *et al.* , 2004 ; Pieniazek *et al.* , 2004)

5-2-3- Les inhibiteurs de la fixation du virus sur son récepteur

Inhiber la fixation du VIH sur son récepteur peut relever de plusieurs mécanismes :

- fixation d'une molécule inhibitrice sur le virus lui-même, par exemple une gammaglobuline spécifique : c'est la problématique de la vaccination et de la sérothérapie. C'est aussi le cas de l'utilisation du CD4 soluble fabriqué par génie génétique
- fixation d'une molécule sur le récepteur cellulaire du virus, c'est-à-dire essentiellement la molécule CD4.
- modification des conditions physicochimiques membranaire des cellules cibles, de façon à perturber la conformation du récepteur du virus, diminuant ainsi la possibilité d'accrochage du VIH (Dormont, 1989).

5-2-4- Indication d'un traitement antirétroviral

Une indication de mise en route d'un traitement doit intégrer les données cliniques, le taux et l'évolution des lymphocytes TCD4, le niveau et l'évolution de la charge virale. (Tableau II)

Tableau II : Indication du traitement antirétroviral anti-VIH (Garrait *et al.* , 2000)

Indication du traitement antirétroviral anti-VIH
Primo-infection
Présence de manifestations cliniques du groupe B ou du groupe C
Lymphocytes CD4 < 350/mm ³
Lymphocytes CD4 < 500/mm ³ avec diminution rapide
ARN VIH > 30 000 à 50 000 copies/ml en dehors d'une infection intercurrente

Le traitement fait appel, en première intention, à une trithérapie associant deux inhibiteurs nucléosidiques de la RT et un inhibiteur de la protéase (Garrait *et al.* , 2000) (Tableau III).

Tableau III : Principaux antirétroviraux

Moplécules	Abréviation	Nom commercial
Inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse		
Zidovudine	AZT, ZDV	Retrovir
Didanosine	ddI	Videx
Zalcitabine	ddC	Hivid
Stavudine	d4T	Zerit
Lamivudine	3TC	Epivir
Zidovudine/Lamivudine	AZT/3TC	Combivir
Abacavir	ABC	Ziagen
Inhibiteurs de la protéase		
Indinavir	IDV	Crixivan
Nelfinavir	NFV	Viracepf
Ritonavir	RTV	Norvir
Saquinavir	SQVhgc	Invirase
Saquinavir	SQVsgc	Fortovase
Amprenavir	APV	Agenerase

L'effet du traitement antirétroviral sur la transmission maternofoetale a été aussi rapporté. Le taux de transmission de la mère à l'enfant en l'absence de traitement est de 20%. Il est de 5% avec le traitement par azidothymidine (AZT). Cependant une combinaison avec d'autres antirétroviraux a été recommandée pour améliorer la réduction de cette transmission. (Garrait, *et al*, 2000; Bardeguez *et al.* , 2003 ; Lions *et al.* , 2005)

Dans l'ensemble, l'efficacité du traitement antirétroviral sur l'infection à VIH a été bien démontrée. Cependant, la mise sur pied d'un traitement antirétroviral nécessite un bon suivi biologique qui va de la numération lymphocytaire TCD4+, de la quantification de la charge virale plasmatique et de l'évolution du poids des patients infectés.

CHAPITRE : 2

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODE

1- Cadre et population d'étude

➤ Cadre de l'étude

Le laboratoire de bactériologie-virologie est un des nombreux services de l'hôpital Aristide Le Dantec qui a été créé en Août 1912 et dénommé à l'époque Hôpital Indigène de Dakar. Ce laboratoire est constitué de quatre unités : bactériologie, Sérologie, Immunologie et Biologie Moléculaire.

Notre étude s'est déroulée essentiellement au niveau des unités d'immunologie pour la numération des lymphocytes TCD4+ et de biologie moléculaire où nous avons effectué la mesure de la charge virale.

Ce laboratoire, service hospitalo-universitaire a pour vocation le diagnostic biologique des infections bactériennes et virales, la recherche et la formation dans les domaines de la Bactériologie et de la Virologie. C'est un centre de référence des Infections Sexuellement Transmises et un centre collaborateur ONUSIDA. Il est le siège du Réseau Africain de Recherche sur le SIDA et abrite l'observatoire des résistances aux anti-rétroviraux et le programme de recherche sur les vaccins anti-VIH en Afrique.

➤ Population d'étude

La taille de notre population d'étude est de 55 patients infectés par le VIH-2, tirée d'une cohorte plus élargie de 122 patients sous traitement. Ces patients sont suivis dans le centre hospitalier de Fann (CHU) sur la cohorte de l'ISAARV. Chez ces patients, on prélève sur deux tubes EDTA (Acide Ethylène Diamine tétra acétique) pour chacun 5 à 10 ml de sang et on les achemine directement au laboratoire de bactériologie-virologie du CHU le Dantec. Au niveau de l'unité d'immunologie, un tube va servir à la mesure du taux de lymphocytes TCD4+ et l'autre tube sera amené en biologie moléculaire pour subir une séparation lymphocytaire en vue de recueillir le plasma.

2- Matériel

2-1- Matériel pour le Nuclisens EasyQ (figure 5 et 6)

- Des barrettes d'incubation
- Un thermoshaker
- Le thermocycleur
- Un portoir magnétique
- Le NucliSens mini MAG muni d'une rampe magnétique

- Le kit d'extraction magnétique conservé entre 2 et 8°C qui comprend les tampons d'élution, la silice magnétique et les tampons de lavage
- Les tampons de lyse conservés à température ambiante
- le kit d'amplification-détection EasyQ HIV 1.1 conservé à entre 2 et 8°C et qui renferme le calibrateur lyophilisé et son diluant, l'enzyme lyophilisée et son diluant, les amorces lyophilisées et leurs diluants
- L'analyseur NucliSens EasyQ HIV-1.1

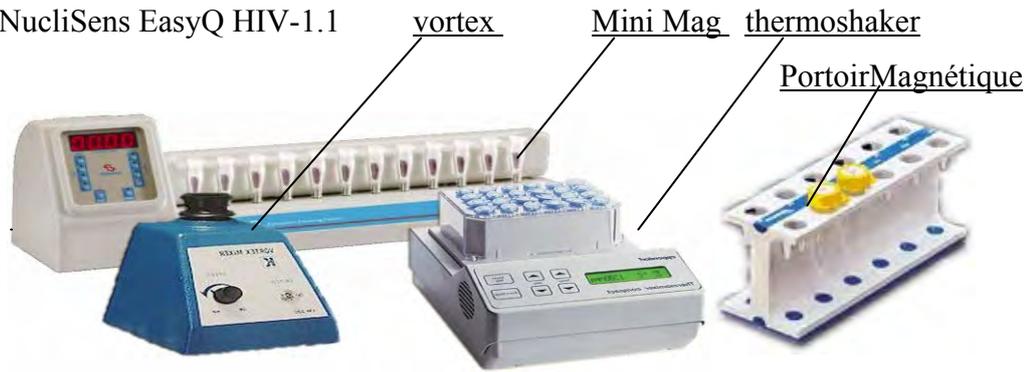


Figure 5 : Matériels d'extraction pour le Nuclisens

- Un micro centrifugeuse
- Analyseur Nuclisens
- thermocycleur
- micro centrifugeuse



Figure 6 : Matériels d'amplification pour le Nuclisens

2-2- Matériel pour le Facscount (figure 7)

- Le kit BD Facscount™ Reagent qui comprend les cupules avec pour chacun deux tubes (vert et blanc) contenant une quantité de billes connue, deux tubes contenant le fixateur ou parahaldéhyde, des bouchons pour les tubes contenant les billes.

Dans le tube vert, les billes sont couplées avec des anti-CD4 et sensibilisées à la FITC (Fluorescein Iso ThioCyanate), alors que celles du tube blanc sont couplées avec de anti-CD8 et sensibilisées à la PE (Phyto Erythrine)

- Le perceur ou coring station
- Le travail de bord ou workstation
- l'analyseur Becton Dickinson (BD)



Figure 7 : Matériels pour le Facscount

<http://wwwn.cdc.gov/dls/ila/cd/zambia/files/CD4Testing.ppt#39>

3- Méthodologie

Les patients VIH-2 inclus auront le rythme de suivi ci après : Pour chacun de ces patients, on effectue la quantification de la charge virale plasmatique suivant le bilan J0, M1, M6 et tous les six mois plus une numération du taux de lymphocytes TCD4+. En plus de ces deux paramètres, l'évolution du poids entre autres paramètres cliniques est déterminée à chaque visite. Ces différents paramètres charge virale plasmatique, taux de lymphocytes TCD4+ et gain pondéral permettront d'apprécier l'efficacité ou non du traitement ARV.

3-1- Charge virale par la technologie de Nuclisens EasyQ

➤ **Séparation lymphocytaire**

C'est une étape primordiale car elle permet la séparation des différents constituants du sang et l'obtention du plasma. Après une centrifugation de 2500 tours pendant dix minutes, le plasma se dépose en dessus des cellules blanches. Ce plasma est prélevé et distribué en trois tubes de 1 ml au moins pour chacun. Ce sont maintenant ces tubes qui seront utilisés pour la technologie de Nuclisens en vue d'une extraction, amplification et détermination de la charge virale.

➤ **Extraction magnétique de l'ARN viral plasmatique** (figure 5)

Elle a été réalisée grâce au Kit Nuclisens Lysis Buffer et Nuclisens Magnetic Extraction Reagents.

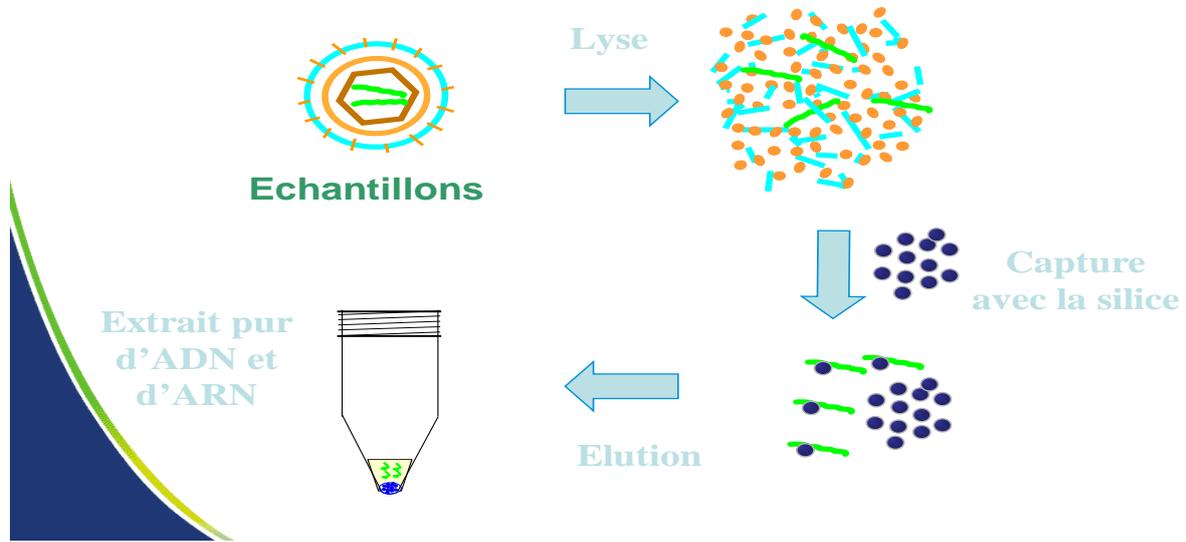
Les particules virales contenues dans l'échantillon sont tout d'abord lysées par le tampon de lyse (Nuclisens Lysis Buffer) contenant du thiocyanate de guanidine assurant ainsi la libération de l'ARN génomique des virions. Ensuite vient l'extraction qui repose sur la chimie de Boom en utilisant des particules de silices magnétiques (Nuclisens Magnétic Extraction Reagents).

Dans des conditions de salinité élevée, l'acide nucléique se fixe sur les particules de silice. Ces particules de silice agissent comme une phase solide et les composants étrangers aux acides nucléiques sont retirés après plusieurs étapes de lavage puis, les acides nucléiques sont élués de la phase solide.

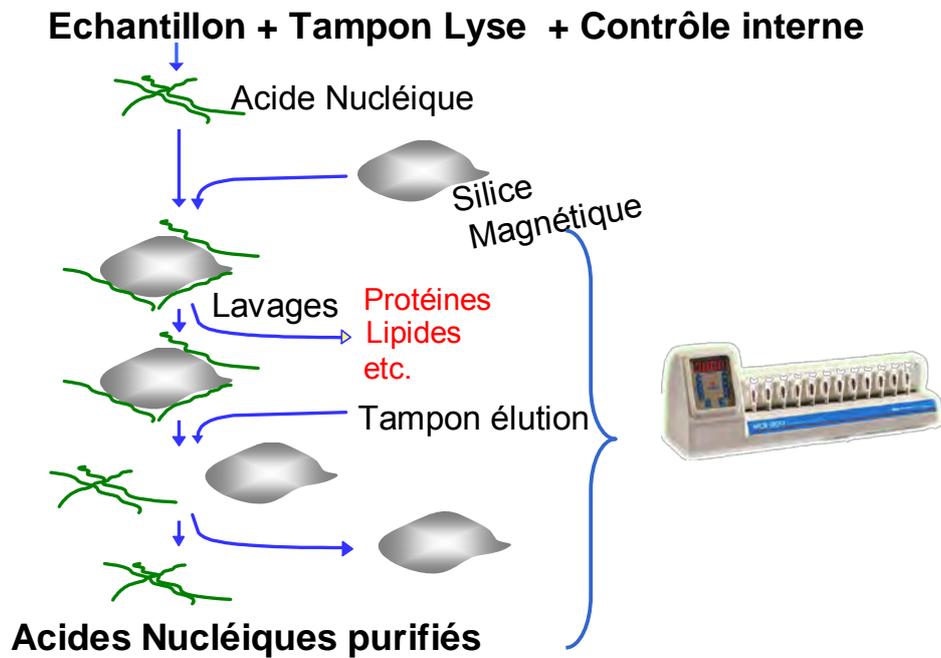
➤ **Amplification NASBA en temps réel** (figure 6)

L'amplification de l'ARN viral se fait avec le kit Nuclisens HIV-1 EasyQ v1.1. Il s'agit d'une technologie basée sur l'amplification de l'ARN viral par NASBA (amplification isothermique) couplé à une détection - quantification en temps réel. Cette détection se fait à l'aide de balises moléculaires portant un marqueur fluorescent et qui s'ouvrent en présence d'amplicons d'ARN. L'augmentation de la fluorescence est directement proportionnelle à la quantité d'ARN générée pendant cette réaction.

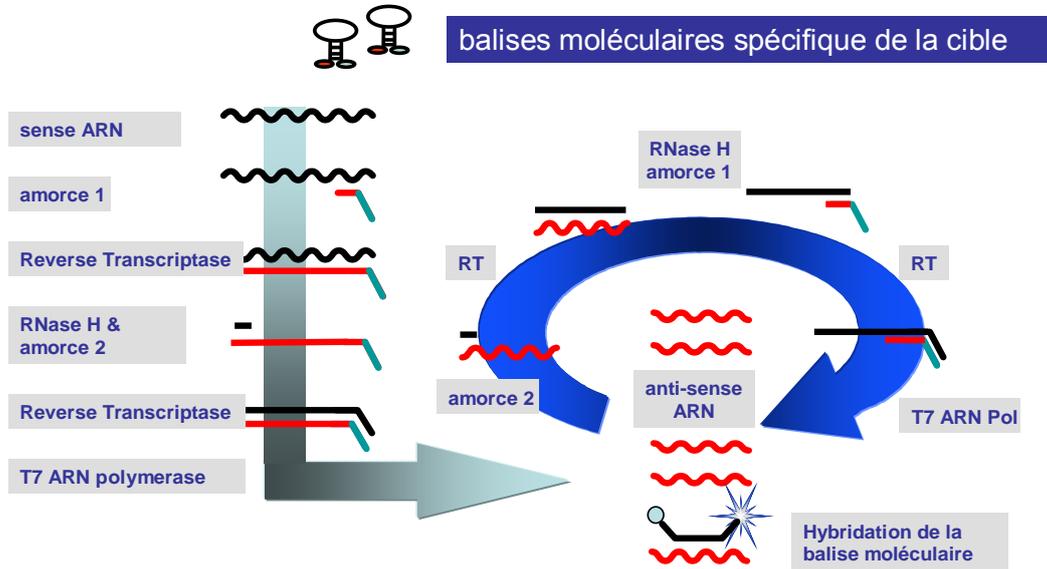
Extraction BOOM : Trois Etapes



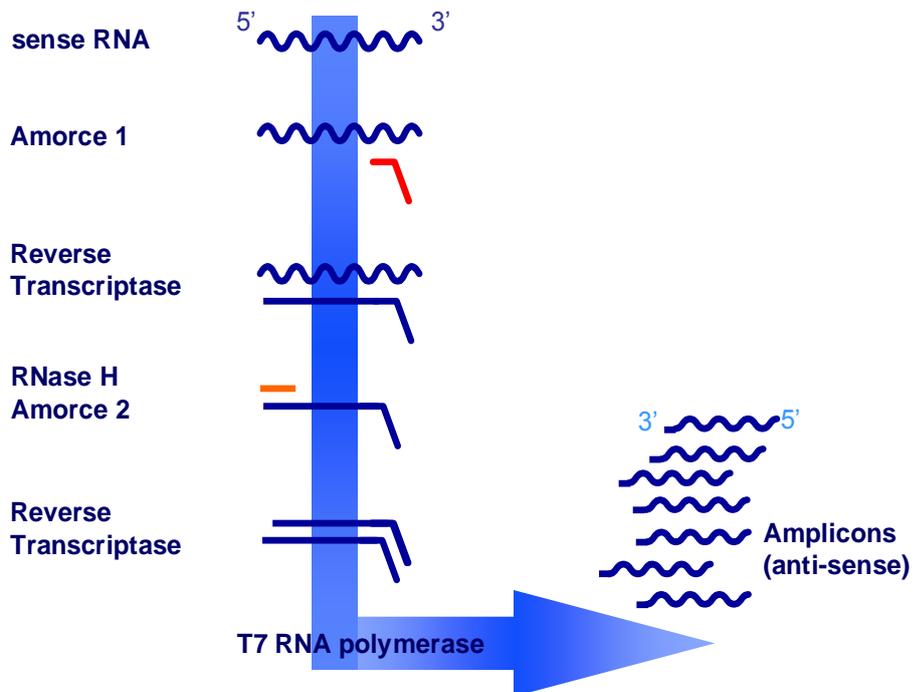
Extraction Magnétique BOOM



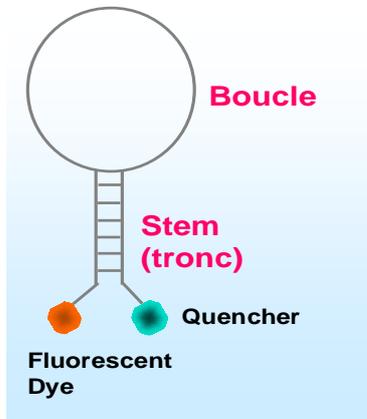
Détection en temps réel avec NASBA



NASBA: phase linéaire



Détection : les balises moléculaires



Sondes ADN comprenant une structure en boucle et deux séquences hybridées

Boucle : Séquence de 20-25 bases complémentaire de la séquence cible

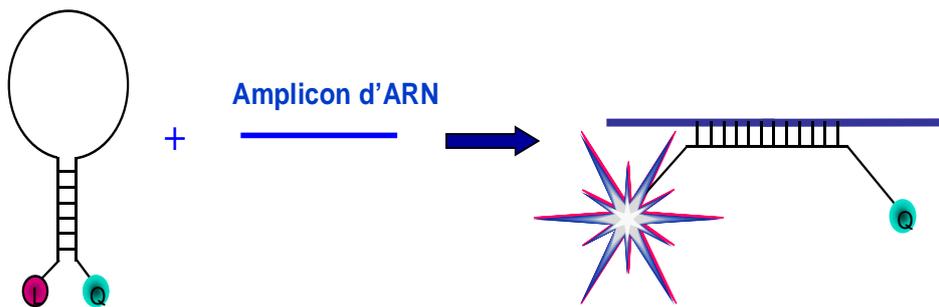
Tronc : 6-7 paires de bases

Aux deux extrémités :

- marqueur fluorescent
- « quencher » extinction de la fluorescence

Balises moléculaires - Mode d'action

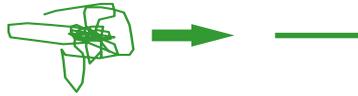
La balise moléculaire s'ouvre en présence de la cible correspond à la boucle



Le niveau de fluorescence augmente avec la quantité d'ARN

NASBA - étapes

✓ DENATURATION 65°C linéarisation de l'ARN



✓ ANNEALING 65°C à 41 °C hybridation de l'amorce



✓ ADDITION ENZYME 41°C



✓ AMPLIFICATION 41°C

Incubator



Mini Centrifugeuse

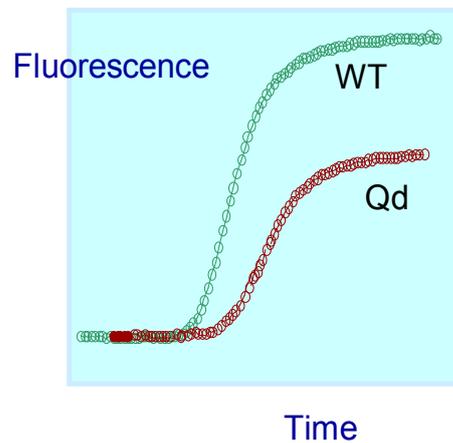


EasyQ



Calbrateurs & Quantification

NucliSens EasyQ HIV-1



Mesure en cinétique
(cible + 1 calbrateur)

Figure 8 : Résumé de la technologie Nuclisens : Extraction de Boom, Amplification NASBA et détection en temps réel (formation client)

3-2- Numération lymphocytaire sur Facscout (figure 7, 9)

L'appareil utilisé est le Facscout qui est un cytomètre en flux uniquement adapté à la clinique qui donne les résultats en valeurs absolues.

La cytométrie de flux est une technique analytique basée sur l'immunofluorescence. Les cellules ou billes traitées avec différentes substances fluorescentes sont triées d'après leur degré de fluorescence avec un instrument appelé FACS (Fluorescence Activated Cell Sorter).

- Un flux liquide ou gaine liquide amène les cellules une par une vers le laser.
- Ce laser en ion argon émettant dans le bleu envoie une lumière dite incidente.
- les fluorochromes présents sur ces cellules sont excités par cette lumière et réémettent une lumière dite fluorescente.
- Les signaux optiques émis par fluorescence sont séparés par des miroirs dichroïques en fonction de leur taille et granularité, puis transmis vers des détecteurs. Ces détecteurs convertissent et amplifient les signaux optiques en signaux électriques
- Les signaux électriques analogiques sont ensuite convertis en signaux numériques, ce qui permettra de savoir en valeur absolue le nombre de cellules qui traversent le faisceau laser.

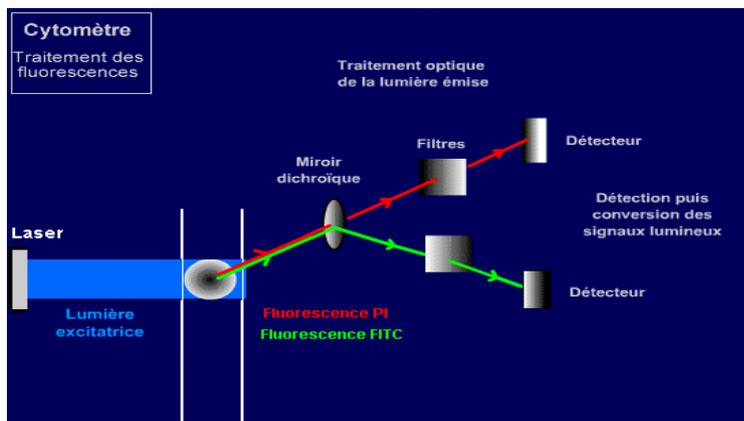


Figure 9 : Principe de la cytométrie en flux (<http://perso.orange.fr/jean-jacques.>)

3-3- Analyse statistique

Les traitements statistiques ont été effectués à l'aide des logiciels Epi info version 6.0 et SPSS (Statistical Package For Social Sciences version 11.0) et les graphiques à partir de ce dernier et sur Microsoft excel.

Notre population d'étude constituée de 55 patients infectés par le VIH-2 avec les données comme : l'âge, le sexe et le poids à l'inclusion.

1-Caractéristique de la population à l'inclusion

➤ **L'âge**

Les personnes recrutées dans notre étude ont un âge compris entre 26 et 68 ans avec une moyenne de 46 ± 2 ans. La répartition de ces données en tranche d'âge montre que la tranche comprise entre [45-55] est la plus représentée avec 40% et la moins représentée est celle de 55 ans et plus qui compte 12,7%.

➤ **Le sexe ratio**

Cette population d'étude est composée 41,8% d'hommes et de 58,2% femmes. Ces données sont représentées dans le tableau IV.

Tableau IV : Caractéristique de la population selon l'âge et le sexe

Nombre de Patients (N=55)		Nombre	Pourcentage
Sexe (Sexe Ratio = 1,39)	Hommes	23	41,8
	Femmes	32	58,2
Age (ans) Moyenne = 46 ans \pm 2 [26 à 68 ans]	[25 - 35 ans [9	16,4
	[35 - 45 ans [17	30,9
	[45 - 55 ans]	22	40
	plus de 55 ans	7	12,7
Total		55	100

➤ **Le stade Clinique** (Figure 10)

Selon la classification CDC, à l'inclusion, 15,8% des patients étaient au stade A, 52,6% au stade B et 31,6% au stade C pour un nombre de 38 des patients dont les données cliniques étaient disponibles.

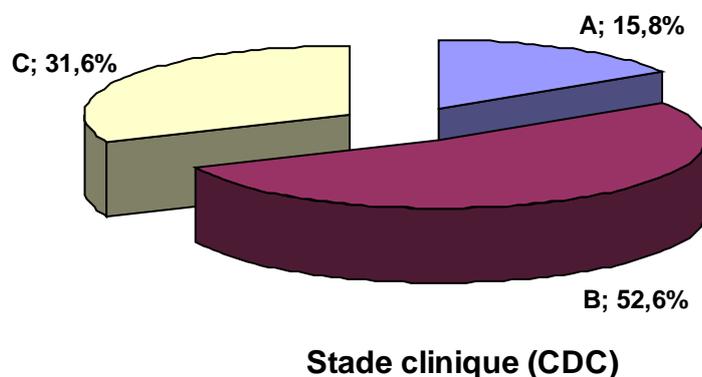


Figure 10 : Représentation de la population selon le stade clinique

➤ **Le traitement** (Tableau V)

Les données relatives au traitement ARV des patients de notre population d'étude à l'inclusion, était disponible pour 34 parmi eux. Le traitement antirétroviral de ces patients pour une médiane de 12 mois de suivi était dans l'ensemble : 2 INRT (AZT, 3TC, D4T et DDI) + 1 IP (IDV). Cependant, il y a des changements dans le traitement au cours du suivi comme : deux mauvaises observance, un transfert et sept autres variations de la première ligne de traitement. Parmi celles-ci on peut citer : deux à la première visite, deux à la deuxième visite, une à la quatrième visite et une à la sixième visite.

Tableau V : La première ligne de traitement ARV des patients

ARV à la 1e visite	Effectif	%
AZT+3TC+IDV	27	79,4
D4T+3TC+IDV	2	5,9
3TC+DDI+IDV	2	5,9
Autre	3	8,8
Total	34	100,0

Ces données sont représentées en illustration dans la figure 11.

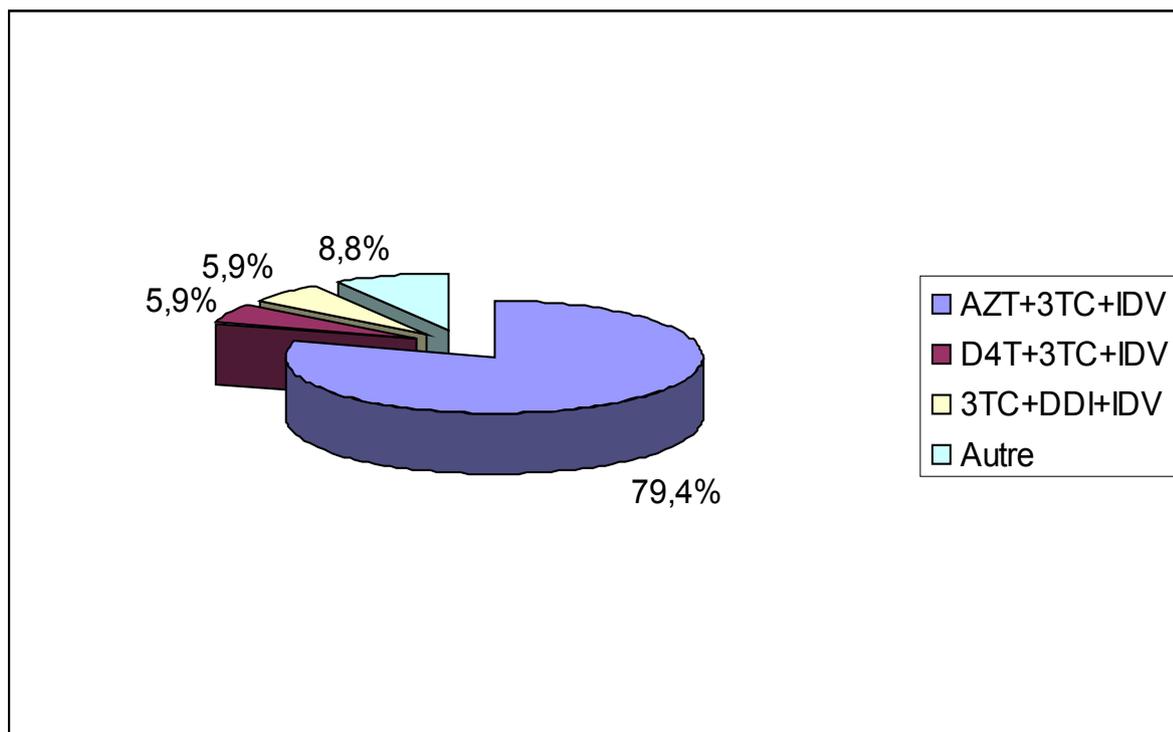


Figure 11 : Représentation du traitement ARV des patients à l'inclusion

➤ **Les lymphocytes TCD4+**

A l'inclusion, ces données mentionnées dans le tableau VI étaient disponibles pour 51 patients de cette population d'étude.

Tableau VI : Les lymphocytes TCD4+ à l'inclusion

TCD4	Effectif	%	
TCD4 < 200	22	43,1	Minimum = 21 Maximum = 188 Médiane = 90,5
TCD4 ≥ 200	29	56,9	Minimum = 200 Maximum = 1254 Médiane = 311,0
Total	51	100,0	

➤ **Le poids**

Le poids médian de la population d'étude est de 60,25 kilogrammes (Kg) avec des valeurs variant de 39 à 97,1 Kg.

➤ **La charge virale** (Log CV)

La charge virale médiane exprimée en Log est de 1,69 pour des intervalles de 1,69 à 6,30 log.

2- Caractéristique de la population au cours du suivi

Pour une médiane de suivi de 12 mois avec des extrêmes de variant de M1 à M36, les paramètres suivants seront étudiés. Ces données sont : le poids, le taux de lymphocytes TCD4+ et la charge virale des patients.

➤ **Le poids**

Tableau VII : Le poids des patients au cours du suivi

Numéro de la visite	Poids (Percentiles)			EIQ
	p25	p50	p75	
J0 (1)	51,1	60,3	72,7	22,5
M1 (2)	51,0	60,5	76,0	25,2
M6 (3)	55,2	71,0	75,5	21,6
M12 (4)	52,4	64,5	74,4	23,1
M18 (5)	60,0	71,0	80,0	26,5
M24 (6)	63,3	76,8	84,3	24,8

Ces données sont illustrées sur la figure 12.

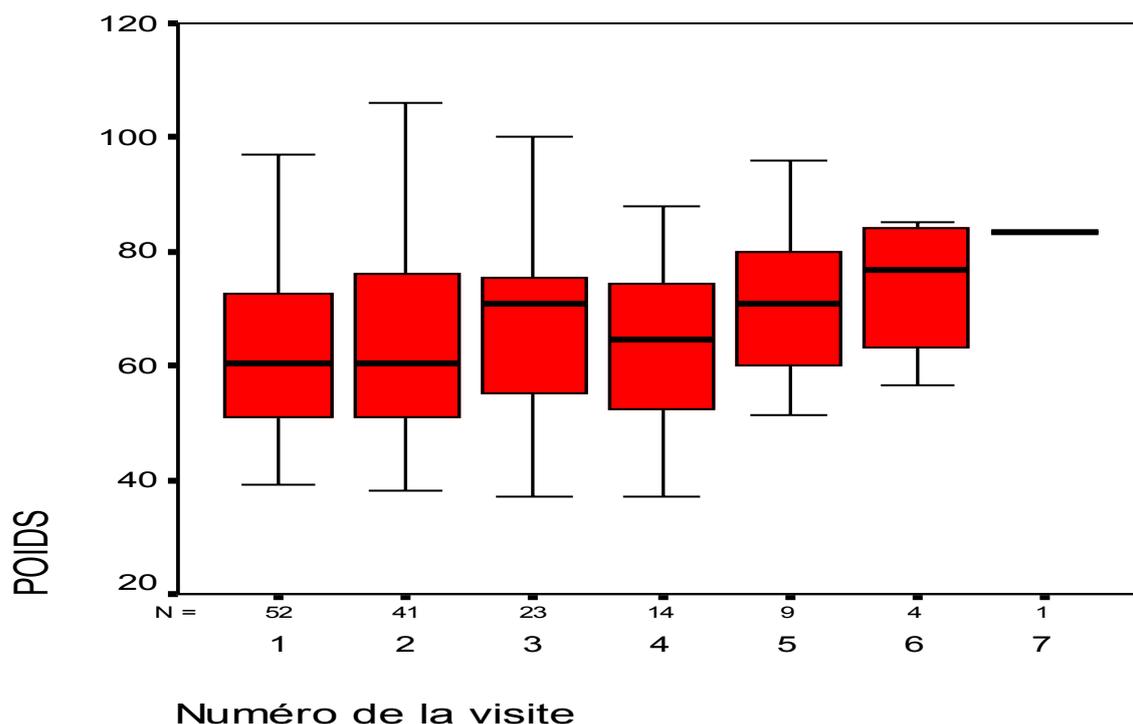


Figure 12 : Représentation de l'évolution du poids au cours du suivi

Il y a un gain pondéral qui est notable de J0 à M24. Des tests statistiques sur Epi info justifient ce gain pondéral par une comparaison des valeurs de la première visite à la troisième visite puis celles de la troisième visite à la sixième visite. Dans les deux cas, les valeurs du P non corrigé sont inférieures à 0.005.

➤ **Les lymphocytes TCD4+** (Tableau VIII)

Tableau VIII : Le taux de lymphocytes TCD4+ des patients au cours du suivi

Numéro de la visite	TCD4 (Percentiles)			EIQ
	p25	p50	p75	
J0 (1)	97,5	218,0	401,0	349,0
M6 (2)	133,5	200,0	506,5	412,0
M12 (3)	81,5	136,0	273,0	199,8
M18 (4)	87,5	159,5	296,5	212,0
M24 (5)	128,5	205,0	507,5	635,0
M30 (6)	122,5	288,0	598,0	589,3
M36 (7)	97,5	218,0	401,0	349,0

Une représentation graphique de ces données est mentionnée sur la figure 14.

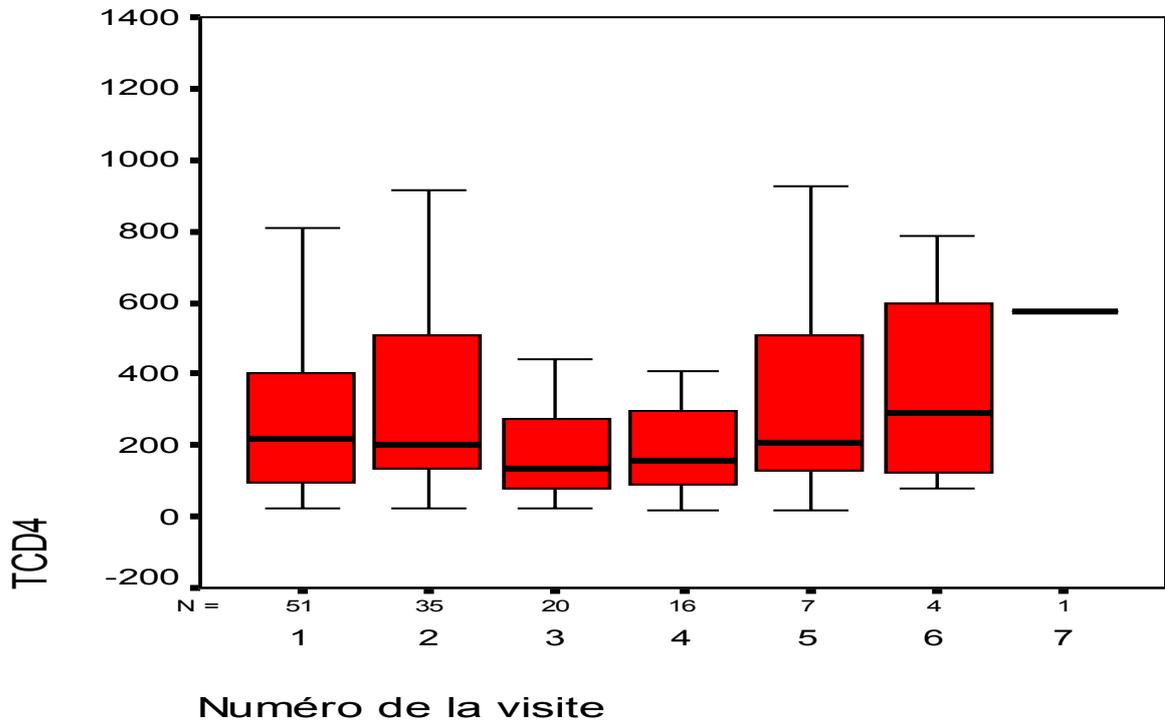


Figure 13 : Représentation de l'évolution du taux de lymphocytes TCD4+ des patients au cours du suivi

Il y a une légère diminution du taux de lymphocytes TCD4+ à M12 à cause du cumul des données. Cependant, pour le reste du temps de suivi, ce taux de lymphocytes TCD4+ augmente progressivement. Cette augmentation est significative à partir de M18. Les valeurs en M18 comparées à celles de M30 sur Epi info donnent un P inférieur à 0.005.

➤ **La charge virale** (log CV)

Tableau IX : La charge virale (log CV) des patients au cours du suivi

Numéro de la visite	log CV (Percentiles)			EIQ
	p25	p50	p75	
Jo	1,6902	1,6902	3,0469	1,448
M1	1,6902	1,6946	2,9445	1,325
M6	1,6902	1,6902	2,6435	1,187
M12	1,6902	1,6902	3,0771	2,102

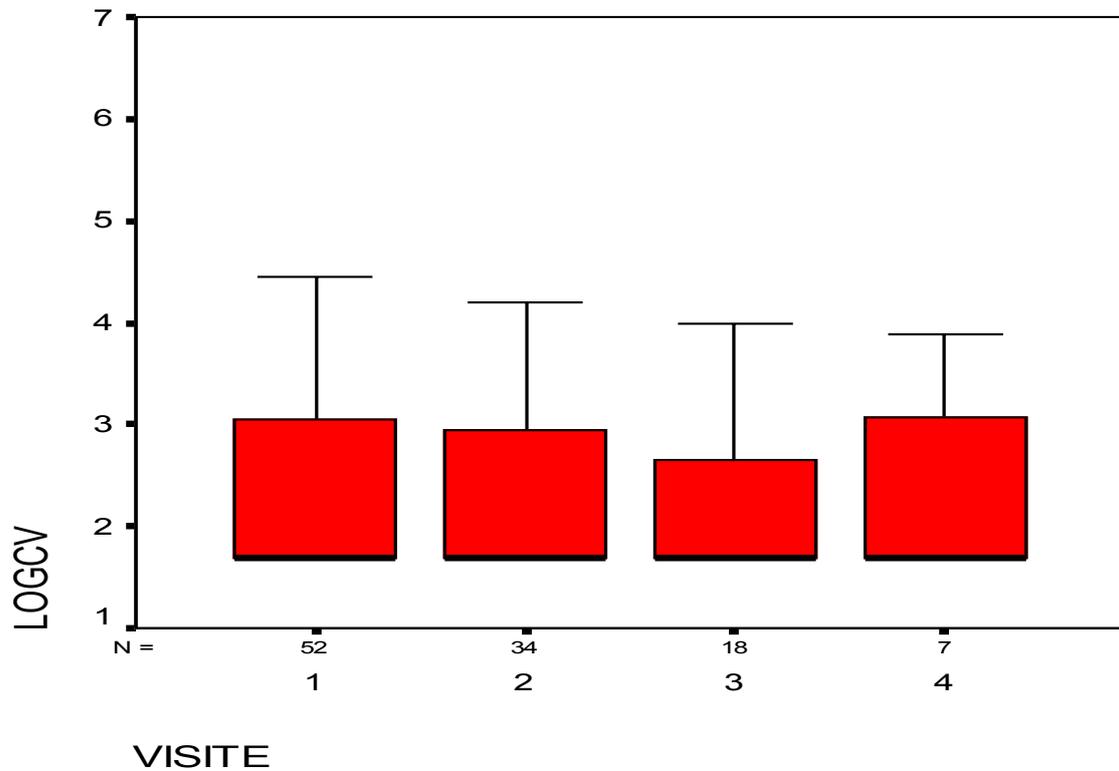


Figure 14 : Représentation de l'évolution de la charge virale des patients au cours du suivi

En ce qui concerne la charge virale exprimée en log, il n'y a pas dans l'ensemble une variation des données au cours du suivi. Cependant une légère augmentation de la charge virale se manifeste au moment de la quatrième visite (M12).

CHAPITRE : 3

RESULTATS ET DISCUSSION

3-Discussion

Dans l'ISAARV initié en 1998 les patients infectés par le VIH-2 n'ont pu bénéficier de cette prise en charge qu'à partir de 2001. Ces patients présentent une résistance naturelle aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (Ndour *et al.*, 2006). Il est important pour une prise en charge optimale de disposer d'une sérologie discriminative de qualité. Cette dernière a été vérifiée pour tous les patients en utilisant la technique immunoenzymatique ImmunoComb® II Bispot HIV-1 et 2. Pour le suivi, la numération des lymphocytes TCD4+ et la charge virale des patients respectivement sur Facscount et Nuclisens EasyQ ont été réalisées.

➤ Qualité des résultats

- Population d'étude

Notre population d'étude est de 55 patients alors que le nombre de patients infectés par ce virus dépasse largement ce nombre. La limite de l'analyse à ces 55 patients est du fait que l'ensemble des patients avait déjà commencé leur traitement avant la disponibilité de cette technologie d'une part et d'autre part les perdus de vue ont été sortis de l'analyse. Pour une meilleure appréciation du traitement ARV, nous nous sommes limités aux réguliers.

- Matériel et méthode

Pour le Nuclisens EasyQ, la mesure en cinétique de l'amplification à la fois pour la cible et le calibrateur ou contrôle interne est témoin de toutes discordances. Les variations d'efficacité de l'extraction n'affectent pas le résultat final. Les variations d'amplification entre le calibrateur et la cible sont atténuées. La présence d'inhibiteur est immédiatement révélée par le calibrateur. Les paramètres comme la sensibilité, la précision et la détection pour tel ou tel groupe de VIH-2 ont été étudiés par Rodés *et al.* et donne de résultats satisfaisants (Rodés *et al.*, 2005, 2007).

En ce qui concerne le Facscount, il y a un calcul direct des valeurs absolues grâce aux billes. Le système permet une analyse précise, simplifiée et complète des résultats. Les précautions initiales comme la qualité du prélèvement et le contrôle interne de l'appareil sont à l'origine de la qualité des résultats.

➤ Evaluation des résultats

Notre population d'étude de 55 patients infectés par le VIH-2 se compose de 58,2% de femme et 41,8% d'homme, soit un sexe ratio de 1,39. Ces résultats confirment la féminisation de l'épidémie du VIH précédemment décrite (Mboup *et al.*, 2006).

Concernant le stade clinique, à l'inclusion, 52,6% des patients étaient au stade B et 31,6% au stade C, ce qui montre que la majorité de cette population était à un stade d'immunodépression avancée.

- Le suivi biologique des patients sous traitement ARV

Les patients recrutés bénéficient d'abord d'une détermination du taux de lymphocyte TCD4+ et de la charge virale avant tout traitement ; c'est le stade initial J0 ou point de départ du traitement ARV. L'étude de l'efficacité de ce traitement au plan biologique se fait comme suit :

- NFS, taux de lymphocytes TCD4+ et charge virale après premier mois du traitement, stade M1.
- NFS, taux de lymphocytes TCD4+ et charge virale tous les six mois qui suivent selon le bilan M6, M12, M24....

Une efficacité du traitement est évaluée en fonction de l'évolution de ces paramètres cités ci-dessus que sont le poids, le taux de lymphocytes TCD4+ et la charge virale.

→ Evolution du taux de lymphocytes TCD4+ des patients

Il y a une augmentation du taux de lymphocytes TCD4+ des patients durant le traitement. Ils confirment les travaux de Ndour *et al.* , en 2006 qui ont constaté une évolution similaire sur une cohorte de 35 patients HIV-2 sous trithérapie antirétroviral (Ndour *et al.* , 2006). Sur le plan statistique, ces variations ne sont pas significatives entre J0 à M12. Cette différence a été déjà décrite par Adjé-Touré *et al.* , en 2003 sur une cohorte de 18 patients infectés par le HIV-2 (Adjé-Touré *et al.* , 2003).

Ce taux de lymphocyte TCD4+ est le marqueur du niveau d'immunodépression ainsi que du risque de survenu d'infection opportunistes et de mortalité. Il permet aussi de déterminer le statut immunitaire, le stade de la maladie et la décision de début d'intervention thérapeutique ; mais ne mesure pas l'activité du virus (Garrait *et al.* , 2000).

→ Evolution de la charge virale des patients.

Les résultats recueillis après une médiane de 12 mois de suivi des patients montrent une évolution à peu près stable de la charge virale (exprimée en log) dans l'ensemble des patients avec une légère hausse au niveau de la quatrième visite. Cette stabilité de la charge virale de J0 à M12 a été aussi évoquée par Adjé-Touré *et al* en 2003 (Adjé-Touré *et al*, 2003).

Cette quantification de l'ARN virale plasmatique du virus permet de prédire la progression de la maladie indépendamment du taux de lymphocytes TCD4+. Elle est le reflet de la vitesse d'évolution tandis que le taux de lymphocytes TCD4+ renseigne sur l'importance de déficit immunitaire. C'est le principal outil de suivi de l'efficacité thérapeutique sous traitement ARV (Garrait *et al.* , 2000).

Cette quantification de l'ARN plasmatique de nos patients effectuée sur Nuclisens EasyQ a été aussi faite par Rodés *et al* en 2007. Ils montrent que cette technique est capable de détecter les HIV-2 du sous groupe A avec une bonne linéarité (Rodés *et al.* , 2007).

La détermination de la charge virale plasmatique, associée à la mesure du taux de lymphocytes TCD4+ donne une image complète du statut immunitaire et de l'activité virale à tous les stades de la maladie. Cette relation entre taux de lymphocytes TCD4+ et charge virale plasmatique a été évoquée par Ariyoshi *et al* qui soulignent une diminution annuelle de 1,75 du taux de lymphocytes TCD4+ pour une augmentation d'une \log_{10} de l'ARN exprimé en copies/ml (Ariyoshi *et al.* , 2000).

→ Evolution du poids des patients

Il est aussi évident qu'après cette évolution de la charge virale plasmatique et du taux de lymphocytes TCD4+, il s'en suit une augmentation du poids des patients. Ces données résument une amélioration du niveau de santé des patients. Ce gain pondéral des patients HIV-2 sous traitement ARV confirme les études de Adjé-Touré *et al* en 2003 qui montre un gain pondéral constant des ses patients au cours du traitement (Adjé-Touré *et al.* , 2003).

→ HIV-2 et traitement ARV

La majorité de nos patients infectés par le VIH-2 dispose d'un traitement ARV composé de 2 INRT plus un IP.

D'après les données sur l'évolution de charge virale, du taux de lymphocytes TCD4+ et du poids des patients, nous pouvons affirmer une efficacité de ce traitement sur la population d'étude. Ce traitement antirétroviral VIH-2 est aussi efficace sur le VIH-1 que sur le VIH-2, à condition de bien choisir l'inhibiteur de protéase (Adjé-Touré *et al.* , 2003).

L'efficacité est évaluée par le nombre de lymphocytes TCD4+ et la charge virale 3 à 4 fois par an avec une mesure précoce éventuelle un mois après une modification de traitement (Garrait *et al.*, 2000).

L'efficacité de ces ARV utilisés ici pour le traitement des patients infectés par le VIH-2 notamment l'AZT a été démontré par Ekpini *et al* sur une cohorte de patients infectés par le VIH-1 (Ekpini *et al.* , 2002).

Cependant, on note une légère hausse de la charge virale vers la 4^{ème} visite. Cela peut être causé d'une part par des variations dans le traitement comme les arrêts volontaires d'une ou de toutes les molécules ARV, d'autre part, par un éventuel échec virologique qui précède toujours l'échec immunologique et clinique. Cette dernière peut justifier une résistance au traitement ARV induite par des mutations au niveau des gènes de reverse transcriptase et de la protéase (Colson *et al.* , 2004 ; Ben M'Barek *et al.* , 2006).

Cet échec virologique observé peut être dû à la non potentialisation des IP par le ritonavir. Ce qui fait que les patients reçoivent pour la plupart des quantités sous optimale de médicaments. Cette utilisation du ritonavir n'est pas encore en vigueur au Sénégal car cette molécule exige une chaîne de froid pour sa conservation chez le patient et ceci n'est pas toujours possible. Pour ces patients suivis, l'amélioration de la qualité de vie par les antirétroviraux a été confirmée car aucun cas de décès n'a été décelé durant la période de suivi.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Si aujourd'hui le SIDA continue d'être un problème majeur de santé publique dans les pays du tiers monde, cela peut être atténué grâce à la chimiothérapie antirétrovirale.

C'est ainsi que l'Initiative Sénégalaise d'Accès aux Antirétroviraux initiée en 1998 a permis d'améliorer la durée de vie des patients infectés par le VIH-1. Et depuis 2001, ceux infectés par le VIH-2 ont pu en bénéficier dans le pays. Cependant, pour améliorer la prise en charge des patients infectés par le VIH-1 en général et par le VIH-2 en particulier, il faut un bon suivi biologique des patients. C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude qui a eu lieu à Dakar où la plupart des patients infectés par le VIH-2 sont pris en charge par l'ISAARV.

Pour la mesure du taux de lymphocytes TCD4⁺ des patients, nous avons utilisé la technique du Facscount qui fonctionne avec le principe de la cytométrie en flux et donne en valeurs absolues ce taux de lymphocytes TCD4⁺ des patients à chaque visite.

En ce qui concerne la quantification de la charge virale plasmatique, elle est faite par la technique du Nuclisens EasyQ HIV-1 v 1.1 de nos laboratoires de Biomérieux. C'est une technique qui utilise une extraction magnétique avec la chimie de Boom et une amplification et détection en temps réel avec le principe de NASBA. La charge virale de ces patients est ainsi déterminée de façon séquentielle suivant les visites.

Concernant le statut immunitaire des patients et niveau de répllication virale, la mesure du taux de lymphocytes TCD4⁺ et la charge virale plasmatique ont été effectuées et 55 patients ont donné des résultats exploitables.

Cette population se compose de 58,2% de femme et 41,8% d'hommes avec un âge moyen de 46 ± 2 ans. À l'inclusion, 15,8% des patients étaient au stade A, 52,6% au stade B et 31,6% au stade C, 45,1% avaient un taux de LTCD < 200 cellules/mm³ avec une médiane de 94,0 cellules/mm³. La valeur médiane en poids et charge virale était de 60,3 et 1,69 log.

Après une médiane de 12 mois de suivi, aucun décès n'a été déploré ni de perdu de vue. La médiane du taux de LTCD4 est de 288,0 cellules/mm³, le poids médian de 71,0 kg et la charge virale médiane de 1,69 log.

Ces résultats montrent une efficacité du traitement ARV chez les patients infectés par le VIH-2 au Sénégal. Il est aussi à signaler que le Nuclisens EasyQ HIV-1 v 1.1 quantifie le VIH-2 et permet d'inclure ce marqueur dans le suivi des patients VIH-2 au Sénégal. Cependant, il serait intéressant de déterminer sa sensibilité par rapport aux sous groupes de notre population d'étude.

La localisation du plateau technique immunologique à Dakar constitue aussi une contrainte majeure dans le suivi biologique de l'ensemble des patients infectés par ce virus. Il serait donc

important de décentraliser certaines activités comme la détermination de la charge virale plasmatique à partir du papier filtre. Pour mieux évaluer les résultats fournis par le Nuclisens EasyQ, il est possible de la comparer avec d'autres techniques alternatives comme la PCR en temps réel. Une telle comparaison est faite par Rodés et al en 2007 en comparant cette technique avec celle de la culture puis comptage sur microscopie électronique.

Ce travail pourrait aussi être amélioré par une sensibilisation des patients sur le respect des visites et traitement, potentialiser les IP par le ritonavir surtout la forme thermostable mieux adaptée à notre contexte et une étude sur une éventuelle résistance associée aux mutations des gènes de la RT et de la protéase qui est à l'origine de l'échec virologique qui s'annonce à partir de la quatrième visite.

BIBLIOGRAPHIE

1- Adje-Toure, C. A., Cheingsong R., Garcia Lerma G., Eholie S., Borget M-Y., Bouchez J-M., et al (2003). "Antiretroviral therapy in HIV-2-infected patients: changes in plasma viral load, CD4+ cell counts, and drug resistance profiles of patients treated in Abidjan, Ivory Coast." *AIDS* 17: S49-S54.

2- Alizon, M., Clavel F. (1989). Les VIH : de leur découverte à leur analyse moléculaire. France, *Flammarion Medecine Science*. Pages : 21-108

3- Anglaret, X. (2006). "Affections opportunistes sévères de l'adulte infecté par le VIH en Afrique Sub-Saharienne." *Medecine Tropical* 66: 343-345.

4- Ariyoshi, K., Jaffar S., Alabi A. S. Berry N., van der Loeff M. S., Sabally S., N'Gom P. T., Corrah T., Tedder R., and Whittle H. (2000). "Plasma RNA viral load predicts the rate of CD4 cell decline and death in HIV-2-infected patients in west Africa." *AIDS* 14: 339-344.

5- Auwerx, J., Stevens M., Van Rompay An R., Bied L. E., Ren J., De Clercq E., Ôberg B., Stammers D. K., Karlsson A., and Balzarini J. (2004). "The Phenylmethylthiazolylthiourea Non nucleoside Reverse Transcriptase (RT) Inhibitor MSK-076 Selects for a R esistance Mutation in the Active Site of Human Immunodeficiency Virus type 2 RT." *Journal of virology* 78(14): 7427-7437.

6- Bardeguez, A. D., Shapiro D. E., Mofenson L. M., Coombs R., Frenkel L. M., Fowler M. G., Huang S., Sperling R. S., Cunningham B., Gandia J., Zorrilla C. D., Jones T., Jo O'Sullivan M. (2003). "Effect of cessation of Zidovudine prophylaxis to Reduce Vertical Transmission on Maternal HIV Disease Progression and Survival." *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 32: 170-181.

7- Barin, F. (2006). "Diversité du VIH : origine, évolution et conséquences." *Medecine Tropical* 66: 338.

8-Barre-Sinoussi, F. C. J. C. R. F., Nugeyre M. T., Chamaret S., Gruest J., et al (1983). "Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from patient at risk for acquired immune deficiency syndrome." *AIDS* 220(4599): 868-871.

- 9- Blaak, H., Boers P. H. M., Gruters R. A., Schuitemaker H., van der Ende M. E., and Osterhaus A. D. M. E.** (2005). "CCR5, GPR15, and CXCR6 Are Major Coreceptor of Human Immunodeficiency Virus Type 2 Variants Isolated from Individuals With and without Plasma Viremia." *Journal of Virology* 79(3): 1686-1700.
- 10- Bock, P. J., and Markovitz D. M.** (2001). "Infection with HIV-2." *AIDS* 15(5): s35-s45.
- 11- Brun-Vezinet, F.** (1989). Détection des virus et des antigènes viraux dans le sang et les humeurs. Méthodes diagnostiques de l'infection par VIH. France, *Flammarion Medecine Science*. Pages : 145-154
- 12- Brun-Vezinet, F., Damond F., Descamps D., Simon F.** (2000). "Virus de l'immunodéficience humaine." *Encycl. Med. Chir., Maladies infectieuses, Paris* 8: c50-b15 10.
- 13- Butler, I. F., Pandrea I., Marx P. A., Apetrei C.** (2007). "HIV genetic diversity: biological and public health consequence." *Curr HIV Res.* 5(1): 23-45.
- 14- Canestri, A., Mboup S., Touré-Kane C., Delaporte E., Sow P. S., Faye M. A., Guéye M., Peytavin G., Dalban C., Girard P-M., and, Ndoeye I.** (2003). "Onse-a-day highly active antiretroviral therapy in treatment-naive HIV-1-infected adults in Senegal." *AIDS* 17: 1017-1022.
- 15- Cavaco-Silva, P., Taveira N.C., Rosado L., Lourenco M. H., Moniz Pereira J., Douglas N.W., Daniels R.S., and Santos-Ferreira M.O.** (1998). "Virological and Molecular demonstration of human Immunodeficiency Virus type 2 vertical Transmission." *Journal of virology* 72(4): 3418-3422.
- 16- Choisy, M., Woelk C. H., Guégan J.-F., and Robertson D. L.** (2004). "Comparative Study of Adaptive Molecular Evolution in Different Human Immunodeficiency Virus Groups and Subtypes." *journal of Virology* 78(4): 1962-1970.
- 17- Clavel F., Guetard D., Brun-Vezinet F., Chamaret S., Rey M. A., Santos-Ferreira M. O., et al.** (1986) Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science*:233(4761):343-6

- 18- Coffin, J.-M.** (1992). "Structure and Classification of retroviridae." *In Levy J. A., New York. Edition : The retroviridae* :1 15-50.
- 19- Coffin, J.-M., Essex M., Gallo R., Graf T. M., Hinuma Y., Hunter E.** (2003). "Retroviridae with ICTV report." http://life.bio2.edu/Ictv/fs_retro.html.
- 20- Colson, P., Henry M., Tourres C., Lozachmeur D., Gallais H., Gastaut J. A., Moreau J., And Tamalet C.** (2004). "Polymorphism and Drug-Selected Mutations in the Protease Gene of Human Immunodeficiency Virus Type 2 from Patients Living in Southern France." *J Clin Microbiol* 42(2): 570-577.
- 21- Corbeau, P.** (2006). "L'impact du niveau d'expression du corécepteurCCR5 sur l'histoire naturelle de l'infection par VIH." *Virologie* 10: 279-286.
- 22- Coulaud, J. P., Girard P. M.** (1989). Histoire naturelle de l'infection par VIH chez l'adulte. France, *Flammarion medecine Science*. Pages: 217-227
- 23- Damond, F., Apetrei C., Robertson DL., Souquiere S., Lepretre A., Matheron S., et al** (2001). "Variability of human immunodeficiency virus type 2 (hiv-2) infecting patients living in France." *Virology* 280: 19-30.
- 24- Damond, F., Gueudin S., Pueyo S., Farfara I., Robertson D. L., Descamps D., Chene G., Matheron S., Campa P., Brun-Vezinet F., and Simon F.** (2002). "Plasma RNA viral load in human immunodeficiency virus type 2 s ubtype A and subtype B infection." *J. Clin. Microbiol* 40: 3654-3659.
- 25- De la Tribonnière, X., Bocket L., Maniez-Montreuil F.** (1999). Tests biologiques de diagnostic et de suivi pour l'infection à VIH. Paris, Tourcoing, Mouton, Y. Pages : 8-15
- 26- Delaugerre, C., Chaix M.-L.** (2006). "Résistance du V IH aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)." *Virologie* 10: 255-266.

- 27- Diop, N. H.** (2003). Quantification de l'ARN viral plasmatique du VIH-1 : comparaison des techniques de PCR en temps réel et bDNA(r). *Faculté des Sciences et Techniques*. Dakar, Université Cheikh Anta Diop.
- 28- Dormont, D.** (1989). Bases biologiques de la thérapeutique antirétrovirale. France, *Flammaron Medecine Science*. Pages: 181-184
- 29- Ekpini, R., Nkengasong JN., Sibailly T., Maurice C., Adjé C., Monga BB., Roels TH., Greenberg AE., Wiktor SZ.** (2002). "Changes in plasma HIV-1-RNA viral load and CD4 cell counts, and lack of zidovudine resistance among pregnant women receiving short-course zidovudine." *AIDS* 16(4): 625-630.
- 30- Franchini, G., Fargnoli K. A., Giombini F., Jagodzinski L., De Rossi A., Bosch M., Biberfeld G., Fenyo E. M., Albert J., Robert C., and, Wong-Staal F.** (1989). "Molecular and biological chacterisation of a replication competent human immunodeficiency type 2 (HIV-2) proviral clone." *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 86: 2433-2437.
- 31- Freed, E. O., and, Susan R. R.** (2004). *Retroviruses 2004 : Review of the 2004 C old Spring Harbor. Retroviruse conference, USA, University of Pennsylvania School of Medecine.*
- 32- Gallo, R. C., Sarin P. S., Gelmann E. P., Robert-Guroff M., Richardson E., Kalyanaramann V. S., et al** (1983). "Isolation of human T-cell Leukemia virus in acquired immune deficiency syndrome." *AIDS* 220(4599): 865-867.
- 33- Gao, F., Bailes E., Robertson D. L., Chen Y., Rodenburg C. M., Michael S. F., Cummins L. B., Arthur L. L., Peeters M., Shaw G. M., Sharp P. M., Hahn B. H.** (1999). "Origin of HIV-1 in the Chimpanzee Pan troglodytes troglodytes." *Nature* 397(6718): 385-386.
- 34- Garrait, V., Molina J. M.** (2000). *Infection par le VIH. Paris. Pages : 15-20*
- 35- Girard, P. M., Katlama C., Pialoux G.** (2004). "VIH." *Edition DOIN*.
- 36- Gluckman, J.-C.** (1989). *Réponse immune au VIH.*

Sida et infection par VIH. Montagnier L., Rozenbaum W. and Gluckman J. C. France, *Flammarion Medecine Science*: 135-142.

37- Halen, J. (2004). SIDA Afrique. Continent en crise. Zimbabwe, SAfAIDS.

38- Helene, D. G., Gene L. H. (2001). "Global impact of Human Immunodeficiency Virus and AIDS." *Clinical Microbiology* 14(2): 327-335.

39- Hirsch, V. M., Olmsted R. A., Murphey-Corb M., purcell R. A., Jonhson P. R., (1989). "An African primate Lentivirus (SIVsm) cosely related to HIV-2." *Nature* 339(6223): 389-392.

40- Isaka, Y., Miki S., Kawauchi A., Suyama A., Sugimoto H., Adachi A., MLIura T., Hayami M., Yoshie O., Fujiwara T., and Sato A. (2001). "A single amino acid change at Leu-188 in the reverse transcriptase of HIV-2 and SIV renders them sensitive to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor." *Arch. Virol.* 146: 743-755.

41- Jacobson, J. M., Turner B. J., Abrutyn E. (2007). "Trials That Matter: CD4+ T-Lymphocyte Count-Guided Interruption of Antiretroviral Therapy in HIV-Infected Patients." *Annals of Internal Medecine* 146(9): 682-684.

42- Jacomet, C. (1997). "Le diagnostic de l'infection par le VIH." *Le dossier du praticien : Guide Sida*: 78-90.

43- Kanki, P. J. (1992). Virologic and Biologic Features OF HIV-2. *AIDS and Other Manifestations of HIV Infection*. W. G. P. New York: 85-93.

44- Kim, S. S., Kim E. Y., Park K. Y., Suh S. D., Park H. K., Shin Y. O., et al (2000). "Introduction of human immunodeficiency virus 2 infection into South Korea." *Acta. Virol.* 44: 15-22.

45- Klatzmann, D. (1989). Physiopathologie de l'infection par VIH. Sida et infection par VIH. Montagnier L., Rozenbaum W. and Gluckman J. C. France, *Flammarion Medecine Science*: 123-131.

- 46- Lemey, P., Pybus G. O., Wang B., Saksena K.N., Salemi M., and Vadamme A. M.** (2003). "Tracing the origin and the history of the HIV-2 epidemic." *PNAS* 100(11): 6588-6592.
- 47- Lyons, F. E., Coughlan S., Byrne C. M., Hopkins S. M., Hall W. W., Mumcahy F.M.** (2005). "Emergence of antiretroviral resistance in HIV-positive women receiving combination antiretroviral therapy in pregnancy." *AIDS* 19: 63-67.
- 48- Mboup, S.** (2006). "Le sida en Afrique et l'organisation de la lutte." *Medecine Tropicale* 66: 342.
- 49- Mboup, S., Diouf O., Gaye-G. A., Gueye. N. A.** (2006). "Données épidémiologique du VIH/SIDA au Sénégal."
- 50- McGarrigle, C. A., Mercer C. H., Fenton K.A., Copas J.A., Wellings K., Erens B. and Johnson A. M.** (2005). "Investigating the relationship between HIV testing and risk behaviour in Britain: National Survey of Sexual Attitudes and Lifestyles 2000." *AIDS* 19: 77-84.
- 51- Montagnier, L.** (1989). Les rétrovirus. France, *Flammarion Medecine Science*. Pages : 81-89
- 52- Montagnier, L.** (1993). "SIDA. Les faits, l'espoir. *Huitième édition*." 10-15.
- 53- Mørner, A., Bjørndal A., Leandersson A. C., Albert J., Björling E., and Jansson M.** (2002). "CCR5 or CXCR4 is required for efficient infection of peripheral blood mononuclear cells by promiscuous human immunodeficiency virus types 2 primary isolates." *AIDS* 18: 193-200.
- 54- Peeters, M., Kane C. T., and Nkengasong J. N.** (2003). "Genetic diversity of HIV in Africa: impact on diagnosis treatment, vaccine development and trials." *AISD* 17: 1-15.
- 55- Perno, C. F., Cozzi-Lepri A., Balotta C., Forbici F., Violin M., Bertoli A., Facchi G., Pezzotti P., Cadeo G., Tositti G., Pasquinucci S., Pauluzzi S., Scalzini A., Salassa B., Vincenti A., Phillips A. N., Dianzani F., Appice A., Angarona G., Monna L., Ippolito G., Moroni M., and A. d'Arminio Monforte** (2001). "Secondary mutations in the protease region

of human immunodeficiency virus and virologic failure in drug-naïve patients treated with protease inhibitor-based therapy." *J.Infect.dis.* 184: 983-991.

56- Phillips, K. A., Bayer R., and Chen J. L. (2003). "New Centers for Disease Control and Prevention's Guidelines on HIV Counselling and Testing for the General Population and Pregnant Women." *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 32: 182-191.

57- Pieniazek, D., Rayfield M., Hu D. J., NKengasong J. N., Soriano V., Heneine W., Zeh C., Agwale S. M., Wambebe C., Odama L., Wiktio S. Z., and Kalish M. L. (2004). "HIV-2 protease sequences of subtypes A and B harbor multiple mutations associated with protease inhibitor resistance in HIV-1." *AIDS* 18: 495-502.

58- Popper, S. J., Sarr A.D., Travers K.U., Ndiaye A.G., Mboup S., Essex M.E. and Kanki P.J. (1999). "Lower Human Immunodeficiency Virus (HIV) Type 2 Viral Load Reflects the Difference in Pathogenicity of HIV-1 and HIV-2." *The Journal of Infectious Diseases* 180: 1116-1121.

59- Ren, J., Bird L. E., Chamberlain P. P., Stewart-Jones G.B., Stuart D. I. and Stammers D.K. (2002). "Structure of HIV-2 reverse transcriptase at 2.35-Å resolution and the mechanism of resistance to non-nucleoside inhibitors." *PNAS* 99(22): 14410-14415.

60- Rodes, B., Holguin A., Soriano V., Dourana M., Mansinho K., Antunes F., and Gonzalez-Lahoz J. (2000). "Emergence of drug resistance mutations in human immunodeficiency virus type 2-infected subjects undergoing antiretroviral therapy." *J. Clin. Microbiol.* 38: 1370-1374.

61- Rodés, B., Toro C., Jiménez V., Soriano V. (2005). "Viral réponse to antiretroviral therapy in a patient coinfecte with HIV type 1 and 2." *Clin Infect Dis.* 41(2): 19-21.

62- Rodés, B., Sheldon J., Toro C., Cuevas L., Pérez-Pastrana E., Herrera I., and Soriano V. (2007). "Quantitative Detection of Plasma Human Immunodeficiency Virus Type 2 Subtype A RNA by the NucliSens EasyQ Assay (Version 1.1)." *Journal of Clinical Microbiology* 45(1): 88-92.

63- Rouzioux, C. (1989). Détection des anticorps spécifiques. Sida et infection par VIH. Montagnier L., Rozenbaum W. and Gluckman J.C. France, *Flammarion Medecine Science*: 150-154.

64- Santiago, M. O., Range F., Keele B.F., Li Y., Bailes E., Bibollet-Ruche F., Fruteau C., Noë R., Peeters M., Brookfield J. F.Y., Shaw G. M., Sharp P. M., and Hahn B. H. (2005). "Simian Immunodeficiency Virus Infection in Free-Ranging Sooty Mangabey (*Cercocebus atys*) from the Taï Forest, Côte d'Ivoire: Implications for the Origin of Epidemic Human Immunodeficiency Virus Type 2." *Journal of Virology* 79(19): 12515-12527.

65- Simon, F., Mauclore P., Roques P., Loussert-Ajaka I., Muller-Trutwin M. C., Saragosti S., Georges-Courbot M. C., Barre-Sinoussi F., and Brun-Vezinet F. (1998). "Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and O." *Nat. Med.* 4: 1030-1037.

66- Soriano, V., Gomes P., Heneine W., Holguin A., Doruana M., Antunes R., Mansinho K., Switzer W.M., Araujo C., Shanmugam V., Lourenço H., Gonzalez-lahoz J., and Antunes F. (2000). "Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) in Portugal: Clinical Spectrum, Circulating Subtypes, Virus Isolation, and plasma Viral Load." *journal of Medical Virology* 61: 111-116.

67- Soro, B. N., Gershy-Damet (2) G. M., Rey (3) J. L. (1993). "La pathogénicité du virus de l'immunodéficience humaine VIH2 vue par des épidémiologistes." *Medecine Tropicale* 53: 45-52.

68- Takehisa, J., Osei-Kwasi M., Ayisi N. K., Hishida O., Miura T., Igarashi T., Brandful J., Ampofo W., Netty V. B., Mensah M., Yamashita M., Ido E., and Hayami M. (1997). "Phylogenetic analysis of HIV type 2 in Ghana and intrasubtype recombination in HIV type 2." *AIDS Res. Hum. Retroviruses* 13: 621-623.

69- Van Dyck, E., Mheus A.Z., Piot P. (2000). *Diagnostic au laboratoire des maladies sexuellement transmissibles*. Genève. Pages : 88-101

70- Van Griensven, G. J. P., Coutinho R.A. (1989). Modes de transmission du VIH. Sida et infection par VIH. Montagnier L., Rozenbaum W. and Gluckman J. C. France, *Flammarion Medecine Science* 5: 34-43.

71- Yamaguchi, J., Devare SG., and Brennan CA. (2000). "Identification of a new HIV-2 subtype based on phylogenetic analysis of full length genomic sequence." *AIDS* 16: 925-930.

72- Zheng, N. N., Kiviat N.B., Sow P.S., Hawes S.E., Wilson A., Diallo-Agne H., Critchlow C.W., Gottlieb G.S., Musey L. and McElrath M.J. (2004). "Comparison of Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Specific T-Cell Responses in HIV-1 and HIV-2-Infected Individuals in Senegal." *Journal of Virology* 78(24): 13934-13942.

SITES INTERNET CONSULTES

1- <http://perso.orange.fr/jean-jacques>

2- <http://wwwn.cdc.gov/dls/ila/cd/zambia/files/CD4Testing.ppt#39>

Titre : Suivi immuno-virologique des patients infectés par le VIH-2 au Sénégal

Nom du candidat : **Moussa Thiam**

Nature du mémoire : **DEA de Biologie Animale**

Jury : **Président** : Mr. Ngor Faye, Maître de conférences agrégé FST

Membre : Mr. Mbacké Sembène, Maître de conférences agrégé FST

Mme. Ndéye Coumba Touré-Kane, Maître de conférences agrégé ESP

Mr. Tandakha Ndiaye Diéye, Maître de conférences agrégé FMPOS

Soutenu le 27 Octobre 2007

La chimiothérapie antirétrovirale a grandement amélioré la qualité de vie des patients infectés par le VIH-1. Celle-ci nécessite un bon suivi biologique en l'occurrence la détermination de la charge virale plasmatique des patients infectés par le VIH-2. C'est dans cette initiative que s'inscrit ce travail qui a pour objectif de déterminer la charge virale plasmatique de ces derniers en utilisant la technologie Nuclisens des laboratoires Biomérieux et la mesure du taux de lymphocytes TCD4+ sur Facscount de façon séquentielle.

De 2004 à 2007, 122 patients infectés par le VIH2 à Dakar sont pris en charge dans le cadre de l'Initiative Sénégalaise d'Accès aux Antirétroviraux (ISAARV). Ces patients, inclus entre 2001 et 2007, ont bénéficié de la quantification de la charge virale plasmatique selon le schéma suivant : J0, M1 puis tous les six mois pour patients naïfs et à l'inclusion, puis tous les six mois pour les patients prétraités. De plus le taux de lymphocytes TCD4 a été mesuré tous les six mois sur Fcscount. Le traitement ARV associait deux INRT et un IP

Notre analyse s'est portée sur les 55 premiers patients naïfs inclus dans l'ISAARV. Cette population se compose de 58,2% d'hommes et de 41,8% de femmes avec un âge moyen de 46 ± 2 ans. A l'inclusion, 15,8% des patients étaient au stade A, 52,6% au stade B et 31,6% au stade C, 45,1% avaient un taux de LTCD < 200 cellules/mm³ avec une médiane de 90,5 cellules s/mm³, Les valeurs médianes en poids et charge virale étaient de 60,3 et 1,69 log. Après une médiane de 12 mois de suivi, aucun décès n'a été déploré et ni de perdu de vue. La médiane du taux de LTCD4 est de 288,0 cellules/mm³, le poids médian de 71,0 kg et la charge virale médiane de 1,69 log.

A l'issue de cette étude, les résultats montrent une efficacité du traitement chez les patients. Le Nuclisens EasyQ quantifie le VIH-2 et permet d'inclure ce marqueur dans le suivi des patients. Cependant, la sensibilisation des patients sur le respect des visites et du traitement, la potentialisation des IP par le ritonavir et une étude sur la résistance à l'origine d'un échec virologique est à déterminer.

Mots clés : VIH-2, Suivi immuno-virologique, Charge virale plasmatique, Taux de L TCD4+