

# THESE

En vue de l'obtention du : **DOCTORAT**

Structure de Recherche : Laboratoire de biologie de pathologies humaines

Discipline : Biologie

Spécialité : Biochimie-Immunologie

Présentée et soutenue le : **29/02/2020**

Par :

**Houda HABAN**

## **STATUT IMMUNITAIRE VIS-A-VIS DES VACCINS DE L'HEPATITE B ET DE LA ROUGEOLE CHEZ DES ENFANTS INFECTES PAR LE VIH AU MAROC**

Devant le jury composé de :

<b>Said AMZAZI</b>	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat	Président/Directeur de Thèse
<b>Abdelaziz BENJOUAD</b>	PES	Université Internationale, Rabat	Co-Directeur de Thèse
<b>Elmir ELHARTI</b>	Dr	Institut National d'Hygiène, Rabat	Encadrant
<b>Youssef BAKRI</b>	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat	Examineur/Rapporteur
<b>Soumia BENCHEKROUN</b>	PES	Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Mohammed V, Rabat	Examineur/Rapporteur
<b>Mustapha ENNAJI</b>	PES	Faculté des Sciences et Techniques, Mohammedia Université Hassan II, Casablanca	Examineur/Rapporteur
<b>Nadia DAKKA</b>	PES	Faculté des Sciences, Université Mohammed V, Rabat	Examineur/Rapporteur
<b>Hicham OUMZIL</b>	PA	Institut National d'Hygiène, Rabat	Invité

# Dédicaces

## **Ma mère**

J'aurais bien aimé que vous soyez avec moi comme vous l'étiez toujours, mais vous nous avez quittés très tôt. Tous les mots ne sauraient exprimer le vide que vous avez laissé dans ma vie, que ce travail soit une reconnaissance à vos sacrifices que vous avez fait pour nous

## **Ma famille**

Je tiens à remercier ma très chère famille de m'avoir toujours soutenue et encouragée. Mon cher père, je suis devenue ce que je suis grâce à vos efforts et votre soutien, j'espère que vous trouvez dans ce travail le témoignage de ma gratitude et mon respect le plus profond.

Je remercie mes très chères sœurs Hanan, Rajaa, Meryem et Ilham et mes deux chers frères Zakariaa et Mohamed pour l'encouragement et le soutien

# Avant-propos

Ce travail de recherche est effectué pour l'obtention du diplôme de doctorat de la Faculté des Sciences de Rabat. Il est réalisé dans le cadre de collaboration entre la Faculté des Sciences de Rabat, l'Institut National d'Hygiène et l'Hôpital d'Enfants à Rabat. Il s'agit d'étudier l'immunisation des enfants infectés par le VIH contre le virus de l'hépatite B et de la rougeole, au Maroc.

Je tiens à remercier le Doyen de la Faculté des Sciences de Rabat de m'avoir autorisée de poursuivre mon inscription à l'UFR de « Biochimie-Immunologie » et de m'avoir autorisée de soutenir cette thèse de Doctorat.

Je tiens à remercier également Monsieur le Directeur de l'Institut National d'Hygiène de Rabat de m'avoir acceptée de réaliser ce travail dans son établissement.

Je voudrais exprimer une réelle reconnaissance à Monsieur Said AMZAZI, Professeur d'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat, de m'avoir acceptée en thèse. Je suis consciente que vous êtes très sollicité dans votre poste de ministre, je vous remercie de m'avoir permis la continuité à travers vos collègues et vous m'avez fait le grand honneur d'avoir accepté de présider ce jury.

Mes sincères remerciements vont à Monsieur Abdelaziz BENJOUAD, Professeur d'Enseignement Supérieur et Vice-président de l'Université Internationale de Rabat, d'avoir accepté de diriger ce travail de thèse. Vous étiez toujours disponible à m'écouter, à me conseiller et à m'orienter, merci infiniment d'avoir dirigé et encadré ce travail et d'avoir accepté de le rapporter aussi.

Ma profonde reconnaissance s'adresse à Monsieur Elmir ELHARTI, Docteur à l'Institut National d'Hygiène, de m'avoir acceptée très spontanément dans son laboratoire, pour un travail de recherche, dans le cadre d'une thèse de Doctorat. Vous m'avez encadrée pendant toutes les années de déroulement de ce travail de recherche, vous étiez toujours disponible,

très accueillant et très patient. Votre accompagnement et votre encadrement, m'ont permis d'avancer et d'achever ce travail dans les meilleures conditions. Merci infiniment de m'avoir permis de profiter de votre expérience et de vos connaissances.

Mes plus sincères remerciements s'adressent également à Madame Soumia BENCHEKROUN, Professeur d'Enseignement Supérieur à la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat, de m'avoir acceptée avec une très grande générosité et disponibilité à l'unité de pédiatrie à l'Hôpital d'Enfants de Rabat et de m'avoir facilitée les conditions d'accès et de recrutement des patients dans son service. Merci d'avoir collaborée et participé à la réalisation de ce travail et de l'avoir rapporté et l'évalué aussi.

Je tiens à remercier les rapporteurs et examinateurs de cette thèse : Monsieur Youssef BAKRI et Madame Nadia DAKKA, Professeurs d'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences de Rabat et Monsieur Mustapha ENNAJI, Professeur d'Enseignement Supérieur à la Faculté des Sciences et Techniques de Mohammedia, d'avoir bien voulu évaluer ce travail et accepter de faire le déplacement pour siéger parmi les membres de jury. Vos commentaires et vos remarques permettront d'alimenter la discussion lors de la soutenance et d'améliorer ce travail. Soyez assurés, Madame et Messieurs, de l'expression de mon plus profond respect.

Ma profonde reconnaissance s'adresse aussi à Monsieur Hicham OUMZIL, Professeur Assistant à l'Institut National d'Hygiène, d'avoir participé à l'encadrement et à la réalisation de ce travail et d'avoir collaboré tout au long des travaux de recherche de cette thèse. Votre présence dans ce jury me fait très plaisir.

La réalisation de ce travail a été rendue possible grâce à la contribution de Madame le Docteur Mina SADEK pour l'exploitation et l'analyse statistique des données, de Madame le Docteur Latifa TAJOUNTE de l'Institut National d'Hygiène et de Madame le Professeur Hinda JAMA AHMED, expert de l'OMS, pour les discussions sur ce travail et le don des réactifs nécessaires pour l'évaluation de la réponse vaccinale anti-rougeole.

Enfin, je ne saurais oublier de remercier le responsable du Centre des Ecoles Doctorales de la

Faculté des Sciences de Rabat-Agdal et son personnel de m'avoir facilitée chaque année la réinscription à l'UFR de Biochimie-Immunologie. Je remercie aussi tous le Personnel du département de Virologie à l'Institut National d'Hygiène, et particulièrement le personnel du Laboratoire National de Référence du VIH et des hépatites virales, et le Personnel du service de pédiatrie de m'avoir facilitée l'accès aux prélèvements et aux dossiers des malades (surtout Madame Nawal et Monsieur Hakim).

Enfin je ne peux terminer sans remercier infiniment tous les parents et les tuteurs des enfants pour avoir accepté de me faire confiance en participant à ces activités de recherche.

## Résumé

Les enfants infectés par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), ont tendance à développer une faible réponse immunitaire aux différents vaccins. Au Maroc, tous les enfants y compris ceux infectés par le VIH, sont vaccinés selon le calendrier du Programme National d'Immunisation (PNI). Dans ce travail, nous avons évalué la réponse humorale au vaccin de l'hépatite B et de la rougeole chez un groupe d'enfants infectés périnatalement par le VIH.

L'exploration de la réponse humorale contre le vaccin de l'hépatite B révèle une séroprotection chez 76% des enfants contrôles, contre seulement 29% des enfants infectés par le VIH ( $P < 0.0001$ ). Dans le groupe infecté par le VIH, la moyenne du taux des lymphocytes T CD4 est basse chez les enfants qui n'ont pas montré une réponse protectrice contre le virus de l'hépatite B (VHB), par rapport à ceux qui sont immunisés (23.6% contre 30.4% et  $P = 0.008$ ). Concernant le vaccin de la rougeole, les résultats montrent un taux de séroprotection de 73% des enfants contrôles, contre 26% des enfants infectés par le VIH ( $P < 0.0001$ ). En outre, le taux des T CD4 est plus faible (23% contre 32%,  $P = 0.0005$ ) et la charge virale du VIH est plus élevée ( $2.91 \log_{10} \pm 2.24$  versus  $1.07 \log_{10} \pm 1.5$ ,  $P = 0.043$ ) chez les enfants infectés par le VIH non immunisés contre la rougeole, comparativement à ceux qui sont immunisés.

Ces résultats montrent que la majorité des enfants infectés par le VIH n'ont pas développé une réponse vaccinale protectrice contre le VHB et la rougeole. Par conséquent, ils demeurent susceptibles au risque de contracter l'hépatite B ou la rougeole. Ces données suggèrent la nécessité de l'élaboration et l'implémentation de mesures nationales à même d'optimiser la réponse vaccinale, chez cette catégorie d'enfants.

**Mots clés :** Enfants, VIH, vaccins, hépatite B, rougeole, immunisation, réponse vaccinale.

## Abstract

Children infected with the human immunodeficiency virus (HIV) have a tendency to develop a weak immune response to vaccines. In Morocco, all children, including those infected with HIV, are vaccinated according to the schedule of the National Immunization Program (NIP). In this work, we evaluate the humoral response to hepatitis B and measles vaccines in a group of children infected perinatally by HIV, in Morocco.

In the case of the hepatitis B vaccine, exploration of the humoral response revealed seroprotection in 76% of the control children, compared to only 29% of HIV-infected children ( $P < 0.0001$ ). In the HIV-infected group, the average CD4 T cell count is lower in children who do not have a protective response, compared to those who are immunized against hepatitis B virus (23.6% vs. 30.4% and  $P = 0.008$ ). As for the measles vaccine, our results show that measles IgG are positive in 73% of control children, compared with 26% of HIV infected children ( $P < 0.0001$ ). In addition, the CD4 T cells count were lower (23% vs. 32%,  $P = 0.0005$ ) and the HIV viral load was higher ( $2.91 \log_{10} \pm 2.24$  versus  $1.07 \log_{10} \pm 1.5$ ,  $p = 0.043$ ) in non-immunized children compared to those who are immunized.

These results show that the majority of HIV infected children did not develop a protective immune response against HBV and measles vaccines. As a result, they remain at risk for contracting hepatitis B or measles. These data suggest the necessity for the development and implementation of national measures to optimize the vaccine response in this category of children.

**Keywords:** children, HIV, vaccine, hepatitis B, measles, Immunization, vaccine response.

# Publications

## ❖ Articles:

Houda Haban, Soumia Benchekroun, Mina Sadeq, Abdelaziz Benjouad, Said Amzazi, Hicham Oumzil, and Elmir Elharti. Assessment of the HBV vaccine response in a group of HIV infected children in Morocco. *BMC Public Health* (2017) 17:752.

Houda Haban, Soumia Benchekroun, Mina Sadeq, Latifa Tajounte, Hinda Jama Ahmed, Abdelaziz Benjouad, Said Amzazi, Hicham Oumzil and Elmir Elharti. Seroprevalence of measles vaccine antibody response in vertically HIV infected children in Morocco. *BMC Infectious Diseases* (2018) 18:680.



# Liste des tableaux

Tableau 1 : Différents types des vaccins.....	29
Tableau 2 : Données sur le traitements antirétroviral des enfants infectés par le VIH.....	64
Tableau 3 : Immunophénotypage lymphocytaire de certains échantillons des deux groupes d'enfants.....	67
Tableau 4 : Immunophénotypage lymphocytaire des enfants des deux groupes étudiés. ....	69
Tableau 5 : Charge virale du VIH de certains échantillons d'enfants infectés par le VIH.....	71
Tableau 6 : Densités optiques et titres d'Anti-HBs des calibrateurs utilisés pour la courbe d'étalonnage et titrage des anticorps Anti-HBs des échantillons du test « Monolisa Anti-HBs plus ».....	74
Tableau 7 : DO et titres d'Anti-HBs de certains échantillons des enfants du groupe infecté par le VIH.....	75
Tableau 8 : DO et titres d'Anti-HBs de certains échantillons du groupe contrôle.....	75
Tableau 9 : Réponse humorale au vaccin de l'hépatite B chez les 2 groupes d'enfants.....	76
Tableau 10 : Réponse humorale au vaccin de l'hépatite B chez les enfants du groupe d'enfants contrôle en fonction des données démographiques, biologiques et thérapeutiques.....	78
Tableau 11 : Réponse humorale au vaccin de l'hépatite B chez les enfants du groupe infecté par le VIH en fonction des données démographiques, biologiques et thérapeutiques.....	79
Tableau 12 : DO et titres des IgG antirougeoleuses de certains échantillons des enfants du groupe contrôle .....	85
Tableau 13 : DO et titres des IgG antirougeoleuses de certains échantillons des enfants infectés par le VIH .....	86
Tableau 14 : Réponse humorale au vaccin de la rougeole chez les deux groupes d'enfants...	87
Tableau 15 : Séroprévalence des IgG antirougeoleuses chez les enfants infectés par le VIH en fonction des données démographiques, biologiques et thérapeutiques.....	89

# Liste des figures

Figure 1 : Nouvelles infections à VIH chez les adultes (15 ans et plus), mondialement, 2010-2016 et objectif 2020.....	3
Figure 2 : Epidémiologie du VIH/SIDA au Maroc (Fin 2019).....	4
Figure 3 : Evolution naturelle de l'infection à VIH en absence de traitement antirétroviral.....	7
Figure 4 : Evolution de la charge virale du VIH après le démarrage du TAR.....	12
Figure 5 : Histoire naturelle de l'Hépatite B chez l'enfant .....	16
Figure 6 : Histoire naturelle de la coinfection par l'hépatite B chez l'enfant infecté par le VIH.....	17
Figure 7 : Cas cumulés de rougeole (cas déclarés confirmés et suspects cliniques et épidémiologiques non testés) dans le monde de janvier à mars 2019 (nombre de cas indiqués pour les pays avec au moins 2 500 cas cumulés).....	20
Figure 8 : Nombre de décès de la rougeole estimés dans le monde (2005-2018).....	21
Figure 9 : Vaccination et réponse immunitaire.....	27
Figure 10 : Calendrier vaccinal du Programme National d'Immunisation du ministère de la santé 2012.....	43
Figure 11 : Cytomètre FacsCalibur.....	47
Figure 12 : Automate Abbott PCR en temps réel.....	48
Figure 13 : Intensité de la fluorescence en fonction du nombre de cycle de la PCR en temps réel.....	51
Figure 14 : Etapes de mesure de la charge virale par l'automate Abbott PCR en temps réel.....	52
Figure 15 : Kit « Monolisa™ Anti-HBs PLUS ».....	53
Figure 16 : Kit « Enzygnost Anti-measles virus/IgG ».....	58
Figure 17 : Processus d'inclusion des enfants des 2 groupes.....	61

Figure 18 : Répartition des enfants étudiés en fonction des tranches d'âge.....	62
Figure 19 : Répartition des enfants étudiés en fonction du sexe.....	63
Figure 20 : Stade clinique des enfants du groupe infecté par le VIH, en fonction du sexe.....	64
Figure 21 : Moyenne des lymphocytes des échantillons des deux groupes d'enfants .....	65
Figure 22 : Immunophénotypage des lymphocytes des échantillons des deux groupes d'enfants.....	67
Figure 23 : Immunophénotypage des lymphocytes T et T CD4 du contrôle de qualité interne (Immunotrol normal et Immunotrol low).....	68
Figure 24 : Charge virale du VIH par la technique Abbott Real Time HIV-1 sur le système M2000.....	70
Figure 25 : Répartition de la charge virale du VIH (copies/ml) des enfants infectés par le VIH.....	72
Figure 26 : Densités optiques, obtenues par le test « Monolisa Anti-HBs plus », mesurées chez les deux groupes d'enfants par spectrophotométrie .....	73
Figure 27 : Répartition des titres des anticorps Anti-HBs chez les deux groupes d'enfants étudiés.....	77
Figure 28 : Densités optiques des échantillons, obtenues par le test « Monolisa HBsAg ULTRA plus », mesurées par spectrophotométrie .....	81
Figure 29 : Densités optiques des échantillons, obtenues par le test « Monolisa anti-HBc plus », mesurées par spectrophotométrie. ....	83
Figure 30 : Densités optiques ( $\Delta DO$ ) des échantillons, obtenues par le test « Enzygnost Anti-measles virus/IgG », mesurées par spectrophotométrie.....	84
Figure 31 : Répartition des titres des anticorps Anti-HBs chez les deux groupes d'enfants étudiés.....	88

# Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribo-Nucléique
AgHBe	Antigène pré-core de l'Hépatite B
AgHBs	Antigène de surface de l'Hépatite B
ANSP	Agence Nationale de Santé Publique
APC	Allophycocyanin
ARN	Acide Ribo-Nucléique
BCG	Bacille de Calmette et Guérin
CCR5	récepteur à C-C chimiokine de type 5
CD	Class of Differentiation
CDC	Center for Disease Control
CHC	Carcinome Hépatocellulaire
DO	Densité Optique
DTCa-Hib-HB	Diphtérie-Tétanus-Coqueluche acellulaire-Heamophilus influenza type b-Hépatite B
EDTA	Acide-Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique
FITC	Isothiocyanate de Fluorescein
FSC	Forward Scatter
HLA	Humain Leucocytes Antigen
INF-PEG	Interferan pégélé
MENA	Moyen-Orient et Afrique du Nord
NFS	Numération Formule Sanguine
NK	Natural Killer
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
ONUSIDA	Programme de l'ONU destiné à coordonner l'action de ses différentes agences pour lutter contre l'épidémie du SIDA
PE	Phycoérythrine
PENTA	Paediatric European Network for Treatment of AIDS
PerCP	Peridinin Chlorophyll Protein
PNI	Programme National d'Immunsation
SAGE	Groupe Stratégique Consultatif d'Experts sur la vaccination
SSC	Side Scatter
Th1	T lymphocytes Helper
TMB	Tétraméthylbenzidine
UI/ml	Unité Internationale par millilitre
UNICEF	United Nations International Children's Emergency Fund
VHA	Virus de l'Hépatite A
VHB	Virus de l'Hépatite B
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine

## SOMMAIRE

DEDICACES.....	i
AVANT PROPOS.....	ii
RESUME.....	v
ABSTRACT.....	vi
PUBLICATIONS.....	vii
LISTE DES TABLEAUX.....	viii
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES ABREVIATIONS.....	xi
SOMMAIRE.....	xii
INTRODUCTION GENERALE.....	1
<b>CHAPITRE 1 : EPIDEMIOLOGIE DE L'INFECTION A VIH/SIDA</b>	
<b>I. DONNEES ÉPIDÉMIOLOGIQUES DU VIH/SIDA.....</b>	<b>3</b>
1. AU NIVEAU MONDIAL.....	3
2. EPIDEMIE DU VIH AU MAROC.....	4
<b>II. MODES DE TRANSMISSION DU VIH .....</b>	<b>5</b>
<b>III. PHYSIOPATHOLOGIE DE L'INFECTION PAR LE VIH.....</b>	<b>6</b>
1. INFECTION PAR LE VIH.....	6
2. INFECTION PAR LE VIH CHEZ L'ENFANT.....	7
<b>IV. INFECTION PEDIATRIQUE A VIH ET SYSTEME IMMUNITAIRE.....</b>	<b>9</b>
<b>V. IMPACT DU TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL.....</b>	<b>10</b>
<b>CHAPITRE 2 : VIH ET CO-INFECTIONS</b>	
<b>I- VIH ET CO-INFECTIONS.....</b>	<b>13</b>
<b>II- CO-INFECTION VIH/VHB.....</b>	<b>13</b>
1- EPIDEMIOLOGIE DE LA CO-INFECTION VIH/VHB.....	14
2- INFECTION PAR LE VHB.....	15
3- PHYSIOPATHOLOGIE DE LA CO-INFECTION VIH/VHB.....	17
4- TRAITEMENT DE LA CO-INFECTION VIH/VHB.....	18
<b>III- CO-INFECTION VIH/ROUGEOLE.....</b>	<b>18</b>
1- DONNEES EPIDEMIOLOGIQUES SUR LA ROUGEOLE.....	19
2- PATHOLOGIE DE LA ROUGEOLE.....	21

3- <i>PHYSIOPATHOLOGIE DE LA CO-INFECTION VIH/ROUGEOLE</i> .....	23
<b>CHAPITRE3 : VACCINATION ET REPOSE VACCINALE</b>	
<b>I. PRINCIPE DE LA VACCINATION</b> .....	<b>25</b>
1. <i>VACCINATION ET REPOSE IMMUNITAIRE</i> .....	25
2. <i>MEMOIRE IMMUNITAIRE</i> .....	26
<b>II. CLASSIFICATION DES VACCINS</b> .....	<b>27</b>
1. <i>VACCINS INACTIFS</i> .....	27
2. <i>VACCINS VIVANTS ATTENUES</i> .....	28
<b>III. IMPACT DE LA VACCINATION</b> .....	<b>29</b>
<b>IV. VACCIN DE L'HEPATITE B ET IMMUNISATION DES ENFANTS INFECTES PAR LE VIH</b> .....	<b>30</b>
1. <i>HISTORIQUE DU VACCIN DE L'HEPATITE B</i> .....	30
2. <i>VACCINS DISPONIBLES</i> .....	30
3. <i>IMMUNOGENICITE DU VACCIN</i> .....	31
4. <i>COUVERTURE VACCINALE DE L'HEPATITE B</i> .....	32
5. <i>RECOMMANDATIONS INTERNATIONALES DE LA VACCINATION DES ENFANTS VIVANT AVEC LE VIH CONTRE L'HEPATITE B</i> .....	32
<b>V. VACCIN DE LA ROUGEOLE ET IMMUNISATION DES ENFANTS INFECTES PAR LE VIH</b> .....	<b>34</b>
1. <i>HISTORIQUE DU VACCIN DE LA ROUGEOLE</i> .....	35
2. <i>VACCINS DISPONIBLES</i> .....	36
3. <i>IMMUNOGENICITE DU VACCIN</i> .....	36
4. <i>REPOSE AU VACCIN ANTIROUGEOLEUX</i> .....	36
5. <i>COUVERTURE VACCINALE DE LA ROUGEOLE</i> .....	37
6. <i>RECOMMANDATIONS INTERNATIONALES DE LA VACCINATION DES ENFANTS VIVANT AVEC LE VIH CONTRE LA ROUGEOLE</i> .....	38
<b>VI. LA VACCINATION AU MAROC</b> .....	<b>40</b>
<b>CHAPITRE 4 : MATERIELS ET METHODES</b>	
<b>I. OBJECTIFS DE L'ETUDE</b> .....	<b>42</b>
<b>II. ECHANTILLONNAGE</b> .....	<b>42</b>
1. <i>RECRUTEMENT DES ENFANTS</i> .....	42
2. <i>CRITERES D'INCLUSION DES ENFANTS A L'ETUDE</i> .....	42
3. <i>SCHEMA VACCINAL DES ENFANTS ETUDIES</i> .....	43
<b>III. RECUEIL DES DONNEES</b> .....	<b>44</b>
1. <i>CONSENTEMENT DES PARTICIPANTS</i> .....	44

2. <i>CONSIDERATION ETHIQUE</i> .....	44
3. <i>RECUEIL DES DONNEES CLINIQUES ET DEMOGRAPHIQUES</i> .....	44
4. <i>PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS</i> .....	44
<b>IV. TECHNIQUES UTILISEES DANS L'ETUDE</b> .....	<b>44</b>
1. <i>NUMERATION DE LA FORMULE SANSUINE (NFS)</i> .....	45
2. <i>IMMUNOPHENOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE PAR CYTOMETRIE EN FLUX</i> .....	46
3. <i>MESURE DE LA CHARGE VIRALE DU VIH-1 PAR LA RT-PCR</i> .....	48
4. <i>EVALUATION DE LA REPONSE HUMORALE AU VACCIN DE L'HEPATITE B</i> .....	52
4-1 <i>QUANTIFICATION DES ANTICORPS ANTI-HBS</i> .....	52
4-2 <i>RECHERCHE DES AGHBS ET DES ANTI-HBC</i> .....	54
5. <i>EVALUATION DE LA REPONSE HUMORALE AU VACCIN DE LA ROUGEOLE</i> .....	57
<b>V. ANALYSE STATISTIQUE DES RESULTATS</b> .....	<b>59</b>
<b>CHAPITRE 5 : RESULTATS</b>	
<b>I. DESCRIPTION DES GROUPES D'ENFANTS ETUDIES</b> .....	<b>61</b>
1) <i>AGE</i> .....	62
2) <i>SEXE</i> .....	62
3) <i>STADE CLINIQUE DU VIH/SIDA</i> .....	63
4) <i>TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL</i> .....	64
<b>II. NUMERATION FORMULE SANGUINE DES ENFANTS ETUDIES</b> .....	<b>65</b>
<b>III. IMMUNOPHENOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE</b> .....	<b>66</b>
1) <i>SPECIMEN DES RESULTATS DE L'IMMUNOPHENOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE DES ECHANTILLONS ETUDIES</i> .....	66
2) <i>IMMUNOPHENOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE DU CONTROLE INTERNE UTILISE</i> .....	68
3) <i>IMMUNOPHENOTYPAGE LYMPHOCYTAIRE DES ECHANTILLONS D'ENFANTS ETUDIES</i> .....	69
<b>IV. CHARGE VIRALE DU VIH DES ENFANTS INFECTES PAR LE VIH</b> .....	<b>70</b>
<b>V. QUANTIFICATION DES ANTICORPS ANTI-HBS</b> .....	<b>72</b>
1) <i>DOSAGE DES ANTICORPS ANTI-HBS PAR SPECTROPHOTOMETRIE</i> .....	73
2) <i>TITRES DES ANTICORPS « ANTI-HBS »</i> .....	74
3) <i>REPONSE AU VACCIN DE L'HEPATITE B CHEZ LES 2 GROUPES D'ENFANTS ETUDIES</i> .....	76
4) <i>REPARTITION DES TITRES DES ANTICORPS ANTI-HBS CHEZ LES DEUX GROUPES D'ENFANTS</i> .....	77
5) <i>EVALUATION DE LA REPONSE AU VACCIN DE L'HEPATITE B CHEZ LES 2 GROUPES D'ENFANTS EN FONCTION DES DONNEES DEMOGRAPHIQUES, BIOLOGIQUES ET THERAPEUTIQUES</i> .....	78

<b>VI. RECHERCHE DE DES AGHBS ET DES ANTICORPS ANTI-HBC.....</b>	<b>80</b>
1) RECHERCHE DES AGHBS.....	80
2) RECHERCHE DES ANTICORPS ANTI-HBC.....	82
<b>VII. QUANTIFICATION DES IGG ANTI-ROUGEOLE.....</b>	<b>83</b>
1) DOSAGE DES IGG ANTIROUGEOLEUSES PAR SPECTROPHOTOMETRIE .....	84
2) CALCUL ET INTERPRETATION DES RESULTATS .....	85
3) REPONSE AU VACCIN DE LA ROUGEOLE CHEZ LES DEUX GROUPES D'ENFANTS .....	87
4) REPARTITION DES TITRES DES « IGG ANTIROUGEOLEUSES » CHEZ LES DEUX GROUPES D'ENFANTS.....	88
5) REPONSE HUMORALE AU VACCIN DE LA ROUGEOLE CHEZ LE GROUPE D'ENFANTS INFECTES PAR LE VIH .....	89
<b>CHAPITRE 6 : DISCUSSION.....</b>	<b>91</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>102</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>105</b>
<b>ANNEXE.....</b>	<b>132</b>
 <i>CALENDRIER VACCINAL DU PROGRAMME DE VACCINATION DE ROUTINE DES ENFANTS AU MAROC (2017).</i>	



## **1- Contexte général du travail**

Chez l'enfant, l'infection par le VIH se transmet par voie verticale, au moment de la grossesse, de l'accouchement, ou via l'allaitement maternel. Les programmes de prévention ont désormais pour but d'arriver à une Élimination de la Transmission Mère-Enfant (ETME), en améliorant l'accès au dépistage prénatal et l'accès aux antirétroviraux chez la mère, et la prophylaxie chez l'enfant exposé au VIH. Cependant, l'infection pédiatrique par le VIH concerne plus de 1.5 million d'enfants dans l'Afrique subsaharienne où les ressources d'accès à une prise en charge thérapeutique de qualité pour ces enfants sont limitées et encore insuffisantes (UNAIDS 2020). Ainsi, l'infection à VIH chez l'enfant constitue un véritable problème de santé publique au niveau mondial et particulièrement en Afrique subsaharienne, où la transmission mère-enfant est à l'origine de la majorité des infections pédiatriques. Bien que le traitement antirétroviral ait réduit le taux de mortalité maternelle et infantile dans certains pays, l'infection à VIH est responsable de 100 000 cas de décès infantiles (enfants de moins de 15 ans) en 2018 (Penazzato M et al 2018, UNAIDS 2020). Aux infections opportunistes s'ajoutent des infections transmissibles classiques chez l'enfant, dont certaines sont potentiellement évitables par la vaccination. En effet, la morbidité et la mortalité liées à la coïnfection par de telles maladies ne pouvaient qu'être exacerbées chez les enfants infectés par le VIH (Boulougoura et Sereti 2016, CDC 1986).

L'administration du traitement antirétroviral ne permet pas toujours de restaurer la réponse immunitaire aux infections y compris celles évitables par vaccination (Christina C Chang et al 2013). Dans ce contexte, l'infection par le VIH peut impacter la réponse vaccinale de l'enfant en termes d'immunogénicité et de durabilité. En effet, des études ont rapporté que les réponses humorales, primaire et secondaire, aux vaccins pourraient être faibles chez les enfants infectés par le VIH et tout particulièrement chez les enfants symptomatiques (Onorato I.M 1988, Von Reyn C.F et al 1987, Morlat P 2013). En conséquence, ces enfants demeurent vulnérables à la contraction et la transmission de ces infections, qui sont évitables par vaccination.

Au Maroc, les enfants infectés par le VIH sont vaccinés selon le calendrier vaccinal du ministère de la santé (Programme National d'Immunisation ou PNI) et reçoivent les mêmes doses des vaccins que les enfants non infectés par le VIH. Néanmoins, jusqu'au jour d'aujourd'hui, la réponse vaccinale des enfants infectés par le VIH, vaccinés selon ce calendrier ministériel, n'a jamais été évaluée.

## **2- Objectif et but du travail**

Ce travail a pour objectif d'évaluer la réponse vaccinale des enfants infectés par le VIH aux vaccins contre le VHB et la rougeole, au Maroc. L'étude de la réponse vaccinale a été effectuée en comparaison avec celle des enfants non infectés par le VIH. Dans ce cadre, l'étude d'exploration du statut immunitaire vis-à-vis des vaccins de l'hépatite B et de la rougeole, des enfants infectés par le VIH, a été entreprise afin de disposer des données utiles pour le PNI et le Programme Nationale de Lutte contre le Sida (PNLS), à même d'optimiser la vaccination des enfants infectés par le VIH au Maroc.

## I. Données épidémiologiques du VIH/SIDA

### 1. Au niveau mondial

L'épidémie de VIH/SIDA constitue l'un des plus grands défis de santé au monde. Selon les données de l'OMS, 37,9 millions de personnes vivaient avec le VIH, 1,7 million ont été nouvellement infectées et 770 000 personnes sont décédées à cause du VIH/Sida, en 2018 (ONUSIDA 2019). Globalement, le nombre de personnes infectées par le VIH a régulièrement augmenté en comparaison avec l'année 2012 où il a été estimé que 35,3 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde. Cependant, le nombre de personnes nouvellement infectées et le nombre de décès ont été réduits entre 2012 et 2018 (2,3 millions ont été nouvellement infectées et 1,6 million sont morts en l'an 2012) (UNAIDS 2013) grâce à un accès relativement augmenté au traitement antirétroviral. A la fin de l'année 2019, 24,5 millions de personnes avaient accès à la thérapie antirétrovirale (ONUSIDA 2020).

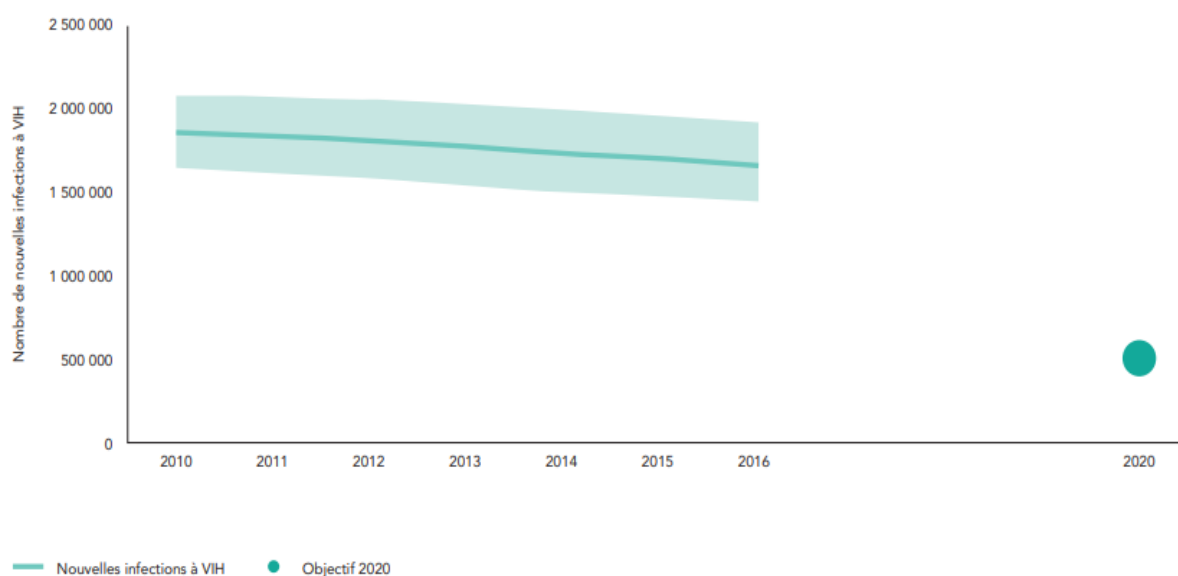


Figure 1 : Nouvelles infections à VIH chez les adultes (15 ans et plus), mondialement, 2010-2016 et objectif 2020 (UNAIDS 2020).

L'Afrique subsaharienne reste la région la plus touchée par cette épidémie où les personnes vivant avec le VIH représentent les deux tiers des statistiques, avec environ 26 millions. En plus de la différence dans la prévalence de l'épidémie entre les régions, il y a des différences dans les tendances et le mode de transmission. Ainsi, les épidémies de VIH chez les homosexuels continuent à s'accroître dans la plupart des pays, notamment dans les pays développés, tandis que la transmission hétérosexuelle reste le principal mode de transmission en Afrique sub-saharienne et les pays en voie de développement (Beyrer C et al 2012).

En 2018, 2.8 millions d'enfants et adolescents (âgés de 0 à 19 ans) vivaient avec le VIH, 160 000 enfants sont nouvellement infectés durant la période périnatale et la période d'allaitement et 120 000 enfants sont morts à cause du Sida (ONUSIDA 2019). Depuis 2010, les nouvelles infections à VIH chez les enfants ont diminué de 41% en 2018 (ONUSIDA 2019). Bien que cette réduction soit significative, le VIH continue de peser lourd sur le continent africain. En effet, certains pays subsahariens concentrent plus de la moitié des décès maternels et infantiles, enregistrés chaque année à travers le monde (Hogan M.C et al 2010).

## **2. Epidémie du VIH Au Maroc**

Le Maroc est parmi les rares pays de la région Moyen-Orient et Afrique du Nord (MENA) qui ont fait des progrès significatifs pour le renforcement de la riposte contre le VIH/Sida. Grace aux efforts déployés, les cas de nouvelles infections ont connu une baisse de 42% depuis 2010 en comparaison avec 4% dans la région MENA. En outre, l'accès au traitement antirétroviral a également augmenté en passant de 16% en 2010 à 48% en 2016. En 2018, il y avait une moyenne de 21000 personnes vivant avec le VIH, parmi lesquelles 48% (30%-64%) avaient accès au traitement antirétroviral dont 62% (48%-76%) sont des femmes enceintes. Ainsi, la prévalence du VIH au Maroc reste faible et relativement stable chez la population générale (moins de 0,1%) (ONUSIDA 2018). Durant la même année, le nombre d'enfants et d'adolescents (de 0 à 19 ans) vivaient avec le VIH est en moyenne de 1100 enfants et moins de 100 enfants ont été nouvellement infectés par le VIH, en raison de la transmission de la mère à l'enfant. Cependant, les populations les plus touchées par le VIH au Maroc sont les professionnelles du sexe avec une prévalence de 1,3%, les homosexuels avec une prévalence de 5,7%, les usagers de drogues injectables avec une prévalence de 7,9% et les détenus avec une prévalence de 0,5% (UNAIDS 2018, ONUSIDA 2018).

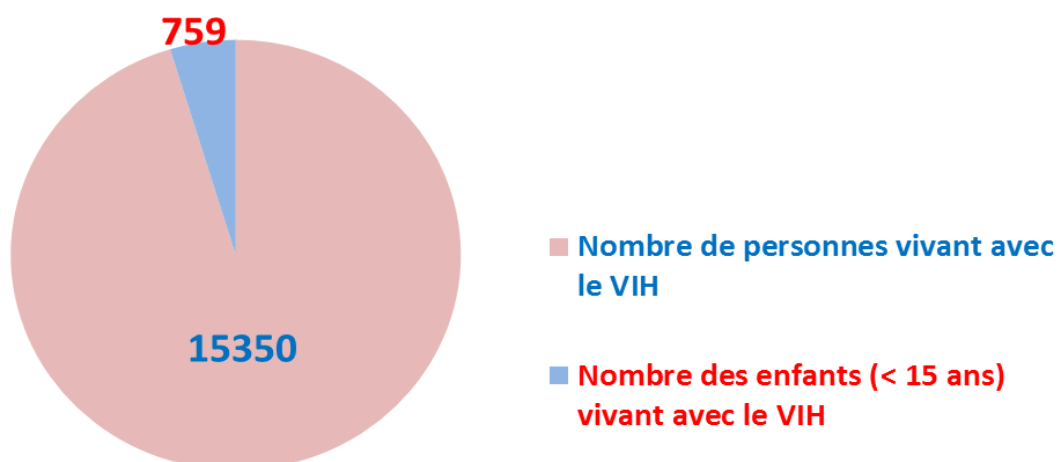


Figure 2 : Epidémiologie du VIH/SIDA au Maroc (Fin 2019) (Ministère de la santé 2020).

Selon le rapport national de 2014 du ministère de la santé, sur 75% des individus infectés par le VIH correspondent à des personnes âgées entre 25-44 ans, 11% aux jeunes de 15-24 ans et 3% aux enfants de moins de 15 ans. Concernant le sexe, 50% des cas notifiés sont de sexe féminin.

## **II. Modes de transmission du VIH**

Le VIH est présent dans la plupart des liquides biologiques, le sang, le sperme, les sécrétions vaginales et le lait. Ainsi, le virus peut se transmettre par contact sexuel à travers les muqueuses, par exposition mère-enfant et par inoculation percutanée (Shaw G.M et Hunter E 2012). La transmission sexuelle se fait par contact entre les sécrétions sexuelles et les muqueuses génitales, la contamination par voie sanguine concerne tout particulièrement les usagers de drogues injectables, les transfusés et les professionnels de santé, alors que la transmission verticale est à l'origine de la majorité des infections à VIH, chez les enfants de moins de 10 ans (OMS 2002).

### **Transmission mère-enfant du VIH**

La transmission du VIH de la mère à l'enfant peut se produire lors de la grossesse (transmission in utero), lors de l'accouchement (transmission intrapartum ou peripartum) ou après l'accouchement, lors de l'allaitement (Kourtis A.P et al 2001, Scarlatti G 1996). En absence de traitement antirétroviral, le risque de transmission mère-enfant du VIH est estimé de 15 à 25% des cas, lorsque la mère n'allait pas. Ce risque est augmenté de 30 à 45% dans les pays aux ressources limitées où il y a peu ou pas d'alternative à l'allaitement (Lehman et Farquhar 2007). Le risque de transmission mère-enfant augmente avec une charge virale élevée (> 100000 copies/ml) et/ou une immunodépression maternelle, surtout dans le dernier trimestre de grossesse, une infection choriale, un accouchement par voie basse, en l'absence de multi-thérapies antirétrovirales (Newell M.L et al 1998, Semprini A.E et al 1995).

En Afrique subsaharienne, plus de 90% des infections chez les enfants de moins de 15 ans résultent d'une transmission de la mère à l'enfant (UNAIDS 2010). Environ 65% de ces transmissions ont lieu en péripartum (Chouquet C et al 1999, Rouzioux C et al 1995).

Néanmoins, le programme de traitement des femmes enceintes et la mise en place d'une prophylaxie antirétrovirale d'un mois, pour l'enfant, a permis de réduire le risque de transmission à moins de 1% dans les pays industrialisés ou émergents (McIntyre J 2006, Lallemand M et al 2004). Dans les pays en voie de développement, ce type de programme a réduit la transmission verticale à moins de 5% (Tejiokem et al 2010, WHO 2008b). Selon le rapport de la soixante-treizième session de l'Assemblée Générale des Nations Unies tenue le

2 avril 2019, les décès causés par des maladies associées au Sida dans toutes les tranches d'âge d'enfants, ont été réduits de presque la moitié. En outre, 1,6 million de nouveaux cas d'infection chez les enfants, ont été évitées entre 2008 et 2017. Ce résultat est tributaire à une forte hausse du taux de femmes enceintes vivant avec le VIH, qui reçoivent le traitement antirétroviral, dans le cadre de la prévention de la transmission mère-enfant du VIH.

Au Maroc, il y a chaque année 30 à 40 nouvelles infections pédiatriques du VIH, dues à la transmission mère-enfant. La couverture des femmes enceintes vivant avec le VIH par le programme de prévention de transmission verticale a été estimée à 63% en 2017, avec une stabilisation relative au cours des 4 dernières années. Par ailleurs, l'objectif du ministère de la santé était d'atteindre une couverture de 95% en 2020, afin de réduire le taux de transmission du VIH de la mère à l'enfant à moins de 2% et d'offrir à 100% des nourrissons la prophylaxie antirétrovirale. Malgré les efforts déployés, de nombreux obstacles persistent notamment une couverture faible et hétérogène du dépistage dans les centres de santé, les maisons d'accouchement et les maternités hospitalières. A cela s'ajoutent le manque d'implication du secteur privé, le manque d'intégration des soins VIH et de suivi et de surveillance des grossesses, des accouchements et des nouveau-nés.

### **III. Physiopathologie de l'infection par le VIH/SIDA**

#### ***1. Infection par le VIH***

L'infection par le VIH, chez un individu non traité, conduit à une destruction complète des lymphocytes T CD4. Cette déplétion est corrélée avec une forte réplication virale (nombre de copies de l'ARN du VIH) et la progression vers le SIDA (Fauci A.S et al 1996). L'infection par le VIH se déroule généralement en trois phases :

*Phase aiguë (primo-infection) :*

Rapidement après l'infection, le VIH se réplique en très grande quantité et en quelques jours une forte chute du taux des T CD4 est le plus souvent observée (Daar E.S et al 1991). Après 2 à 4 semaines, l'organisme élimine une grande partie du virus grâce au système immunitaire composé des lymphocytes T CD4 et T CD8 (Koup R.A et al 1994), mais sans réussir à l'éliminer complètement. Pendant cette période, qui peut durer jusqu'à 9 semaines, des symptômes pseudo-grippaux tels que la fièvre, les céphalées et les myalgies peuvent apparaître (Cooper D.A et al 1985).

*Phase chronique (ou asymptomatique) :*

Après la phase de primo-infection, un équilibre s'installe entre la réplication virale et la réponse immunitaire, qui peut contrôler le VIH, peut durer plusieurs années, jusqu'à la déplétion des T CD4. Cet état de latence caractérisé par l'établissement précoce de réservoirs viraux (Chun T.W et Fauci A.S 1999) et la réplication constante dans les tissus lymphoïdes, s'ensuit un renouvellement rapide de nouvelles particules virales circulantes (Ho D.D et al 1995) et, de ce fait, la destruction progressive des lymphocytes T CD4, qui se régénèrent jusqu'à l'épuisement (Fauci A.S et al 1996, Clerici M et al 1989a/b). À ce moment-là, la réplication virale va s'intensifier et l'organisme rentre dans la phase d'immunodéficience profonde.

*Phase SIDA (ou phase symptomatique) :*

Durant cette phase d'immunodéficience, les individus infectés vont développer des maladies opportunistes et des tumeurs malignes associées au VIH qui conduisent au décès. A partir d'un taux de T CD4 < 200 cellules/mm<sup>3</sup> le risque d'infections opportunistes est très important (OMS 1994, Buchbinder S.P et al 1994, Chevret et al 1992).

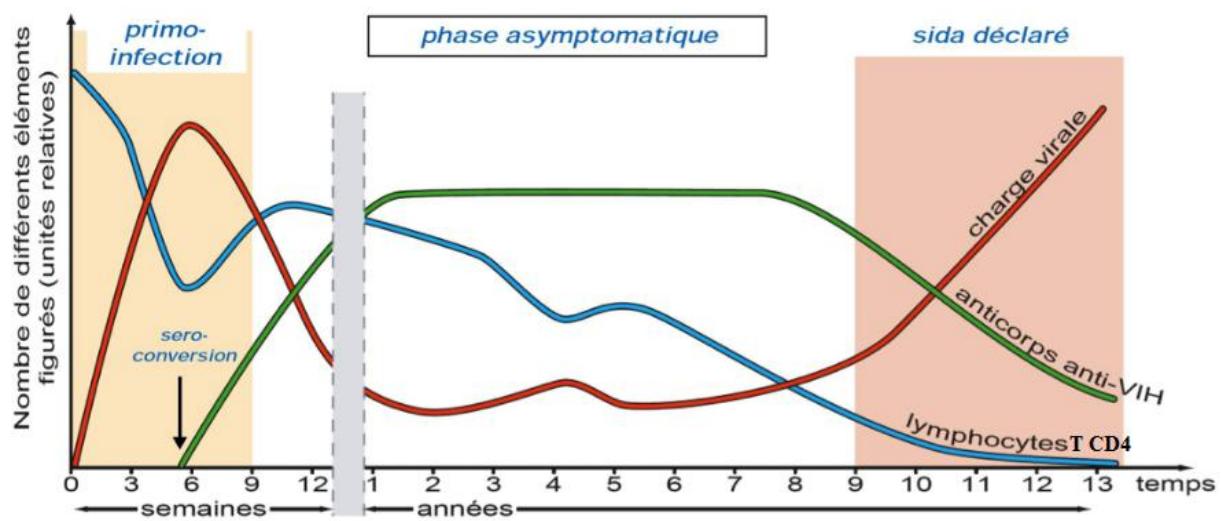


Figure 3 : Evolution naturelle de l'infection à VIH en absence de traitement antirétroviral.

## **2. Infection par le VIH chez l'enfant**

### **a. Evolution sérologique et risques**

L'évolution naturelle de l'infection à VIH, chez l'enfant est particulièrement rapide et a pour conséquence une mortalité précoce et élevée. La prise en charge médicale s'appuie principalement sur les trithérapies antirétrovirales et la prophylaxie des infections

opportunistes par le cotrimoxazole (Mofenson L.M et al 2005). Au cours des premiers mois suivant l'infection, la virémie plasmatique du VIH chez l'enfant augmente généralement de 10 fois pour atteindre des niveaux beaucoup plus élevés que ceux des adultes (European collabotory stady 2002, Dunn D 2003). La plupart des nourrissons non traités ont des taux plasmatiques d'ARN du VIH > 100 000 copies/ml (McIntosh K et al 1996). Ainsi, 50% des enfants nés infectés par le VIH non traités, meurent dans la première année ou la deuxième année de leur vie et 80% avant l'âge de 5 ans (Ghoma Linguissi et al 2019). Quel que soit le niveau de lymphocytes T CD4 ou de virémie plasmatique, les enfants courent un risque plus élevé de décès ou de progression vers la phase SIDA que les adultes. Un enfant de 1 an avec 10% de lymphocytes T CD4 a un risque de 40% de progression vers le SIDA et de 20% de décès dans les 12 mois de sa naissance. Le risque pour un enfant de 10 ans avec les mêmes valeurs est de 7,4% de progression vers le SIDA et de 2,1% pour la mort dans ses 12 mois. Le risque de progression vers le SIDA ou de décès chez un enfant de 1 an avec un taux d'ARN plasmatique de 100 000 copies/ml est respectivement de 11% et 5%, mais pour un enfant de 10 ans ce risque est de 5,1% et 2% respectivement. Après l'âge de 5 ans, le risque de progression de la maladie et de décès et la valeur prédictive des taux plasmatiques d'ARN et des lymphocytes T CD4, semblent être similaires à ceux observés chez les jeunes adultes (Nicole H.T et Grace M.A 2013).

### **b. Evolution clinique et épidémiologie**

L'infection verticale chez l'enfant peut se présenter sous deux formes. La première forme ressemble à celle de l'adulte avec une progression lente vers le SIDA après 8 à 10 ans. La seconde est une forme précoce sévère survenant dans les premiers mois de vie de l'enfant et conduisant rapidement à l'apparition d'infections opportunistes précoces (muguet, diarrhée chronique, troubles de la croissance, hépatosplénomégalie et lymphadénopathie), associées à un déficit immunitaire, et parfois à la survenue d'une atteinte neurologique dramatique, l'encéphalopathie liée au VIH. Les infections respiratoires sévères causées par *Pneumocystis jirovecii*, le cytomégalovirus ou les deux, font aussi partie du tableau clinique et surviennent classiquement autour de 10 à 14 semaines de vie avec des conséquences importantes sur la survie (Williams AJ et al 2001). La fréquence de survenue de la forme sévère de l'infection est estimée entre 10 et 20% dans les pays développés (Prendergast A et al 2007, Blanche S et al 1997) et entre 35 et 54% dans les pays en développement (Obimbo E.M et al 2004, Mbori-Ngacha D et al 2001, Bobat R et al 1997). Sa plus grande fréquence dans ces pays pourrait, en partie s'expliquer par la plus grande fréquence de certains facteurs de risque qui sont : le stade



avancé de la maladie chez les mères pendant la grossesse, les niveaux de charges virales élevés, particulièrement chez les nourrissons, les coinfections en particulier par cytomégalovirus et tuberculose (Jeena P.M et al 2002), ou le paludisme et les helminthiases (Otieno R.O et al 2006), ou les facteurs viraux et les spécificités génétiques de l'hôte. En outre, les problèmes nutritionnels dans les pays en développement pourraient augmenter la mortalité précoce et la qualité de la réponse immunitaire (Ioannidis J.P et al 2004, Obimbo E.M et al 2004, Spira R et al 1999). Une méta-analyse dans les pays du Nord a mis en évidence une fréquence importante de progressions de l'infection à un an chez les nourrissons, malgré des taux de lymphocytes T CD4 élevés ou des niveaux de charge virale modérés (Dunn D 2003, Mayaux M.J et al 1996).

En Afrique sub-saharienne, l'évolution de l'infection à VIH chez le nourrisson et l'enfant en l'absence de traitement antirétroviral est particulièrement préoccupante (Rogerson S.R et al 2004). Une méta-analyse, portant sur les nourrissons inclus dans les essais de prévention de transmission mère enfant, a estimé l'incidence des décès chez les enfants infectés par le VIH à 35,2% à l'âge d'un an et à 52,5% à l'âge de 2 ans contre respectivement 4,9% et 7,6% chez les enfants non infectés (Newell M.L et al 2004a, Newell M.L et al 2004b). Les nourrissons infectés sont particulièrement difficiles à prendre en charge dans un contexte de ressources limitées, avec des problèmes d'accessibilité aux soins, mais aussi des réticences des parents ou des tuteurs à participer aux activités de soins de l'infection à VIH, en raison de nombreuses conséquences discriminatoires et stigmatisantes qui peuvent découler de la divulgation de leurs statuts (Vreeman R.C et al 2008).

#### **IV. Infection pédiatrique à VIH et système immunitaire**

Au cours de la première année de vie de l'enfant infecté par le VIH, où le taux de la charge virale est élevée, l'activité spécifique des lymphocytes T cytotoxiques est difficilement détectable (Prendergast A et al 2007). Même si de nombreuses similitudes ont été décrites sur la pathogénèse de l'infection à VIH chez l'enfant et chez l'adulte, certains aspects sont cependant observés uniquement chez les enfants infectés par voie périnatale (Burns D.N et Mofenson L.M 1999). D'abord, l'infection de l'enfant intervient très souvent à un moment où son système immunitaire est immature. Il apparaît de plus en plus probable que des perturbations du système immunitaire existent également chez les enfants non infectés nés de mères séropositives pour le VIH. Malgré leur immaturité immunologique, les enfants infectés chroniquement par le VIH développent des taux élevés d'anticorps neutralisants plus fréquemment et plus tôt que les adultes. Cependant, l'ontogénèse des réponses humorales lors

d'une infection aiguë par le VIH est mal définie chez les nourrissons et difficile à étudier dans des cohortes humaines en raison de la présence d'anticorps maternels.

Selon une étude, le taux et la fonction des cellules NK et des cellules dendritiques myéloïdes sont altérés chez les enfants infectés par le VIH, en particulier chez les enfants ayant des taux bas de lymphocytes T CD4 (Azzoni L et al 2005). D'autres cellules T, tueuses naturelles qui expriment un répertoire restreint des récepteurs des cellules T, reconnaissent l'antigène glycolipide et partagent des similitudes phénotypiques et fonctionnelles entre les cellules NK et T, se sont avérées être des cibles pour une infection à VIH (Fleuridor R et al 2003, Motsinger A et al 2002) et sont appauvries de manière sélective pendant l'infection chez les adultes (Van der Vliet H.J et al 2002) et chez les enfants (Sandberg J.K et al 2002). Collectivement, ces résultats suggèrent que des altérations des fonctions immunitaires innées sont susceptibles d'influencer le développement d'une immunité spécifique au VIH.

Les réponses des lymphocytes T CD4 spécifiques du VIH ne sont détectées que sporadiquement chez les nourrissons de moins de 3 mois infectés pendant la période périnatale (Ramduth D et al 2008) et restent faibles ou indétectables même lorsque le traitement antirétroviral a débuté dans les premières semaines de la vie (Luzuriaga et al 2000). Les réponses des lymphocytes T CD8 spécifiques au VIH peuvent être détectées à la naissance chez les nourrissons infectés in utero mais sont fonctionnellement inefficaces (Thobakgale C.F et al 2007, Lohman B.L et al 2005). En fait, les réponses des cellules T CD8 fonctionnelles ne sont pas détectées vigoureusement avant l'âge de 3 ans et seulement chez les sujets qui ont conservé des cellules T CD4 substantielles (Sandberg J.K et al 2003). Étant donné que les réponses des lymphocytes T CD4 sont essentielles pour l'induction et le maintien à la fois des réponses efficaces des lymphocytes T CD8 et de l'activité des lymphocytes B, le manque de réponses des lymphocytes T CD4 peut être une explication de ces résultats. Des réponses immunitaires inefficaces couplées au grand nombre de cellules T CD4, fournies par un thymus actif, contribuent sans aucun doute aux charges virales élevées et à la progression rapide de la maladie observée chez les enfants.

## **V. Impact du traitement antirétroviral**

Les progrès des stratégies thérapeutiques antirétrovirales se sont traduits par la réduction de près de 80% du nombre de décès, du nombre de cas de SIDA et de l'incidence des infections opportunistes. L'introduction de la thérapie antirétrovirale a significativement amélioré la survie des patients infectés par le VIH (Wanyeki I et al 2011) et a changé l'infection par le VIH d'une maladie mortelle en une maladie chronique (Ayalew J et al 2014).

Avant l'avènement de ce traitement, la majorité des sujets infectés par le VIH développaient une immunodépression marquée et des états définissant le SIDA dès le plus jeune âge. Aujourd'hui, le traitement antirétroviral permet aux personnes infectées de mener une vie presque normale (Chiu SS et Lau YL 2006). Toutefois, le pronostic est mauvais pour ceux chez qui le virus est détecté au cours de la première semaine de vie ou pour ceux qui développent des symptômes durant leur première année de vie (Al-shishtawy M.M 2014). En l'absence de traitement antirétroviral, plus de 50% des enfants infectés par le VIH sont décédés à l'âge de 2 ans (Newell M.L et al 2004).

L'objectif fixé par l'ONUSIDA visant à éliminer l'épidémie du VIH/SIDA en 2030, repose sur les cibles appelées les 90, 90, 90 ; c'est-à-dire tester 90% des personnes infectées, initier le traitement antirétroviral chez 90% des personnes testées et obtenir une suppression de la charge virale chez 90% des personnes, qui sont sous ce traitement (UNAIDS 2017b). Bien que cet objectif semble être faisable, des approches novatrices sont nécessaires pour combler les lacunes et atteindre les personnes qui ne sont pas encore prises en charge dans de nombreux pays, surtout en Afrique subsaharienne, la plus affectée par l'épidémie et où les ressources sont limitées (Ruanne V et al 2017).

L'arsenal thérapeutique actuel consiste en 6 classes de médicaments, définies selon leur mode d'action sur les protéines et les enzymes nécessaires à la réplication virale. Ainsi, il y a les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse, les inhibiteurs de protéase, les inhibiteurs de fusion, les inhibiteurs d'intégrase et les inhibiteurs du récepteur CCR5 (Bhatti A.B et al 2016, Bhavik Dalal et al 2015). Toutefois, à ce jour aucune des molécules disponibles ne permet d'éradiquer l'infection. Ces molécules ont pour objectifs de réduire la charge virale, de limiter la production de nouvelles particules virales et l'infection de nouvelles cellules et donc de restaurer l'immunité chez l'individu infecté. Il est estimé que la réduction de 80% de la progression de la maladie est associée à une diminution de la charge virale plasmatique. Le contrôle de la charge virale plasmatique à un niveau indétectable, permet de contrôler la progression de l'infection et également limite au maximum le risque de sélection des souches virales résistantes au traitement (Kà Daye et al 2017).

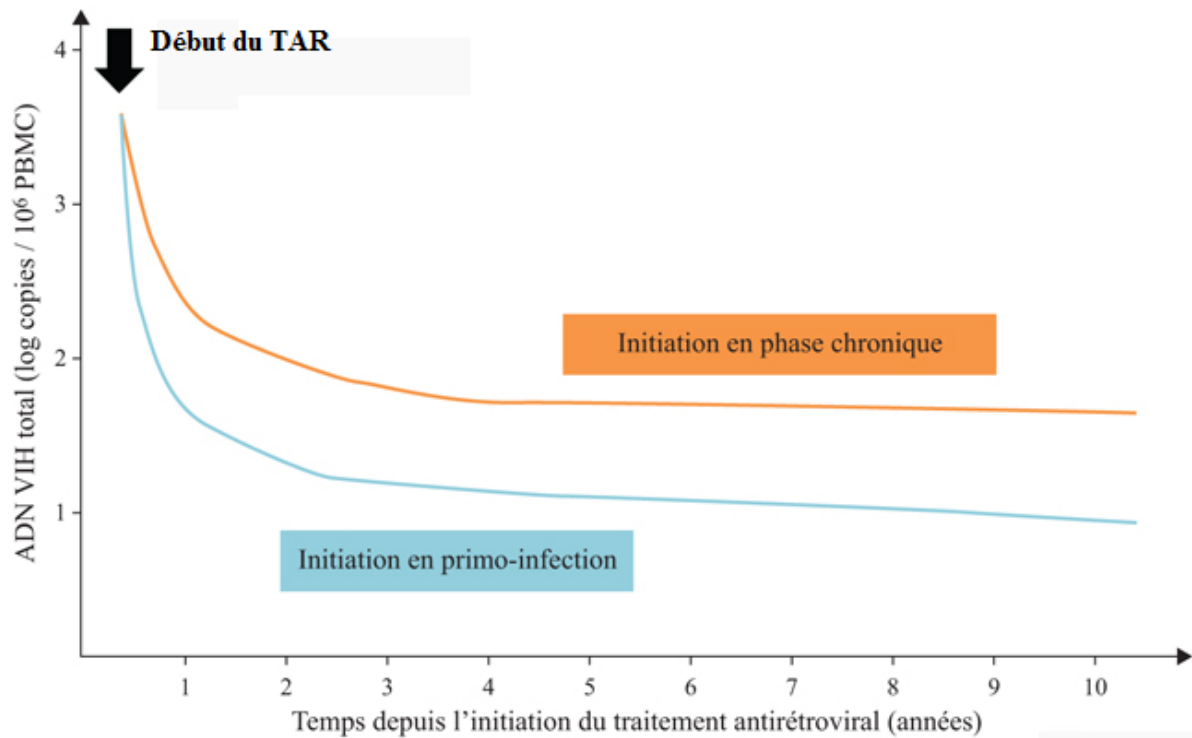


Figure 4 : Evolution de la charge virale du VIH après le démarrage du TAR (Christine Rouzioux 2019).

Un essai clinique réalisé en 2011, a confirmé que si une personne séropositive adhère à un traitement antirétroviral efficace, le risque de transmettre le virus à son partenaire sexuel non infecté, peut être réduit de 96% (OMS, Novembre 2017). Ainsi, le traitement antirétroviral reste un meilleur moyen de lutter contre la transmission et l'infection par le VIH. Enfin, ces différents médicaments ou leur association sont inévitablement liés à l'apparition d'effets secondaires parfois transitoires tels que des dysfonctions digestives (nausées,...), des anomalies métaboliques (insulino-résistance, hypertriglycéridémie, hypercholestérolémie, lipodystrophie), physiques (perte de poids), mais également une toxicité mitochondriale principalement avec les analogues nucléosidiques et les anti-protéases (Bhatti A.B et al 2016). Pour les enfants, les médicaments utilisés pendant le traitement sont plus ou moins les mêmes que ceux utilisés pour les adultes, généralement une combinaison de deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse plus un inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse ou un inhibiteur de la protéase (Bhatti A.B et al 2016, OMS/guidelines 2015). L'efficacité du traitement doit être surveillée en mesurant régulièrement la charge virale plasmatique et le nombre de T CD4. Ceci permet d'éviter le risque de développement des souches résistantes à ces combinaisons antirétrovirales.

## **I- VIH et co-infections**

Malgré la disponibilité croissante de la thérapie antirétrovirale, près de 770 000 de décès ont été attribués au VIH en fin de l'année 2018. L'immunodéficience provoquée par une infection chronique par le VIH augmente le risque de co-infection par des agents pathogènes contrôlés par les réponses immunitaires cellulaires innées et adaptatives et, dans certains cas, par les réponses des anticorps phagocytaires. En outre, l'administration de la thérapie antirétrovirale dans le contexte d'une co-infection par le VIH ne permet pas toujours de rétablir la réponse immunitaire spécifique de l'agent pathogène à des niveaux normaux (Boulougoura et Sereti 2016).

Les co-infections sont l'un des principaux facteurs de la majoration de la morbidité et de la mortalité chez les patients infectés par le VIH. Les estimations de l'OMS indiquent qu'environ un quart des 1,5 million de décès de patients infectés par le VIH, sont dus à la tuberculose (OMS 2015). Aux États-Unis, environ 25% des personnes séropositives sont coinfectées par le virus de l'hépatite C et près de 10% par le VHB, alors que ces pourcentages sont plus élevés dans les zones où les mesures préventives et thérapeutiques sont moins disponibles (CDC 2015, Melhem N.M et al 2015, Phung B.C 2014, Chen J.Y 2014). La prévalence de l'antigène cryptococcique chez les personnes dont le nombre de CD4 est inférieur à 100 cellules / mm<sup>3</sup> est en moyenne de 7,2% (IC 95%, 6,8–7,6%) dans les pays à revenu faible et intermédiaire (Rajasingham R et al 2012). Étant donné l'état d'immunodépression des patients atteints du VIH, ces co-infections et d'autres co-infections peuvent présenter un large éventail de syndromes qui posent des problèmes de diagnostic et de prise en charge clinique, ce qui représente un fardeau considérable pour le système de santé publique, déjà défaillant dans les pays en voie de développement.

## **II- Coïnfection VIH/VHB**

Le VHB et le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) partagent des facteurs de risque et des modes de transmission communs (Inoue T et Tanaka Y 2016). La co-infection par le VHB et le VIH peut augmenter jusqu'à 8 fois le risque de décès (Thio C.L et al 2002). Les enfants infectés par le VIH sont particulièrement vulnérables à la réactivation de l'infection occulte par l'hépatite B et à la progression de l'infection par le VHB vers la chronicité (Rajbhandari R et al 2016). Ainsi, il est important de prévenir l'infection par le VHB chez les enfants infectés par le VIH.

### 1. *Epidémiologie de la co-infection VIH/VHB*

D'après l'OMS, 2 milliards de personnes sur la planète sont infectées par le VHB et il est estimé qu'environ 257 millions de personnes vivent avec une infection chronique au VHB (Rapport de l'OMS 2017), soit entre 4% à 6% de la population mondiale (OMS 2013 et 2015).

La co-infection par le VIH et le VHB est courante. Dans le monde entier, il est estimé que 10% des personnes infectées par le VIH ont une hépatite B chronique (Thio C.L 2009). Elle est significativement plus élevée dans certaines populations d'Afrique subsaharienne (Burnett R.J et al 2005). Bien que la prévalence varie d'une population à l'autre, dans les zones de forte endémie pour le VIH et le VHB, il est estimé que 6 à 14% des patients infectés par le VIH le sont aussi par le VHB (Alter M.J 2006). Dans les zones de faible prévalence, les cas de coïnfection sont moins fréquents.

Étant donné que le VIH et le VHB ont des voies de transmission communes (périnatales, parentérales, sexuelles) et que leurs régions endémiques se chevauchent souvent, il a été montré que la prévalence de l'infection par le VHB chez les personnes VIH séropositives était significativement plus élevée que chez les personnes VIH séronégatives (Mayaphi S.H et al 2012, Hadler S.C et al 1991). En Afrique, la prévalence de l'infection par le VHB chez les femmes enceintes varie de 4 à 17% (Healy S.A et al 2013). En outre, vu le risque de la transmission périnatale du VHB et du VIH et que les nourrissons exposés au VHB sont plus susceptibles de développer une infection chronique à VHB, la prévalence d'une infection par le VHB chez les enfants infectés par le VIH, devrait être plus élevée par rapport à la population pédiatrique générale.

Avec l'introduction de la thérapie antirétrovirale, qui inclut également des agents actifs à la fois contre le VIH et le VHB, les taux de mortalité ont considérablement diminué (Smith C et al 2009, Rosenthal E et al 2007). Cependant, la mortalité liée à la maladie hépatique reste toujours significativement élevée dans certaines études de patients coinfectés par le VIH et le VHB par rapport aux patients infectés par le VIH ou le VHB seul (Weber R et al 2013, Nikolopoulos G.K et al 2009, Hoffmann C.J et al 2009). La mortalité liée au foie est maintenant la cause la plus fréquente de décès non liés au SIDA chez les personnes infectées par le VIH, sous traitement antirétroviral (Weber R et al 2012, Smith C et al 2009, Weber R et al 2006).

Le Maroc est considéré comme une région de faible prévalence de l'hépatite B. En effet, dans une étude marocaine, il a été rapporté que le taux de portage de l'AgHBs était de 1.66% et que les comportements sexuels étaient révélés les principaux facteurs de risque de la

transmission du VHB (Sbai A et al 2012). D'autre part, les données sur la prévalence de la co-infection VIH/VHB au Maroc restent faibles. Ainsi, une étude marocaine réalisée sur 503 patients infectés par le VIH, a montré que la prévalence de l'AgHBs chez ces sujets est de 5.2% (Rebbani K et al 2013).

## **2. Infection par le VHB**

Les symptômes cliniques et les dommages hépatiques observés suite à une infection par le VHB varient énormément et pouvant aller d'une hépatite asymptomatique à l'apparition d'hépatite aigüe ictérique, voire fulminante. L'évolution de la maladie est liée aux interactions entre le système immunitaire et le virus et dépend ainsi de l'âge et du statut immunitaire du patient. En effet, dans plus de 90 % des cas, les adultes infectés par le VHB développent une hépatite aigüe (souvent asymptomatique) et sont capables de contrôler et d'éliminer le virus et acquérir une immunité naturelle. Dans 10% des cas, certains adultes ne parviennent pas à combattre l'infection et développent une infection chronique, pouvant évoluer à long terme en cirrhose et/ou un carcinome hépatocellulaire (Chemin et Zoulim 2009). Moins de 1% des patients infectés par le VHB développent une hépatite fulminante, qui conduit à leur décès en absence de transplantation hépatique. A l'inverse, chez l'enfant et les adultes immunodéprimés, le risque de développer une hépatite chronique s'élève à 80%, ce qui prouve l'importance de la réponse immunitaire et de la relation virus/hôte dans le contrôle de l'infection (Liaw et Chu 2009, Dandri et Locarnini 2012).

### ***2-1 Infection aigüe***

La période d'incubation est accompagnée de la montée de virémie qui peut durer entre 45 et 180 jours, avant l'apparition des symptômes cliniques. Cette période correspond à la première phase de l'infection appelée hépatite aigüe, qui peut être éliminée dans 90% des cas. L'intensité des symptômes d'une infection aigüe varie d'un individu à l'autre et dans 75% des cas, elle est asymptomatique et peut passer inaperçue. Dans d'autres cas, les patients développeront des symptômes non spécifiques de type de nausées, asthénie, anorexie, fièvre, arthralgie et urtication (Mc Mahon B.J et al 1985).

Le VHB n'est pas cytopathique et les cas symptomatiques observés, sont la résultante d'une réponse immune inadaptée médiée par les lymphocytes T cytotoxiques. En effet, la lyse des hépatocytes infectés par les lymphocytes T CD8 est le mécanisme majeur permettant le contrôle de l'infection, mais en engendrant les lésions hépatiques (Thimme R et al 2003).

### ***2-2 Infection fulminante***

L'hépatite B fulminante, survient dans 1% des cas d'hépatite aigüe. Une nécrose du

parenchyme hépatique à l'origine d'une insuffisance hépatocellulaire est observée dans ce cas. Cette forme grave d'hépatite conduit au décès dans 80 % des cas, en l'absence de greffe hépatique. Ces cas sont le plus souvent rencontrés lors de coïnfection avec d'autres virus hépatotropes tel que le virus de l'hépatite delta (Farci et Niro 2012).

### 2-3 Infection chronique

L'évolution vers la chronicité dépend de l'interaction entre les facteurs viraux et les facteurs immunitaires de l'hôte. L'âge est un facteur déterminant, puisque le passage à la chronicité est observé chez 90% des enfants nés de mères infectées, en l'absence d'immunoprophylaxie (active ou passive) lors de l'accouchement. Le fœtus pourrait en effet développer une immunotolérance aux antigènes viraux expliquant la forte prévalence des hépatites chroniques chez ces sujets (Milich et Liang 2003). L'hépatite B chronique survient également chez 25% des enfants contaminés avant l'âge de 5 ans, chez environ 10% des adultes immunocompétents, chez 30% des adultes âgés de 50 ans et plus, et chez 100% des sujets immunodéprimés. Les facteurs viraux tels que les génotypes, pourraient également influencer la progression de la maladie (Lin C.L et Kao 2011). L'infection chronique est asymptomatique dans 70 à 90 % des cas, et n'est souvent découverte que tardivement au stade de cirrhose et/ou de carcinome hépatocellulaire (Dandri et Locarnini 2012).

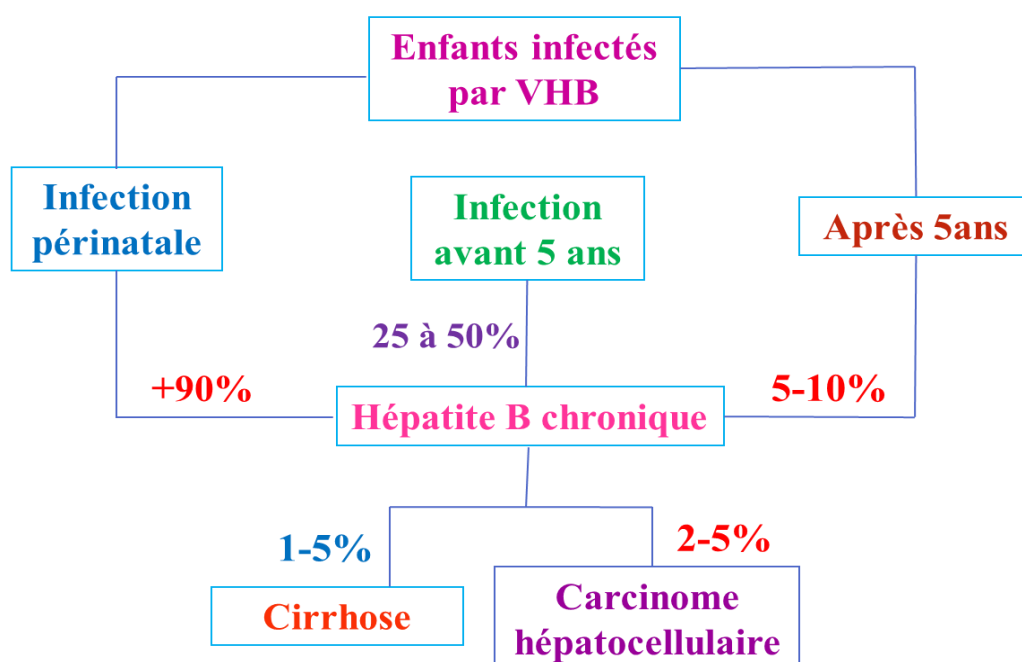


Figure 5 : Histoire naturelle de l'Hépatite B chez l'enfant (Repon C. Paganelli M et al 2012, Komatsu H et al 2017, Paul et al 2018).



### 3. Physiopathologie de la co-infection VIH/VHB

Les porteurs chroniques du VHB courent un risque de 20% à 30% de développer des complications hépatiques incluant une insuffisance hépatique aiguë, une décompensation hépatique, une cirrhose et un carcinome hépatocellulaire. Approximativement, le VHB est à l'origine de 786 000 morts chaque année. Il est classé en 2010 au 15ème rang des infections mortelles au monde, responsable respectivement de 33% et de 50% de cas de cirrhose et de carcinome hépatocellulaire (Lozano R et al 2012).

Lors de la coïnfection VIH/VHB, la probabilité qu'une infection VHB aiguë progresse vers une infection chronique est plus importante chez les personnes VIH positives (Koblin B et al 1992). La réplication du VHB est plus élevée lors de passage à la chronicité et les probabilités de séroconversion Anti-HBs ou anti-HBe sont moindres, chez les personnes coïnfectées que les mono-infectées par le VHB. Dans ce cas, la progression vers la fibrose/cirrhose est plus rapide (Bonacini M et al 1997). De plus, un des principaux problèmes de la coïnfection VIH/VHB, est la réactivation de l'hépatite B occulte. Les phénomènes de la réactivation ne sont pas totalement élucidés, mais sont fréquemment observés, suite à l'arrêt du traitement antirétroviral (Costantini A et al 2011, Bessesen M et al 1999).

Le VIH a un impact significatif sur l'histoire naturelle du VHB avec une progression accélérée de la maladie hépatique liée au VHB et une mortalité liée au foie, nettement plus élevée par rapport à une infection par le VIH ou le VHB seul (Thio CL et al 2002, Colin JF et al 1999).

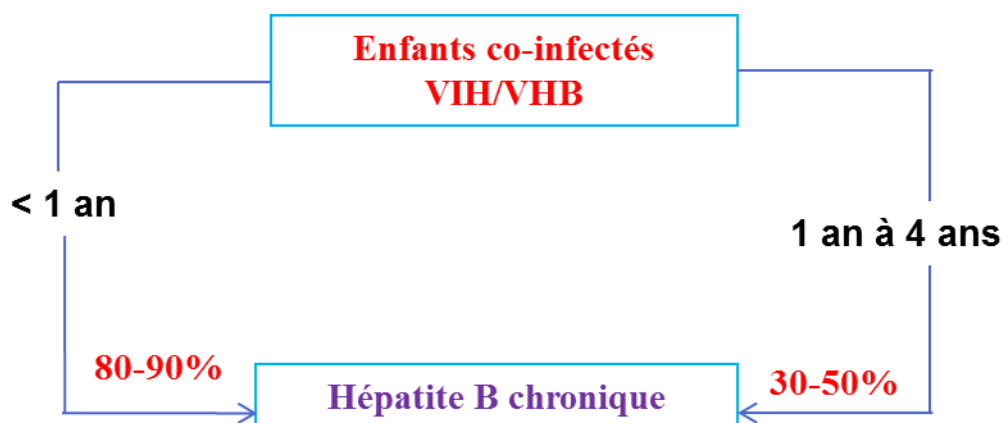


Figure 6 : Histoire naturelle de la coïnfection par l'hépatite B chez l'enfant infecté par le VIH (Puoti et al 2008, OMS (protocole 7) 2012).

Par rapport à la mono-infection par le VHB, il a été montré que chez les patients coinfectés par le VIH et le VHB non traités, la réponse des lymphocytes T spécifiques du VHB était altérée (Crane M et al 2010, Chang J.J et al 2009, Chang J.J et al 2005) et l'apoptose intra-hépatique était significativement augmentée avec une augmentation des cellules T CD8 productrices d'IL-10, infiltrant le foie (Iser D.M et al 2011, Chang J.J et al 2007). Cependant, le principal facteur d'accélération de la progression de la maladie du foie pourrait être lié aux modifications de l'immunité innée et de l'activation immunitaire (Chang J.J et al 2007).

#### **4. Traitement de la co-infection VIH/VHB**

Le traitement antirétroviral actif sur le VHB a eu un impact profond sur l'amélioration du pronostic des patients coinfectés par le VIH et le VHB, avec une réduction substantielle de la mortalité globale liée à la maladie hépatique. Cependant, la mortalité reste élevée chez des individus coinfectés par VIH/VHB sous traitement antirétroviral actif sur le VHB.

Le traitement antirétroviral à base de ténofovir est recommandé pour les patients coinfectés par le VIH/VHB. Depuis 2014, les options de traitement les plus courantes incluent le fumarate de ténofovir disoproxil ou le ténofovir alafénamide avec l'emtricitabine ou lamivudine (Zhou K et al 2017, Phung B.C et al 2014).

L'objectif du traitement est la suppression de l'ADN du VHB, qui survient chez la majorité des personnes entre 1 et 3 ans suivant le début du traitement. Bien que cela ne soit pas recommandé, si le traitement doit être interrompu, la PCR de l'ADN du VHB et les transaminases doivent être contrôlées toutes les six semaines pendant 3 à 6 mois, afin de surveiller l'apparition d'une maladie hépatique sous-jacente.

Néanmoins, la prévention de la co-infection VIH/VHB reste le meilleur moyen pour éviter les complications et les comorbidités liées à cette co-infection. Ainsi, la prise en charge des enfants infectés par le VIH nécessite une optimisation de l'immunisation de ces enfants contre le VHB.

### **III- Coïnfection VIH/Rougeole**

Les enfants infectés par le VIH, courent un risque particulier de contracter la rougeole, car ils reçoivent moins d'anticorps anti-rougeole maternels in utero (Scott S et al 2007) et présentent des taux élevés d'échec du vaccin primaire et secondaire (Moss W.J et al 2007). La thérapie antirétrovirale est devenue de plus en plus disponible, permettant à un plus grand nombre d'enfants infectés par le VIH de survivre à l'âge adulte, bien au-delà de leur vaccination standard contre la rougeole, à neuf mois. Il est important d'étudier les populations coinfectées

par le VIH et la rougeole, car elles courent elles-mêmes un risque élevé de lésions et peuvent jouer un rôle dans la diminution de l'immunité du groupe, dans les zones d'épidémie de VIH.

### **1. Données épidémiologiques sur la rougeole**

#### ***1-1 Au niveau mondial***

La rougeole demeure l'une des principales causes de morbidité et de mortalité de l'enfant dans de nombreuses régions du monde (Wolfson L.J et al 2009, Moss et Griffin 2006, Nandy et al 2006). Elle est l'unique maladie cutanée de l'enfant qui est associée à une mortalité importante avec un taux de létalité de 5 à 10% en Afrique (Grais R.F et al 2007, Nandy et al 2006) et jusqu'à 25% dans les camps de réfugiés (Shanks G.D et al 2011, Moss W.J et al 2007). La mortalité est plus élevée chez les filles, et les décès liés à l'infection aiguë sont dus à des infections secondaires résultant d'une suppression de la réponse immunitaire induite par la rougeole dont le mécanisme est mal connue (Shanks G.D et al 2011, Garenne M 1994, Tamashiro V.G et al 1987, Beckford AP et al 1985). En plus des risques de l'infection aiguë, les enfants, en particulier les garçons âgés de moins de 2 ans, sont également vulnérables au développement de la panencéphalite sclérosante subaiguë, qui est une maladie neurologique progressive et mortelle associée à une infection persistante du système nerveux (Bellini W.J et al 2005, Cattaneo R et al 1986, Freeman J.M et al 1967).

En l'an 2000, 25 millions de cas de rougeole et 150 000 cas de décès causés par la rougeole ont été rapportés, au niveau mondial et surtout dans deux régions du monde, qui comptent à elles seules plus des trois quarts des cas et des décès ; l'Afrique équatoriale et tropicale et l'Asie du Sud et du Sud-Est (Zwang 2001). L'OMS a estimé qu'environ 114 900 personnes, principalement des enfants de moins de 5 ans, sont mortes de la rougeole en 2014 (Perry R.T et al 2015). En 2014, 266 701 cas de rougeole ont été signalés dans le monde et plus de 146 000 décès en 2013 (OMS, Wkly Epidemiol Rec 2014). Ces dernières années, il y a eu une résurgence des cas de rougeole aux États-Unis et en Europe (Whitaker J.A et al 2014). De 2010 à 2014, la région européenne a rapporté 135 600 cas de rougeole, avec 26 436 et 14 059 cas en 2013 et 2014, respectivement. De grandes épidémies ont été enregistrées principalement chez les non vaccinés et les personnes ayant un statut vaccinal inconnu en France, en Espagne, en Italie, en Allemagne et en Roumanie (Clemmons N.S et al 2015, Whitaker J.A et al 2014, Haralambieva I.H et al 2013, Poland G.A et al 2012). En 2014, les États-Unis ont signalé 668 cas de rougeole et c'était le plus grand nombre de cas annuels rapportés depuis la déclaration de l'élimination de la rougeole des États-Unis en 2000 (Whitaker J.A et al 2014). De janvier à avril 2015, un total de 159 cas de rougeole (dont 18%

ayant reçu le vaccin antirougeoleux) ont été rapportés par le CDC (Clemmons N.S et al 2015, CDC 2015).

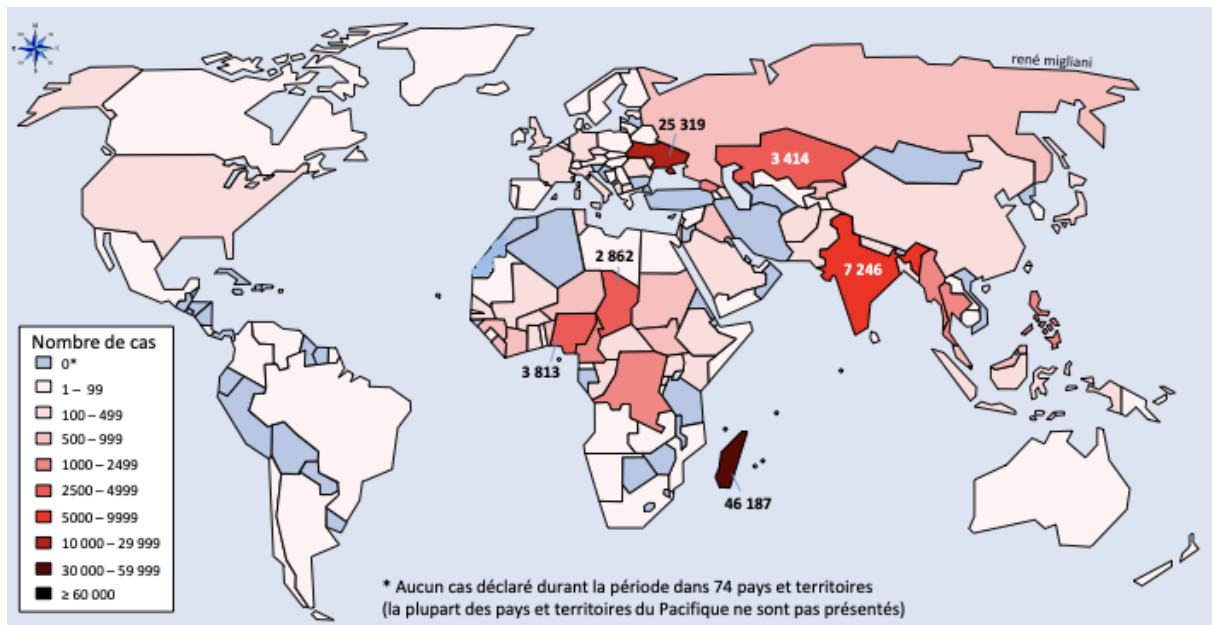


Figure 7 : Cas cumulés de rougeole (cas déclarés confirmés et suspects cliniques et épidémiologiques non testés) dans le monde de janvier à mars 2019 (nombre de cas indiqués pour les pays avec au moins 2 500 cas cumulés) - Sources : OMS Genève, OMS Afrique (OEW n°15-2019), ANSP France.

La grande majorité des cas de rougeole sont attribuables à l'échec de l'administration ou de la réponse au vaccin (CDC 2015). Ainsi, le nombre de cas de rougeole a continué d'augmenter en 2019. D'après les données préliminaires pour l'ensemble du monde, le nombre de cas déclarés a augmenté de 300 %, lors des trois premiers mois de 2019 par rapport à la même période en 2018. En mars 2019, 59 943 cas de rougeole ont été déclarés en Afrique. Parmi un total de 34 300 cas de rougeole signalés au cours des deux premiers mois de l'année 2019 dans 42 pays de la région européenne, 13 cas de décès par rougeole ont été signalés dans trois pays (Albanie, Roumanie et Ukraine) (OMS 2019). Entre 2005 et 2018, la rougeole a été à l'origine de 2 365 000 décès estimés dans le monde, et majoritairement les enfants de moins de 5 ans (Migliani R 2019).

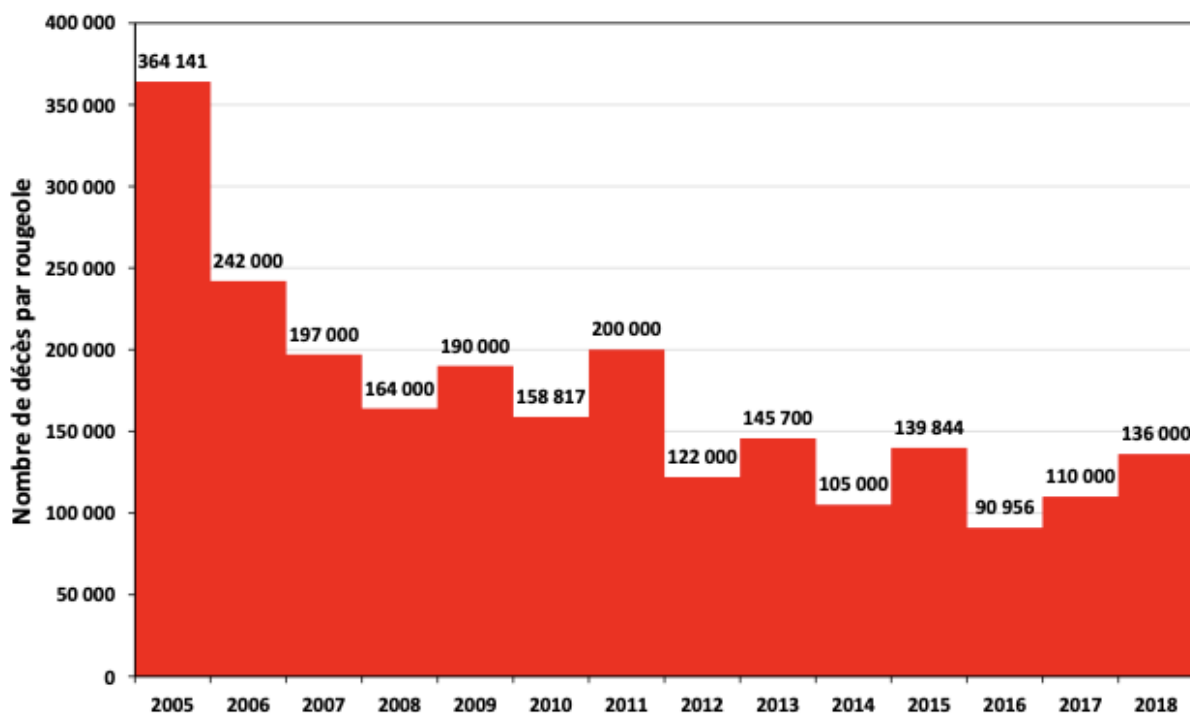


Figure 8 : Nombre de décès de la rougeole estimés dans le monde (2005-2018) (Migliani R 2019).

### ***1-2 Rougeole au Maroc***

Au Maroc, avant l'introduction du vaccin antirougeoleux en 1981, environ 120 000 cas de rougeole ont été signalés par année. Cependant, malgré une couverture vaccinale de 90% en 1996, 1324 cas de rougeole ont été rapportés (OMS 2008). Les cas de rougeole ont connu une augmentation substantielle atteignant 11 000 en 2003, et ce nombre est passé à 2248 cas en 2007, suite à l'introduction en 2003 d'une deuxième dose du vaccin en routine, contre la rougeole, pour tous les enfants de 6 ans à l'entrée scolaire (Ministère de la santé marocain, OMS 2005 et 2009). Le Maroc enregistre des cas suspects de rougeole chaque année, en dépit de la forte couverture vaccinale pour la dose de routine et de la campagne de vaccination de masse en 2008 (OMS 2013).

### **2. Pathologie de la rougeole**

La période de contagiosité débute environ 4 jours avant l'apparition de l'éruption cutanée et persiste jusqu'à 4 jours après le début de l'éruption. Elle peut être plus longue chez les sujets malnutris ou immunodéprimés (OMS 2009). Ainsi, 90% des personnes non immunisées contre le virus vont attraper la rougeole si elles partagent le même espace avec une personne infectée. Les premières cellules infectées sont celles de la muqueuse respiratoire (Riley E.C et al 1978). Ainsi, les macrophages et les cellules dendritiques sont les cellules infectées au niveau de la voie respiratoire et vont ensuite transporter le virus dans les ganglions lymphatiques locaux. La réplication du virus dans les ganglions lymphatiques induit une

première virémie qui provoque l'infection du système réticulo-endothélial (Sherman F.E et Ruckle 1958).

Les monocytes principalement, mais aussi certains lymphocytes sont infectés à ce stade et contribuent ainsi à la diffusion du virus dans tout l'organisme. Il s'ensuit du 5 au 7<sup>ème</sup> jour une virémie secondaire menant à une infection généralisée avec une localisation prédominante au niveau du tractus respiratoire, cutané et conjonctival (Ruckle et Rogers 1957). Dans le tractus respiratoire, l'infection des cellules épithéliales est due à la migration de cellules dendritiques et de lymphocytes infectés qui expriment des particules virales à leur surface (Delpeut S et al 2012).

L'étape initiale de la maladie, qui correspond à la dissémination du virus dans l'organisme, est silencieuse. La phase prodromique, caractérisée par des symptômes de fièvre, de toux, de conjonctivite et de rhume, commence en moyenne du 10 aux 12 jours après l'infection. Un ou deux jours avant l'éruption, des tâches de Koplik, signes de la rougeole, apparaissent sur la muqueuse buccale et persistent un ou deux jours après l'éruption. L'éruption de type érythémateux maculo-papulaire, apparaît d'abord à la racine des cheveux et descend ensuite progressivement vers le visage, le cou, la partie inférieure du corps et les extrémités. L'éruption s'efface dans l'ordre d'apparition à partir du troisième jour, laissant des zones brunes décolorées (Koplik H 1896).

### **Complications de l'infection**

La fréquence de complications est relativement élevée et varie en fonction de l'état de santé général et de l'âge des patients. Les complications sont généralement plus sévères chez les adultes mal nourris et immunodéprimés. L'enfant infecté tend à développer une maladie respiratoire légère, facilement confondue avec le rhume (Naim H.Y 2015). Les complications les plus fréquentes sont la diarrhée, l'otite ou la pneumonie. Plus rarement, les patients peuvent aussi être atteints de différents types d'encéphalites : encéphalite aiguë, encéphalite aiguë progressive, panencéphalite sclérosante subaiguë.

Le taux de mortalité peut atteindre 30% dans certaines régions, plus particulièrement dans les pays en voie de développement (OMS 1999). Cependant, avec l'amélioration des conditions d'hospitalisation et des systèmes de santé surtout dans les pays développés, ce taux est devenu inférieur à 0,5%. Dans les populations où le niveau de malnutrition est très élevé et les soins sanitaires adéquats sont absents, la mortalité atteint 10% et en cas de complications graves, ce taux peut atteindre 20 à 30% (OMS 2012 et 2014). Dans la majorité des cas mortels, les patients meurent de surinfections virales ou bactériennes, facilitées par un état d'immunosuppression suivant la maladie de la rougeole.

La vaccination a entraîné une baisse de 60 à 75% des décès soit 25% de la baisse de la mortalité chez les enfants de moins de 5 ans (Naim H.Y 2015). Bien que le taux de mortalité lié à la rougeole ait diminué, de nombreux facteurs de risque persistent. Les enfants immunodéprimés suite au VIH/sida, les enfants ayant la leucémie ou la malnutrition, présentent une réponse vaccinale très faible (Polonsky J.A et al 2013, Gowda V.K et al 2012, Breitbart V et al 1973). Il y a aussi le voyage vers les zones endémiques ou le contact avec les voyageurs en provenance de ces zones et la perte des anticorps passifs chez les nourrissons avant l'âge de la vaccination de routine (Clements C.J et al 1995, Diaz T et al 1992).

### **Cas de rougeole et grossesse**

L'infection par le virus de la rougeole durant la grossesse constitue un risque élevé de complications maternelles, fœtales et néonatales. En traversant la barrière placentaire, le virus de la rougeole induit une dysfonction placentaire avec un risque important de mort fœtale in utero, de fausse couche spontanée du premier trimestre, de fausse couche tardive et d'accouchement prématuré, mais sans risque de malformation fœtale (Anselem O et al 2011). Une étude rétrospective portant sur 55 cas de rougeole pendant la grossesse, en Namibie, lors de l'épidémie de 2009-2010, a montré un risque accru de mortalité maternelle, d'avortement spontané et de mort fœtale in utero. Des complications maternelles ont été rapportées chez 71% des cas avec des diarrhées, des pneumonies et trois encéphalites dont une fatale ; cinq patientes sont décédées (Ogbuano I.U et al 2014).

### **3. Physiopathologie de la co-infection VIH/Rougeole**

La rougeole survenant chez les sujets immunodéprimés, donne lieu à des complications souvent très graves comme le Syndrome de Détresse Respiratoire Aiguë (avec ou sans surinfection bactérienne) compliquant les pneumopathies interstitielles ou l'encéphalite subaiguë à inclusions (Rafat C et al 2013).

L'infection par le VIH est associée à un risque accru de décès par la rougeole (Le Roux D.M et al 2012). Dans les régions de forte prévalence du VIH-1, la coïnfection VIH/Rougeole augmente doublement la probabilité de décès chez les enfants hospitalisés souffrant de la rougeole (Moss W.J et al 2008). La coïnfection de la rougeole et de l'infection par le VIH est particulièrement fréquente dans les pays en développement (Gershon A et al 2010).

La mortalité liée à la rougeole est principalement due à une sensibilité accrue aux infections bactériennes et virales (Beckford A et al 1985) résultant de lésions muqueuses directes dues à une infection par le virus de la rougeole et à l'immunosuppression induite par la rougeole (Griffin D.E et al 2010). En outre, les enfants infectés par le VIH courent un risque particulier

de développer la rougeole car ils reçoivent moins d'anticorps maternels contre la rougeole in utero (Scott S et al 2007) et présentent des taux élevés d'échec du vaccin primaire ce qui induit une diminution de l'immunité plus rapide que prévu (Moss W.J et al 2007). Si la thérapie antirétrovirale permet à un plus grand nombre d'enfants infectés par le VIH de survivre jusqu'à l'âge adulte, la vaccination anti-rougeole est essentielle pour éviter la coïnfection et ses complications, ainsi que la propagation du virus de la rougeole.



## **I. Principe de la vaccination**

L'immunisation confère au corps humain les moyens de se défendre contre une infection avant qu'elle ne survienne. Dans l'immunisation active, il s'agit de stimuler le système immunitaire par un produit immunisant connu et contrôlé en évitant les conséquences liées à l'infection naturelle. Dans l'immunisation passive, il s'agit d'un transfert d'anticorps, les immunoglobulines (Ig), provenant d'un sujet immunisé à un autre qui ne l'est pas.

La vaccination joue principalement sur la mémoire immunitaire en permettant la mise en place rapide de moyens de défense spécifiques. Elle induit l'expansion d'un ensemble d'effecteurs spécifiques au niveau humoral et cellulaire et permet ainsi d'assurer la destruction ou l'élimination accélérée de l'agent infectieux pathogène correspondant (Bloom et Zinkernagel 1996). La voie d'administration de l'antigène vaccinal protecteur et sa nature représentent des éléments déterminants dans la réponse des lymphocytes et l'établissement de la mémoire immunitaire (Beverley P.C 1997). De même, de nombreux facteurs propres au sujet vacciné (âge, infections, sexe, facteurs génétiques, conditions physiologiques, traitements médicamenteux) influencent sa capacité immunitaire et par conséquent sa réponse à l'antigène vaccinal (Tron E 1995 a et b).

### ***1. Vaccination et réponse immunitaire***

Le système immunitaire humain est un complexe de différents organes, de cellules et de molécules qui reconnaissent, neutralisent et éliminent les micro-organismes infectieux (Murphy K 2012). Ce système reconnaît également et répond de la même manière aux antigènes vaccinaux pour produire une protection immunologique contre les organismes pathogènes.

Lorsque des antigènes pathogènes ou vaccinaux sont détectés, ils sont phagocytés et dégradés par les cellules innées qui une fois activées, sécrètent de nombreuses cytokines et chimiokines qui, à leur tour, activent et recrutent d'autres cellules immunitaires sur le site de l'infection. Les macrophages et les cellules dendritiques présentent des peptides provenant du pathogène détruit sur leur surface cellulaire en utilisant les molécules du complexe majeur d'histocompatibilité (CMH). Les cellules présentatrices d'antigène migrent vers les ganglions lymphatiques où elles présentent le complexe peptides-CMH à des lymphocytes T CD4 naïfs, qui deviennent ainsi des cellules actives (Murphy K 2012).

Les antigènes qui stimulent directement les lymphocytes B sans la participation des lymphocytes T, déclenchent des réactions immunitaires humorales et sont appelés des antigènes T indépendants. Les antigènes qui ont besoin de l'aide des cellules T pour stimuler

les lymphocytes B et produire des anticorps sont appelés antigènes T dépendants, induisant une immunité à médiation cellulaire. La réaction en anticorps obtenue à la suite de la stimulation par des antigènes T indépendants est généralement plus faible et sans cellules mémoire. Le vaccin polysaccharidique contre le pneumocoque est un exemple de stimulation par des antigènes T indépendants, alors que le vaccin conjugué constitué de polysaccharides couplés à une protéine, représente l'exemple des antigènes T dépendants (Jacob G et al 2017, Lindsay B Nicholson 2016, Allison C et al 2015, Murphy K 2012).

Dans l'immunité dépendante des lymphocytes T, les lymphocytes T CD4 reconnaissent l'antigène et stimulent la prolifération des lymphocytes B et la production d'anticorps. Lorsque les lymphocytes B prolifèrent, ils se différencient également en plasmocytes producteurs d'anticorps. Les anticorps produits ont diverses fonctions dont les plus importantes sont d'inactiver les toxines protéiques solubles (antitoxines), faciliter la digestion intracellulaire des bactéries en endommageant la membrane bactérienne (lysines), empêcher la reproduction des virus pathogènes (anticorps neutralisants) et l'adhésion bactérienne aux surfaces de la muqueuse. En réponse aux vaccins, les premiers anticorps produits sont principalement des IgM, avec un passage progressif aux IgG dans les semaines suivantes (Jacob G et al 2017).

### **2. Mémoire immunitaire**

La mémoire immunitaire est le réservoir d'anticorps et de cellules T et B mémoire prêts à l'action. En raison de cette mémoire, une infection secondaire sera très légère ou ne se produira pas du tout. Les anticorps et les cellules générées dans le centre germinatif en réponse à la première rencontre avec l'antigène, sont hautement spécifiques, restent dans l'organisme et sont pour la plupart d'isotype IgG. Les plasmocytes à longue durée de vie qui se fixent sur la moelle osseuse assurent la production constante d'anticorps protecteurs, tandis que les cellules B mémoire, prolifèrent et se différencient en réponse à une stimulation secondaire avec l'aide des lymphocytes T CD4. Le taux maximal d'anticorps induits après la vaccination, reflète directement le nombre de plasmocytes générés, alors que la disparition des anticorps reflète leur disparition. La durée de la persistance des anticorps est directement liée au taux atteint après la vaccination (Capolunghi F et al 2013).

La mémoire cellulaire de type T est médiée par des cellules T "mémoire centrale" qui patrouillent les zones des cellules T des tissus lymphoïdes secondaires où elles peuvent proliférer rapidement en réponse aux antigènes, présentés par les cellules dendritiques (Sallusto F et al 2010). En réponse à une exposition vaccinale (rappel) ou infectieuse, ces cellules prolifèrent très rapidement et se différencient, en plasmocytes producteurs de taux

élevés d'anticorps ou en lymphocytes T cytotoxiques capables d'éliminer l'antigène ou les cellules infectées. La mémoire cellulaire conférée par les lymphocytes B et T permettent au système immunitaire de réagir rapidement et de neutraliser les infections secondaires causées par des agents pathogènes déjà rencontrés par l'organisme.

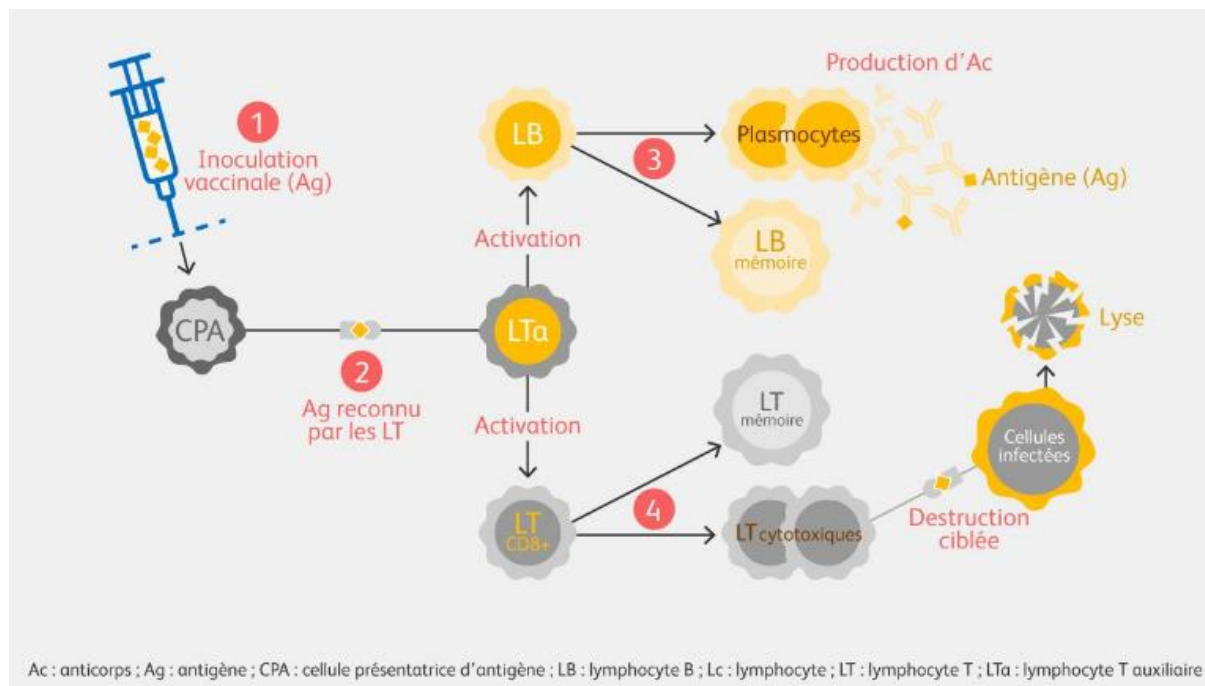


Figure 9 : Vaccination et réponse immunitaire (Cahier des pharmaciens 2019).

## II. Classification des vaccins

Les vaccins peuvent être divisés en deux catégories principales, les vaccins réplicatifs et les vaccins non réplicatifs. Les vaccins non réplicatifs peuvent être subdivisés en vaccins tués/inactivés, sous-unitaires et conjugués, tandis que les vaccins réplicatifs sont exclusivement vivants atténués.

### 1. Vaccins inactivés (inerts ou non réplicatifs)

Ces vaccins de nature protéinique (de la capsid, enveloppe virale ou de la paroi bactérienne), mettent en jeu la mémoire immunologique thymo-dépendante, faisant intervenir les cellules T mémoire. Néanmoins, afin de maintenir des niveaux protecteurs d'anticorps après la vaccination, les vaccins non réplicatifs nécessitent des doses de rappel. Ainsi, une nouvelle injection déclenche l'ascension des IgG protectrices (Cagigi A et al 2012, Guide des vaccinations français 2012). Ces vaccins peuvent être :

Des vaccins complets ou à germes entiers, qui induisent des réactions immunitaires de grande diversité dont certaines peuvent être indésirables. L'agent bactérien ou viral est inactivé par différents procédés chimiques et dans des conditions telles que son immunogénicité est

préservée (exemple : vaccin coquelucheux).

Des vaccins sous-unitaires ou à fractions antigéniques, qui sont issus de la meilleure connaissance de la structure des agents infectieux et de leurs facteurs de virulence avec une activité stimulatrice plus précise. Cependant, ils sont souvent peu immunogènes, car ils représentent une petite partie de l'agent pathogène et peuvent nécessiter des vaccinations multiples, à fortes doses pour conférer une immunité protectrice (Coffman R.L et al 2010). Ces vaccins sont soit des particules virales, fractionnées, soit des toxines naturelles détoxifiées (anatoxines), soit des antigènes capsulaires (polysaccharides de pneumocoques ou de méningocoques) ou membranaires (protéines bactériennes ou virales).

Des vaccins avec antigènes polysidiques, qui induisent une réponse thymo-indépendante, moins complète et moins durable, avec un effet de rappel limité (Cagigi A et al 2012). L'efficacité de ces vaccins est très amoindrie chez les enfants de moins de 2 ans.

Des vaccins conjugués, afin de fournir une aide accrue des lymphocytes T à partir des lymphocytes T CD4 qui produisent les cytokines de type 2 et des réponses immunitaires améliorées, ces vaccins sont obtenus en assemblant des polysides très spécifiques à une protéine porteuse, permettent de produire une réponse thymo-dépendante plus intense et plus durable (Allison C et al 2015, Cagigi A et al 2012). La conjugaison des polysaccharides capsulaires des pneumocoques et des méningocoques a permis le développement de vaccins récents particulièrement efficaces pour tous les âges comme le vaccin contre l'*Haemophilus influenzae*, le pneumocoque et les types de méningocoques A, C, W et Y (Delany I et al 2014).

### **2. Vaccins vivants atténués (vaccins répliatifs)**

Les vaccins vivants atténués sont constitués de virus vivants ou de bactéries qui ont été soumis à des passages répétés dans différentes cultures de cellules hôtes, ou à des cultures dans des conditions sous-optimales, permettant ainsi la sélection de souches moins virulentes. Les pathogènes vivants atténués subissent habituellement une réplication lente limitée au site d'injection. Par conséquent, avec de tels vaccins, des rappels peuvent ne pas être nécessaires, sauf exception. Leur coût est donc, en général, modéré et ils immunisent sans adjuvant. Les vaccins vivants atténués induisent une réponse immunitaire spécifique, cellulaire et humorale en provoquant principalement une réponse lymphocytaire T, à la fois des lymphocytes T CD4 et des lymphocytes T cytotoxiques. Par conséquent, suite à la déplétion des lymphocytes T CD4, les personnes infectées par le VIH-1 répondent faiblement à la vaccination et les adultes et les enfants connaissent une baisse rapide de l'immunité. De plus, ces vaccins sont

considérés comme particulièrement dangereux pour les enfants infectés par le VIH-1 dont le système immunitaire est affaibli. En effet, l'échec de la vaccination ou la réversion de la virulence peut provoquer une maladie ou une chronicité. De ce fait, ces vaccins sont contre-indiqués dans certains cas d'immunodépression sévère (Guide des vaccinations français 2012, Cagigi A et al 2012).

Tableau 1 : Différents types des vaccins

<b>Vaccins entiers</b>	Bactériens	Vivants atténués	BCG
		Tués inactivés	Coqueluche (vaccins à germes entiers)
	Viraux	<b>Vivants atténués</b>	<b>Rougeole</b> , Oreillons, Rubeole, Fièvre Jaune
		Tués inactivés	Poliomyélite injectable, Grippe, Hépatite A, Rage
<b>vaccins sous-unités</b>	Anatoxines		Diphtérie, Tétanos
	Polysaccharides capsulaires		Heamophilus Influenza type b, Pneumocoque, Typhoïde
	Recombinants		<b>Hépatite B</b>
	Antigènes divers		Coqueluche (vaccins acellulaire))

### III. Impact de la vaccination

La vaccination constitue incontestablement l'une des plus grandes innovations en matière de prévention en santé publique. C'est le moyen le plus efficace et le plus rentable dans l'histoire de l'humanité. Son impact principal a été de réduire considérablement la mortalité et la morbidité dues aux maladies infectieuses. Elle a révolutionné la santé de l'enfant dans le monde en évitant des millions de décès depuis le lancement par l'OMS en 1974, du programme élargi de vaccination (PEV) (OMS 2003). Ce programme s'est concentré initialement sur la vaccination des nourrissons et des femmes enceintes, sélectionnant un nombre limité de vaccins disponibles (BCG, rougeole, coqueluche, diphtérie, tétanos, poliomyélite) et permettant une rapide amélioration de la couverture vaccinale mondiale. Le but était d'obtenir, grâce aux outils vaccinaux disponibles, l'impact maximal sur la mortalité évitable. L'action menée dans les années 1980 pour instaurer la vaccination universelle des enfants, s'est traduite par une hausse rapide de la couverture vaccinale. Pendant les années

1990, une couverture vaccinale globale de plus de 70% a été maintenue avec les vaccins de base du PEV, mais dans certains pays de ressources limitées, notamment en Afrique subsaharienne, cette couverture a chuté et des millions d'enfants ont ainsi été exposés sans protection à des maladies de l'enfance potentiellement mortelles (OMS 2003). Depuis 1974, d'importants progrès ont été réalisés dans le développement de vaccins supplémentaires, doublant le nombre total de vaccins dans le calendrier régulier du PEV et portant à 25 le nombre total de maladies évitables par la vaccination avec des vaccins homologués disponibles (OMS 2016).

L'OMS estime que les vaccins préviennent 2 à 3 millions de décès par an et que ces chiffres augmenteraient d'au moins 6 millions si tous les enfants recevaient les vaccins du calendrier recommandé (Karch et Peter Burkhard 2016, Andre P.E et al 2008,). Ainsi, grâce aux progrès et aux campagnes réussies de vaccination, deux maladies infectieuses ont été éradiquées, la variole humaine qui a été officiellement déclarée éliminée de la population humaine en 1979 (Greenwood B 2014) et la peste bovine en 2011 (Morens D.M et al 2011). D'autres maladies comme la rougeole et la poliomyélite sont également proches de l'élimination, mais il reste encore beaucoup à faire (Greenwood B 2014).

## **IV. Vaccin de l'hépatite B et immunisation des enfants infectés par le VIH**

### **1. Historique du vaccin de l'hépatite B**

Le premier vaccin contre le VHB a été mis au point par une équipe française dont l'autorisation de mise sur le marché a été obtenue en 1981 en Amérique et en 1982 en France (Zanetti A.R et al 2008). C'était un vaccin d'origine plasmatique obtenu à partir du sérum des personnes atteintes d'hépatite B chronique, par purification et inactivation de l'AgHBs (Szmuness W et al 1981). Les vaccins plasmatiques ont laissé progressivement leur place aux vaccins recombinants, en raison du risque potentiel d'infection par le sang (McAleer W.J et al 1984). Le vaccin recombiné contre le VHB a été obtenu en clonant le gène 'VHB S' dans des cellules de levure, ce qui a donné la petite protéine S du VHB non glycosylée (Stephenne J et al 1990).

### **2. Vaccins disponibles**

Vaccins monovalents :

- ENGERIX B® (GlaxoSmithKline) dosé à 10µg/ml pour les enfants et les nouveaux nés ou à 20 µg/ml pour les enfants de plus de 16 ans.

- GenHevac B PASTEUR® (Sanofi Pasteur MSD) dosé à 20µg/0.5ml indiqué quel que soit l'âge.
- HBV AXPPO® (Sanofi Pasteur MSD) dosé à 5 µg/0.5ml pour les enfants jusqu'à l'âge de 15 ans, à 10 µg/ml pour les sujets à partir de 16 ans et à 40 µg/ml pour les sujets dialysés.

### Vaccins combinés :

- TWINRIX® (GlaxoSmithKline) contre le VHB et le VHA dont la formule enfant contenant 10µg d'AgHBs/0.5ml.
- INFANRIXHEXA® (GlaxoSmithKline) qui est un vaccin conjugué contre la diphtérie, le tétanos, la coqueluche formule acellulaire, la poliomyélite inactivé, l'Hépatite B et l'Haemophilus Influenza de type b (DTCa-HepB-P-Hib). Le dosage de ce vaccin contient 10µg de l'AgHBs et il est indiqué chez les enfants âgés de moins de 36 mois.

Au Maroc, les vaccins disponibles contre l'hépatite B sont ENGERIX B® (GlaxoSmithKline) et GenHevac B PASTEUR® (Sanofi Pasteur MSD) sous forme monovalent et INFANRIXHEXA® (GlaxoSmithKline) sous forme combinée.

### **3. Immunogénicité du vaccin**

Il a été démontré que plus de 95% des nouveaux nés, des enfants, des adolescents et des adultes immunocompétents développent des niveaux protecteurs d'Anti-HBs en réponse aux 3 doses du vaccin (OMS 2009). Cependant, ces niveaux diminuent après 40 ans. La séroprotection de l'hépatite B demeure  $\geq 90\%$  jusqu'à l'âge de 49 ans et supérieur à 80% jusqu'à l'âge de 60 ans, chez les adultes qui sont par ailleurs en bonne santé (Van Der Meeren O et al 2015, OMS 2009). Des études ont montré que la durée de la protection conférée par la vaccination d'un sujet immunocompétent, pouvait dépasser 15 ans et que, de plus, il existait une mémoire immunitaire provenant de lymphocytes T centraux pouvant agir lors d'un nouveau contact avec le virus en stimulant la production d'anticorps par l'intermédiaire des lymphocytes B (Zarski J.P 2006). En général, un titre d'anticorps Anti-HBs  $\geq 10$  mUI/mL est considéré comme protecteur chez un sujet qui a complété son schéma vaccinal. Une perte de ces anticorps ou un niveau indétectable d'Anti-HBs plus tardivement, ne signifie pas nécessairement une perte de l'immunité et une mémoire immunitaire spécifique au VHB peut être démontrée par l'administration d'une dose de rappel, suivie du dosage des Anti-HBs. L'augmentation rapide des Anti-HBs, représente une réponse anamnétique et indique la présence de cette mémoire (Samia M et al 2016).

Certains facteurs pourraient intervenir et engendrer une mauvaise réponse immunitaire comme par exemple : l'intoxication alcoolique, l'obésité, le tabagisme, l'insuffisance

cardiaque et l'immunodépression. Ainsi, dans le cas des sujets infectés par le VIH, plusieurs études ont montré que la séroconversion post-vaccinale était faible et varie de 12% à 78% chez les enfants et de 18% à 56% chez les adolescents et les adultes infectés par le VIH, en comparaison avec une séroconversion supérieure à 90% chez la population non infectée (Pasricha N et al 2006, Laurence J.C 2005, Overton E.T et al 2005).

Les enfants infectés par le VIH-1 non traités produisent des taux plus faibles d'anticorps après la vaccination contre le VHB, en comparaison avec les enfants traités et les témoins sains appariés selon l'âge (Fernandes S.J et al 2008, Pippi F et al 2008). Lors de la revaccination après traitement antirétroviral, les réponses à court terme au vaccin varient de façon constante, allant de 46% à 92% des répondeurs à 38% après 2 ans et à 25% après 4 ans de vaccination (Lao-araya M et al 2007, Abzug M.J et al 2009). Parmi les enfants revaccinés une seconde fois, seulement 37% avaient un titre immunisant (Abzug M.J et al 2009).

#### **4. Couverture vaccinale de l'hépatite B**

Selon l'OMS, les indicateurs du bon déroulement des programmes de vaccination doivent se concentrer sur la couverture de la dose administrée à la naissance et la couverture des 3 doses du vaccin anti-hépatite B. La couverture estimée nécessaire pour réduire la prévalence de l'infection par le VHB à moins de 2% chez les enfants, est une couverture  $\geq 65\%$  de la dose administrée à la naissance et  $\geq 85\%$  de la troisième dose (OMS 2011).

En 2017, 187 pays (96%) avaient introduit le vaccin contre l'hépatite B. La couverture mondiale de la population recevant 3 doses de ce vaccin est estimée à 84% et atteint même 90% dans la région du Pacifique occidental (OMS 2019, Casey R.M et al 2016). De plus, des 96 pays qui ont introduit la dose 0 dans les 24 heures suivant la naissance, la couverture était de 39% (OMS 2018, Casey R.M et al 2016). En 2016, la couverture mondiale avec une dose à la naissance était à 39%, elle était estimée à 84% avec 3 doses au niveau mondial, à 80% dans la Région de la Méditerranée orientale et à 74% dans la Région Africaine (OMS 2018).

#### **5. Recommandations internationales de la vaccination des enfants vivant avec le VIH contre l'hépatite B**

##### **a. Recommandations de l'OMS**

Puisque la transmission périnatale ou post-natale du VHB est une cause importante de l'infection chronique, la première dose devrait être administrée dès que possible (< 24 heures) après la naissance, même dans les pays de faible endémie. La dose à la naissance doit être suivie par 2 ou 3 doses espacées au minimum de 4 semaines.

Chez les sujets VIH positifs, il est recommandé de commencer le même schéma vaccinal et dès que possible pour obtenir une protection suffisante.



Les prématurés infectés par le VIH, doivent recevoir le vaccin contre le VHB à la naissance et être inscrits par la suite dans le calendrier national de vaccination. Mais si le poids à la naissance est < 2000 g, la dose de naissance ne doit pas être comptée et il faudra administrer 3 doses supplémentaires conformément au calendrier national de vaccination (OMS 2009).

### **b. Recommandations du réseau européen pédiatrique pour le traitement du sida (PENTA)**

Le schéma recommandé est de 4 doses (0, 1, 2/3 et 12/15 mois) et la dose 0 doit être administrée le plutôt possible après la naissance quel que soit le statut vis-à-vis de l'hépatite B de la mère et du nourrisson.

Pour les enfants non vaccinés, la vaccination peut être commencée à tout moment soit avec un schéma de 3 doses (0, ½ et 6 mois) ou selon le calendrier national en vigueur.

Pour les enfants avec des antécédents vaccinaux inconnus ou incomplets, il est recommandé de mesurer les marqueurs sérologiques et d'offrir une série complète de 3 doses aux enfants à risque en utilisant de préférence un vaccin combiné contre le VHA et le VHB.

Un test de séroconversion est recommandé après l'administration de la dernière dose et les résultats seront interprétés comme suit :

- Niveau d'Anti-HBs < 10 mUI/mL : une revaccination complète est recommandée.
- Niveau d'Anti-HBs entre 10-100 mUI/mL : une dose de rappel est recommandée si le sujet est immunocompétent, sinon à reporter s'il est immunodéprimé jusqu'à la reconstitution de l'immunité.
- Niveau d'Anti-HBs  $\geq$  100 mUI/mL : ce niveau confère une protection à long terme, mais il est recommandé de contrôler les anticorps, tous les 5 ans et puis annuellement si le sujet devient immunodéprimé (Menson E.N et al 2012).

### **c. Recommandations françaises**

Comme dans la population générale, cette vaccination est recommandée pour tous les enfants infectés par le VIH. Ainsi, un schéma de 2 doses normales, espacées d'un mois, est recommandé chez ces enfants avec un rappel plus tard, entre 6 et 12 mois (1, 2, 6/12).

À tout âge chez tous les patients vivant avec le VIH (enfants et adultes), il est recommandé de contrôler le titre d'Anti-HBs obtenu 1 à 2 mois, après la dernière injection. En cas de non réponse à la vaccination selon le schéma antérieurement proposé, des injections supplémentaires (10 µg chez l'enfant, 20 µg chez l'adulte) doivent être administrées avec un intervalle de 1 à 2 mois entre chaque injection et avec un dosage des Anti-HBs, 4 à 8 semaines après chaque injection, et ce, jusqu'à l'obtention d'un titre protecteur (au maximum trois injections supplémentaires).

Chez les non-répondeurs à au moins 6 injections vaccinales, il est proposé d'intégrer le ténofovir dans le traitement antirétroviral. Un contrôle annuel des marqueurs de l'hépatite B (AgHBs, Anti-HBs et anti-HBc) doit être réalisé afin de dépister une éventuelle infection.

Chez les sujets répondeurs à la vaccination, un contrôle sérologique annuel est recommandé afin de proposer une dose de rappel en cas de chute du titre d'Anti-HBs en dessous du titre protecteur.

Chez les sujets présentant des anti-HBc isolés, une dose de vaccin peut être proposée pour rechercher une réponse anamnestic (dosage des Anti-HBs). En cas de non réponse et en absence d'ADN/VHB détectable, la vaccination contre l'hépatite B doit être proposée à ces sujets (Haut Conseil de la Santé Publique français 2014, Philippe Morlat 2013).

### **d. Recommandations américaines**

Tous les nourrissons nés de femmes positives pour l'AgHBs, y compris les femmes coinfectées par le VIH, devraient recevoir le vaccin et les immunoglobulines contre le VHB dans les 12 heures suivant la naissance. Une deuxième dose entre 1 et 2 mois et une dose à l'âge de 6 mois (0, ½, 6) doivent être administrées.

Les nourrissons, les enfants et les adolescents infectés par le VIH doivent subir un test de dépistage quantitatif des Anti-HBs et de l'AgHBs 1 à 2 mois après la fin de la série de vaccination. Si le titre des Anti-HBs < 10 mUI/mL et que le résultat du test est négatif pour l'AgHBs, ils doivent être revaccinés avec une deuxième série du vaccin en administrant 3 doses suivies 1 à 2 mois et en répétant les tests de quantification des Anti-HBs (Siberry G.K et al 2013).

## **V. Vaccin de la rougeole et immunisation des enfants infectés par le VIH**

Le seul moyen de prévention est la vaccination contre le virus de la rougeole, qui est assurée par les programmes de vaccination des pays. Concernant le traitement, il n'existe aucun traitement spécifique et prophylactique contre la rougeole. Le traitement est principalement symptomatique, avec administration des apports hydriques suffisants, la désinfection rhinopharyngée au sérum physiologique et le traitement symptomatique de la fièvre.

La rougeole aiguë aggrave la carence en vitamine A en épuisant les réserves de vitamine A et en augmentant son utilisation, ce qui entraîne des lésions oculaires plus fréquentes et plus graves (Hamborsky J et al 2015). Ainsi, il a été montré que la supplémentation en vitamine A, entraînait une réduction de la morbidité et de la mortalité chez les enfants de moins de 5 ans (Imdad A et al 2017). L'OMS recommande l'administration intramusculaire de vitamine A à

tous les enfants dès que la rougeole est diagnostiquée, suivie d'une seconde dose le lendemain, même dans les pays développés où la rougeole est généralement bénigne. Les doses varient en fonction de l'âge du patient : 50 000 UI / dose pour les nouveau-nés de moins de 6 mois, 100 000 UI / dose entre 6 et 11 mois et 200 000 UI / dose, pour les enfants de 12 mois et plus. Si des signes cliniques de carence en vitamine A sont observés (taches de Bitot), une troisième dose doit être administrée 4 à 6 semaines plus tard (Perry R.T et Halsey N.A 2004, OMS 2011).

La ribavirine (analogue nucléosidique à large spectre) a une activité in vitro sur le virus de la rougeole, mais son efficacité in vivo n'est pas encore prouvée (Grancher N et al 2004). Cependant, elle peut être utilisée chez les sujets fragiles (en cas d'immunodépression), en cas de pneumopathies sévères (Gururangan S et al 1990) et dans le cas d'encéphalite subaiguë (Jeulin H et al 2008). Les avantages rapportés du traitement à la ribavirine sont notamment une diminution de la durée des symptômes, une hospitalisation plus courte, une réduction de l'apparition de complications liées à la rougeole et une réduction de la gravité des formes sévères des symptômes, en particulier une pneumonie et une détresse respiratoire (Pal G 2011, Barnard D.L 2004).

En cas de surinfection, il y a recours à l'antibiothérapie et à l'assistance respiratoire en cas de laryngite tardive et de pneumopathie grave de l'adulte et de l'immunodéprimé.

En effet, aucun traitement n'a prouvé son efficacité contre les complications neurologiques. Ainsi, l'absence de traitement spécifique de cette maladie éruptive confère une place primordiale à sa prévention.

### **1. Historique du vaccin de la rougeole**

Le virus de la rougeole a été isolé en 1957 par Enders et Peebles à partir du sang d'un patient infecté qui s'appelait « Edmonston ». Le premier vaccin atténué contre la rougeole a été homologué en 1963, mais une deuxième génération de vaccins plus atténuée par passages répétés à basses températures, dans des cellules de poulet des souches Edmonston-Enders (souches Schwarz, Edmonston-Zagreb, AIK-C et Moraten), est actuellement utilisée. De plus, les trois souches vivantes atténuées CAM-70, Leningrad-16 et Shanghai-191 ont été générées à partir de progéniteurs non-Edmonston sauvage (Rota P.A et al 2016, Griffin D.E et Pan C.H 2009, Rota J.S et al 1994). Tous les vaccins antirougeoleux appartiennent au génotype A. Le vaccin utilisé actuellement est un vaccin vivant atténué, mais un vaccin inactivé (virus inactivé au formol) a été initialement autorisé en 1963 puis retiré en 1967 (Griffin D.E et Pan C.H 2009). Ce vaccin inactivé a entraîné une exacerbation de la maladie, suite à l'exposition

au virus sauvage, conduisant à une rougeole atypique dans laquelle la vascularité et la pneumonie étaient associées à la formation de complexes immuns (Polack F.P et al 1999).

### **2. Vaccins disponibles**

-Vaccin monovalent ROUVAX® (ou ATTENUVAX), c'est un lyophilisat de virus vivant hyperatténué avec la souche Schwarz.

-Vaccin bivalent RUDIROUVAX® en association avec le vaccin contre la rubéole, c'est un lyophilisat de virus vivant hyperatténué avec la souche Schwarz.

-Vaccins trivalents ROR®, RORVAX®, en association avec le vaccin contre les oreillons et la rubéole, c'est un lyophilisat de virus vivant hyperatténué avec la souche Edmonston D.

### **3. Immunogénicité du vaccin**

La vaccination aboutit à des réponses immunitaires humorales et cellulaires similaires à celles générées par une infection naturelle, bien que le titre d'anticorps produit après la vaccination soit inférieur à celui produit à la suite d'une infection naturelle (Rota P.A et al 2016, Griffin D.E et Pan C.H 2009).

L'antigène rougeoleux majeur conférant l'immunité est l'hémagglutinine. Les pics d'anticorps atteints sont plus faibles que ceux observés lors d'une infection naturelle, et leur perte est plus rapide avec les vaccins hyper-atténués. De plus, ce taux semble diminuer avec le temps, ce qui suggère que les sujets vaccinés puissent perdre leur protection en fonction du taux d'anticorps induit au départ. Le cas de rougeole clinique a été documenté chez des personnes ayant subi un échec vaccinal (Reyes M.A et al 1987).

Le taux protecteur d'anticorps dépend du test utilisé pour la détermination des anticorps dans le sérum. En effet, seuls les anticorps neutralisants dirigés contre les protéines H et F protègent contre une infection (De Swart R.L et al 2005). La corrélation des résultats du test ELISA avec le niveau de protection dépend fortement de l'antigène utilisé pour mesurer les anticorps. Le test de neutralisation de plaques, mesure spécifiquement le taux d'anticorps neutralisants. Selon ce test, un taux d'anticorps < 120 mUI/mL est insuffisant pour protéger contre la rougeole et selon l'OMS le taux protecteur a été fixé à plus de 120 (> 120 mUI/mL) (Siberry G.K et al 2015, Cohen B.J et 2007).

### **4. Réponse au vaccin anti-rougeoleux**

Chez les immunocompétents, après une première dose du vaccin de la rougeole administrée à 9 mois, 85% des enfants développent une immunité protectrice contre la rougeole. Lorsque cette dose est administrée à 12 mois, 95% des enfants sont protégés contre la rougeole (Rota P.A et al 2016, Griffin D.E et Pan C.H 2009). Les anticorps ont été retrouvés 8 à 16 ans après

la vaccination chez 85% des sujets, même en l'absence d'une nouvelle exposition (Cutts F.T et al 1993). L'immunité conférée, apparaît environ 15 jours après la vaccination et plusieurs études ont montré que cette immunité persiste au moins 20 ans après la première dose du vaccin antirougeoleux (Davidkin I et al 2008, Miller C 1987, Xiang J.Z et Chen Z.H 1983).

L'infection par la rougeole peut causer une grave pneumonie à cellules géantes ou une maladie disséminée chez les personnes immunodéprimées (Enders J.F et al 1959). Bien que les vaccins vivants atténués, en général, soient contre-indiqués chez les immunodéprimés, la vaccination des enfants infectés par le VIH contre la rougeole n'a pas été associée à des effets indésirables potentiellement mortels (McLaughlin M et al 1988). Un rapport de pneumonie de rougeole mortelle post-vaccinal chez un adulte infecté par le VIH a limité l'utilisation du vaccin atténué contre la rougeole chez les enfants infectés par le VIH, avec un taux de lymphocytes TCD4 < 15% ou < 200 cellules/ $\mu$ L (Angel J.B et al 1998).

Cependant, malgré la sécurité relative de ce vaccin chez les enfants infectés par le VIH ayant des T CD4 > 15%, les taux de séroconversion et les titres d'anticorps ont été faibles. Le taux de séroprotection après la première dose du vaccin, chez des enfants sous traitement antirétroviral âgés approximativement de 15 mois, est compris entre 12,5% et 40% (Rudy B.J et al 1994, Krasinski K et Borkowsky W 1989).

#### **5. Couverture vaccinale de la rougeole**

Selon l'OMS, un schéma en une injection est insuffisant pour atteindre et maintenir les objectifs en matière de lutte contre l'épidémie, car une couverture vaccinale très élevée est nécessaire. Un schéma à 2 doses du vaccin ROR permet d'obtenir des niveaux plus élevés d'immunisation de la population et confère l'immunité collective, nécessaire pour arrêter la propagation de la rougeole. Cette meilleure immunisation de la population est obtenue grâce à la seconde dose de vaccination, qui permet de vacciner des enfants ayant échappé à la vaccination par la première dose, de rattraper un échec vaccinal primaire et de conférer également une immunité durable, qui prémunissant l'apparition de la maladie à l'âge adulte (OMS 2009).

Pour lutter efficacement contre la rougeole, il faut obtenir une couverture vaccinale d'au moins 95% pour la première dose et d'au moins 80% pour la seconde. Pour éviter les épidémies de la rougeole, la population doit avoir un taux d'immunité dépassant 93 à 95% et le maintien d'une couverture vaccinale élevée demeure la pierre angulaire d'une lutte efficace contre la rougeole. Dans les pays cherchant à réduire la mortalité imputable à la rougeole, la couverture doit être  $\geq 90\%$  au niveau national et  $\geq 80\%$  dans chaque région. Les pays visant

l'élimination, doivent atteindre une couverture  $\geq 95\%$  pour les 2 doses dans chaque région (Rota P.A et al 2016, Griffin D.E et Pan C.H 2009, OMS 2009).

Malgré la disponibilité du vaccin dans les programmes nationaux de vaccination, environ 85% des enfants de moins d'un an, au niveau mondial, ont reçu la première dose du vaccin antirougeoleux en 2014 et fin 2016 (Dabbagh A et al 2018, OMS 2018, OMS 2015). Cette couverture varie également selon les régions, allant d'une moyenne faible de 83% dans la région africaine définie par l'OMS et à une moyenne élevée de 93%, dans l'Amérique (OMS/UNICEF 2015). La couverture vaccinale systématique contre la rougeole diminue encore avec la deuxième dose recommandée à environ 35% pour les enfants de moins de deux ans et 53% aux âges plus avancés, dans le monde (OMS 2015, Harris J.B et al 2014). Fin 2016, 164 pays avaient inclus une seconde dose dans leur programme de vaccination systématique et 64% des enfants avaient reçu 2 doses de vaccin antirougeoleux conformément au calendrier de vaccination national (OMS 2018). En Amérique latine, il est estimé qu'une couverture élevée (95%) de la vaccination systématique par des campagnes de vaccination, permettait de faire des économies conséquentes, par rapport à une couverture plus modeste (85%). Au Canada et aux États-Unis, il est estimé que l'administration de 2 doses par la vaccination systématique ou dans le cadre d'une campagne de rattrapage avait dans les deux cas un rapport coût-avantage intéressant (Zhou F et al 2004, Pelletier L et al 1998). Des études effectuées en Afrique et en Asie du Sud-est ont montré que l'utilisation du vaccin contre la rougeole dans des interventions groupées pour la santé de l'enfant était très rentable (Fiedler et Chuko T 2008, Edejer T.T et al 2005). En général, les programmes qui fournissent 2 doses du vaccin antirougeoleux s'avèrent très efficaces, quelle que soit la méthode employée pour administrer ces doses (OMS 2009).

### **6. *Recommandations internationales pour la vaccination des enfants vivant avec le VIH contre la rougeole***

#### **a. Recommandations de l'OMS**

Compte tenu de la gravité de la rougeole chez les patients souffrant d'une infection à VIH à un stade avancé, cette vaccination doit être administrée systématiquement à tous les enfants asymptomatiques. Elle pouvait être aussi envisagée pour des enfants qui ont une infection à VIH symptomatique, s'ils ne sont pas à un stade d'immunosuppression sévère, conformément aux définitions classiques ( $CD4\% > 25\%$  pour les enfants de  $< 5$  ans ou numération des  $CD4 \geq 200$  si elles sont âgées de  $> 5$  ans) (OMS 2018).

Dans les zones de forte incidence à la fois du VIH et de la rougeole, une première dose

vaccinale est recommandée dès l'âge de 6 mois et deux autres doses supplémentaires doivent être administrées à ces enfants conformément au calendrier de vaccination national (OMS 2009).

### **b. Recommandations du réseau européen pédiatrique (PENTA) pour la vaccination des enfants infectés par le VIH**

Le schéma vaccinal proposé contre la rougeole est 2 doses du vaccin ROR dont une première doit être administrée après l'âge de 12 mois (12/13 mois de préférence) et une deuxième dose entre 3 et 4 ans (M12/13, A3/4).

Si les enfants sont exposés à la rougeole, le groupe sévèrement immunodéprimé devrait recevoir une immunisation passive avec de l'immunoglobuline quel que soit leur état de vaccination. Lorsque le risque est élevé, par exemple lors d'une épidémie de rougeole, les enfants peuvent être vaccinés dès l'âge de 6 à 9 mois, avec deux réserves :

- à moins de 12 mois, lorsque le taux de CD4 ne représente pas avec précision le degré d'immunosuppression, il faut donc tenir compte du statut clinique ;
- lorsque le vaccin ROR est administré avant l'âge de 12 mois, deux doses au moment habituel devraient également être données (Menson E.N et al 2012).

### **c. Recommandations Françaises**

Pour tous les vaccins vivants atténués, sauf pour le BCG qui est contre indiqué quels que soit le taux des T CD4, la vaccination est conditionnée par les seuils des CD4. Ainsi, ces vaccins sont contre indiqués en cas de taux de CD4 :

< 25% pour l'enfant âgé de moins de 12 mois.

< 20% pour l'enfant âgé entre 12 et 35 mois.

< 15% pour l'enfant âgé entre 36 et 59 mois.

< 200/mm<sup>3</sup> pour l'enfant âgé de plus de 5 ans et l'adulte.

En l'absence d'immunodépression, les recommandations sont les mêmes que dans la population générale. Ainsi, chez les enfants de moins de 2 ans un schéma vaccinal de 2 doses du vaccin ROR est recommandé. La première dose doit être administrée entre 12 et 24 mois et la deuxième entre 16 et 18 mois (12/24, 16/18) (Haut Conseil de la Santé Publique Français 2014, Philippe Morlat 2013).

Pour les enfants âgés de plus de 2 ans et qui n'ont pas été immunisés, il est recommandé de leur administrer 2 doses du vaccin ROR avec au moins 1 mois d'intervalle entre les deux injections (Philippe Morlat 2013).

En cas d'exposition à la rougeole, les immunoglobulines polyvalentes pourront être proposées. La vaccination peut être réalisée dans les 3 jours suivant l'exposition chez les personnes sans antécédent de rougeole et n'ayant pas reçu 2 doses du vaccin contre la rougeole, à condition que leurs CD4 soient supérieurs à 200 cellules/ $\mu$ l chez les enfants âgés de plus de 5 ans (Haut Conseil de la Santé Publique Français 2014, Philippe Morlat 2013).

En cas de non-réponse après vaccination, une seconde injection est recommandée et il n'y a pas lieu de faire plus de deux injections (Philippe Morlat 2013).

### **d. Recommandations Américaines**

L'âge minimum pour commencer ce vaccin est de 12 mois. Ainsi, deux doses du vaccin ROR sont recommandées pour toutes les personnes infectées par le VIH âgées de 12 mois ou plus qui n'ont pas de preuve d'immunosuppression sévère ( $CD4 \geq 15\%$  pour les sujets âgés  $\geq 6$  mois et ceux âgés de  $> 5$  ans et des numérations de  $CD4 \geq 200$  cellules/ $\mu$ l pour ceux âgés  $\geq 6$  mois). La première dose doit être administrée entre l'âge de 12 mois et 15 mois et la deuxième entre l'âge de 4 ans et 6 ans ou 28 jours après la première dose (M12/15, 28J/A4-6).

Les personnes infectées par le VIH qui ont été vaccinées avant l'initiation du traitement antirétroviral efficace, devraient recevoir 2 doses du vaccin ROR correctement espacées une fois le traitement a été établi sauf si elles ont d'autres preuves acceptables d'immunité contre le vaccin ROR (Siberry G.K et al 2013).

## **VI. La vaccination au Maroc**

Le premier vaccin introduit au Maroc, c'était le vaccin variolique en 1929. En 1949, le BCG a été introduit et demeurait l'unique vaccin administré jusqu'en 1963 où ont été ajoutés le vaccin combiné contre la diphtérie, le tétanos et la coqueluche. Entre 1964 et 1967, une campagne de vaccination contre la poliomyélite a été réalisée dans les grandes villes du royaume. Le PEV a été créé au Maroc en 1981 et une première évaluation de la couverture vaccinale des enfants de moins de 5 ans montrait qu'à peine un enfant sur deux était vacciné. Il a fallu attendre 1987 pour voir naître le PNI à la direction de la population, du ministère de la santé. Le PNI est bien structuré et dispose d'une stratégie fondée sur la mise en œuvre du calendrier national et les campagnes nationales de vaccination. A partir de 1999, le PNI a été renforcé par l'introduction du vaccin contre l'hépatite B en 1999 et du vaccin combiné contre la rougeole et la rubéole en 2003. Le vaccin contre l'haemophilus influenza a été introduit en 2006, le vaccin contre le Pneumocoque et le Rotavirus en 2010, le vaccin contre le Papillomavirus Humain en 2014 et le remplacement du vaccin Rotarix (vaccin contre le Rotavirus) par le Rotateq en 2015 (Guide de vaccination au Maroc 2008).



L'objectif principal du PNI est la réduction de la morbidité et de la mortalité néonatale, infantile et juvénile et la prévention de la mortalité des enfants âgés de moins de 5 ans. Ainsi, grâce à l'impact de la vaccination, le Maroc n'a enregistré aucun cas de poliomyélite ni de diphtérie depuis 1987 et 1991 respectivement, et il était le premier pays dans la Région MENA à avoir validé la certification de l'élimination du tétanos néonatal en 2002, qui était la première cause des décès néonataux en 1989. En 2007, le vaccin contre l'*Haemophilus influenzae* type b a été introduit en permettant une réduction des cas de méningites dues à cette bactérie à plus de 85%. Par ailleurs, et afin d'accélérer les progrès enregistrés pour atteindre les objectifs mondiaux d'éradication de la poliomyélite et l'élimination de la rougeole et de la rubéole, le vaccin antipoliomyélitique inactivé a été introduit et le vaccin anti poliomyélitique trivalent a été remplacé par le bivalent, alors que la première dose du vaccin combiné contre la rougeole et la rubéole a été renforcée par une deuxième dose qui était l'objectif d'une campagne nationale de vaccination en 2008 et 2013. Cette deuxième dose du vaccin combiné contre la rougeole et la rubéole a été introduite en routine en 2014.

## **I. Objectif de l'étude**

L'objectif principal de ce travail est d'évaluer la réponse aux vaccins de l'hépatite B et de la rougeole, chez des enfants infectés périnatalement par le VIH, en comparaison avec des enfants non infectés par le VIH.

Les objectifs spécifiques de l'étude sont :

- Comparer la portion d'enfants immunisés contre l'hépatite B entre un groupe contrôle et un groupe d'enfants infecté par le VIH.
- Déterminer les facteurs associés à une immunisation faible ou absente des enfants vaccinés contre l'hépatite B.
- Comparer la portion d'enfants immunisés contre la rougeole entre un groupe d'enfants contrôle (non infecté par le VIH) et un groupe d'enfants infecté par le VIH.
- Déterminer les facteurs associés à une immunisation faible ou absente des enfants vaccinés contre la rougeole.
- Proposer des mesures pour optimiser l'immunisation des enfants infectés par le VIH.

## **II. Echantillonnage**

### **1. Recrutement des enfants**

Il s'agit d'une étude portant sur deux groupes d'enfants, un groupe d'enfants infectés par le VIH, nés de mères séropositives, et un groupe d'enfants non infectés par le VIH (groupe contrôle). Les enfants infectés par le VIH et les contrôles ont été recrutés au service de pédiatrie à l'Hôpital d'enfants, Centre Hospitalier Universitaire, Ibn Sina, à Rabat. Les enfants contrôles ont été recrutés au même service, dans l'unité des infections respiratoires, alors que les enfants infectés par le VIH, ont été recrutés à l'unité des infections contagieuses. L'unité VIH reçoit les enfants tous les 3 mois pour leur suivi et prise en charge thérapeutique. Dans ce cadre, un bilan est systématiquement demandé aux enfants. Il comprend entre autres, la charge virale du VIH et le taux des lymphocytes T CD4.

Ainsi, au démarrage de l'étude nous avons recruté :

- **53 enfants infectés par le VIH** (Groupe infecté par le VIH).
- **127 enfants non infectés par le VIH** (Groupe contrôle).

### **2. Critères d'inclusion des enfants à l'étude**

L'inclusion des enfants des deux groupes, dans notre étude, a été déterminée en tenant compte des critères d'inclusion et d'exclusions.

### 2.1 Critères d'inclusion

- Enfants âgés entre 10 mois et 10 ans (pour les deux groupes).
- Enfants ayant reçus une dose du vaccin antirougeoleux et toutes les doses du vaccin de l'hépatite B, selon le calendrier vaccinal national.

### 2.2 Critères d'exclusion

- Enfants nés à l'étranger ou ayant été vaccinés à l'étranger.
- Enfants atteints de l'hépatite B.
- Enfants atteints de la rougeole.
- Enfants ayant un déficit immunitaire primitif.
- Enfants infectés par le VIH, pour le groupe contrôle.

## 3. Schéma vaccinal des enfants étudiés

Tous les enfants participants (infectés par le VIH et contrôles) à l'étude, ont été vaccinés au Maroc au cours de leur suivi pédiatrique régulier. Cette vaccination suit le schéma du PNI qui est rapporté dans la figure 10.

Age/Vaccin	BCG	DTP	Coqueluche	Haemophilus	Hépatite B	Pneumocoque	Rougeole* ou RR	Rotavirus
Naissance	avec Polio oral							
2 mois								2 ou 3 doses
3 mois						1 dose de plus si enfant à risque		selon le vaccin utilisé
4 mois								
9 mois							Rougeole	
12 mois								
18 mois							RR	
5 ans								

Figure 10 : Calendrier vaccinal du Programme National d'Immunisation du ministère de la santé 2012.

BCG : *Bacillus-Calmette-Guérin*. Contre indiqué pour les enfants infectés par le VIH, DTP : *Diphtérie-Tétanos-Coqueluche*, RR : *Rougeole-Rubéole*.

### **III. Recueil des données**

#### **1. Consentement des participants**

Avant tout recrutement dans l'étude, un consentement des parents ou des tuteurs de l'enfant est proposé après explication des objectifs de l'étude. Seuls les enfants dont les parents ou tuteurs sont consentants de participer à l'étude, sont recrutés. Ainsi, un consentement écrit et éclairé a été obtenu des parents ou du tuteur de chaque participant.

#### **2. Considération éthique**

Notre travail de recherche a reçu l'accord du comité d'éthique à la Faculté de médecine et de pharmacie à Rabat **(CERB) sous la référence : 1222/2010.**

#### **3. Recueil des données cliniques et démographiques**

Les données concernant l'âge de chaque enfant, son calendrier vaccinal, les données concernant l'état de santé, les symptômes ainsi que les traitements en cours, au moment de l'inclusion dans l'étude, sont recueillies, sous l'autorisation du médecin de l'unité, à partir des documents suivants :

- Les cahiers de vaccination des enfants
- Les dossiers médicaux des enfants
- Les fiches de traitement des enfants

Toutes ces données ont été enregistrées sur un fichier Excel.

#### **4. Prélèvement des échantillons**

Notre étude nécessitait un prélèvement de 5 ml du sang total recueilli dans un tube contenant l'anticoagulant « EDTA », pour chaque enfant. Dans les 2 heures qui suivaient le prélèvement, les échantillons étaient ensuite transmis directement au Laboratoire National de référence du VIH, à l'Institut National d'Hygiène à Rabat, pour effectuer les tests nécessaires à la réalisation de notre travail de recherche.

### **IV. Techniques utilisées dans l'étude**

Sur un échantillon du sang total de chaque prélèvement (du groupe VIH et du groupe contrôle), nous avons effectué un immunophénotypage lymphocytaire des cellules T, T CD4, T CD8, B et NK et une numération de formule sanguine. Ensuite, le plasma de chaque prélèvement est recueilli suite à une centrifugation de 10 minutes à 2000 Tr/min pour mesurer la charge virale du VIH, pour les échantillons des enfants infectés par le VIH. En outre, le plasma est conservé à -20°C pour les deux groupes, pour une quantification ultérieure des

## Chapitre 4 : Matériel et méthodes

---

anticorps Anti-HBs et la recherche des anticorps anti-HBc et l'antigène HBs, ainsi que pour le dosage des anticorps antirougeoleux.

L'immunophénotypage lymphocytaire, la mesure de la charge virale ainsi que la collecte du plasma, sont effectués le même jour ou le lendemain du prélèvement des échantillons, alors que les tests sérologiques ont été réalisés ultérieurement.

### **1. Numération de la formule sanguine (NFS)**

La numération sanguine a été effectuée pour chaque échantillon en utilisant l'automate « MICROS ES60 ».

#### **Principe de l'automate**

Cet automate permet la numération des éléments figurés du sang (globules rouges ou érythrocytes, globules blancs ou leucocytes, plaquettes ou thrombocytes), le calcul de l'hématocrite, le dosage de l'hémoglobine et éventuellement l'établissement de la formule leucocytaire. Son intérêt est d'entraîner un gain en temps, justesse et reproductibilité par rapport aux techniques manuelles.

Une suspension de sang dans un diluant conducteur est aspirée et passe entre deux électrodes, chaque cellule sanguine n'étant pas conducteur, entraîne une baisse de la conductivité électrique, la chute de tension est proportionnelle à la taille de la cellule et ces impulsions sont comptées.

Selon cet automate, il est considéré comme :

- Globules rouges, toute particule supérieure à  $36 \mu^3$ .
- Plaquettes, toute particule comprise entre 2 et  $20 \mu^3$ .
- Globules blancs, les globules rouges étant préalablement lysés, toute particule supérieure à  $35 \mu^3$ .

La mesure de l'hémoglobine est réalisée sur la dilution des leucocytes, l'agent de lyse forme un complexe coloré avec l'hémoglobine puis lecture par faisceau optique à 525 nm.

#### **Mode opératoire**

Le mode opératoire que nous avons utilisé est celui livré avec l'automate, et à chaque usage les étapes suivantes sont obligatoires :

- De faire l'amorçage des réactifs chaque fois que nous les avons changé pour chasser les bulles d'airs produits lors de ce changement ;

- De démarrer par la NFS du contrôle de qualité interne (ou minotrol de Beckmen Coulter) à chaque usage de l'automate pour contrôler la qualité de l'analyse ;
- D'interpréter les résultats en se référant aux fiches livrées avec l'automate.

## **2. Immunophénotypage lymphocytaire par cytométrie en flux**

### **Principe de la technique**

La cytométrie en flux est une technique qui permet d'énumérer et de caractériser des cellules en les faisant défiler à grande vitesse devant un faisceau laser. Elle permet une caractérisation individuelle, quantitative et qualitative des cellules en suspension, dans un liquide en se basant sur l'interaction entre le laser et les cellules.

Suite au passage des cellules devant le faisceau laser, deux types de faisceaux lumineux sont enregistrés :

- un faisceau lumineux qui détermine les paramètres morphologiques, la taille et la granularité.
- un faisceau lumineux qui détermine les paramètres de fluorescence, liés à l'utilisation de marqueurs fluorescents.

Cette technique est en particulier utilisée pour l'expression des marqueurs de surface caractéristiques des populations leucocytaires. La diffusion frontale du faisceau incident (forward scatter : FSC) indique la taille des cellules et la diffusion latérale (side scatter : SSC) indique la granularité.

Les anticorps ou marqueurs utilisés sont couplés à un fluorochrome pour marquer en fluorescence et de façon spécifique la (ou les) population (s) en question. En combinant différents anticorps couplés à des fluorochromes distincts, nous pouvons analyser simultanément plusieurs paramètres cellulaires.

### **Protocole de l'immunophénotypage lymphocytaire**

Dans notre étude, nous cherchons à identifier et à quantifier les cellules T, T CD4, T CD8, B et NK dans les échantillons collectés. Pour l'immunomarquage des cellules, nous avons utilisé deux types d'anticorps, les anticorps marqués aux fluorochromes CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PerCP/CD4-APC (Multi-test Beckton-Dickinson) pour la détermination des lymphocytes T, T CD8 et T CD4, et les anticorps CD3/CD16+56/CD45/CD19, marqués aux fluorochromes CD3-FITC/CD16+56-PE/CD45-PerCP/CD19-APC (Multi-test Beckton Dickinson) pour la détermination des lymphocytes T, B et NK.

### ***Mode opératoire :***

Les échantillons à analyser sont mis sous agitation lente pendant 5 minutes pour homogénéisation. Ensuite, deux tubes avec des billes fluorescentes (Trucount tube, Beckton Dickinson) sont préparés pour chaque échantillon : dans l'un, on met 5 µl des anticorps CD3-FITC/CD8-PE/CD4-PerCP/CD4-APC (Multi-test, Beckton-Dickinson) et dans l'autre tube on met 5 µl des anticorps CD3-FITC/CD16+56-PE/CD45-PerCP/CD19-APC (Multi-test, Beckton-Dickinson). Dans chaque tube, est ajouté 50 µl du sang anticoagulé à l'EDTA, puis le tube est vortexé pendant 5 secondes et laissé pour incubation pendant 15 minutes à température ambiante et à l'abri de la lumière. Ensuite, 450 µl de la solution de lyse des globules rouges (Lyse Solution, Beckton-Dickinson) est ajoutée et les tubes sont incubés durant 15 minutes à l'obscurité.

Pour le contrôle de qualité interne, nous avons utilisé un sang commercial. Il s'agit du sang stabilisé ayant des valeurs connues, des populations lymphocytaires. Il est marqué en même temps que les échantillons dans chaque série. Le contrôle normal (Immunotrol cell, Beckmen Coulter) est un échantillon ayant des valeurs normales des lymphocytes T CD4.

Les tubes Trucount sont utilisés pour le comptage de la valeur absolue des lymphocytes. Ces tubes contiennent une pastille lyophilisée de billes fluorescentes à concentration unique.



Figure 11 : Cytomètre FacsCalibur.

### 3. Mesure de la charge virale du VIH-1 par la RT-PCR

#### **Principe de la technique Abbott RealTime HIV-1**

Le test Abbott real time HIV-1 repose sur la RT-PCR quantitative et qualitative du VIH-1 utilisés pour le suivi des patients sous traitement antirétroviral. Le test Abbott RealTime HIV1 est destiné à la quantification de la charge virale dans les échantillons plasmatiques par le système d'extraction automatisé (m2000sp) couplé au système d'amplification et de détection m2000rt. Les amorces de VIH-1 utilisés, amplifient une courte séquence de 172 nucléotides située dans la région intégrase du gène pol, qui est hautement conservée (Tang et al 2007). Concernant la détection du VIH-1, une sonde fluorescente partiellement double brin est utilisée, marquée en 5' par le fluorophore FAMTM (6-carboxy-fluorescéine). Quand la fluorescence est supérieure au bruit de fond, le nombre de cycles d'amplification est enregistré en vue de réaliser la quantification à partir de la courbe des standards. Ainsi, le cycle d'amplification au cours duquel le signal fluorescent est détecté, est proportionnel au log10 de la concentration ARN du VIH-1. Concernant le contrôle interne, sa séquence cible (de 136 nucléotides) est dérivée du gène hydroxy-pyruvate réductase provenant de la citrouille (*Cucurbita pepo*), et elle se trouve dans une particule d'ARN encapsulée diluée dans du plasma humain négatif. La sonde du contrôle interne est un oligonucléotide ADN simple brin marqué en 5' par le fluorophore VIC® et en 3' par le quencher BHQ1.



Figure 12 : Automate Abbott PCR en temps réel.



## Chapitre 4 : Matériel et méthodes

---

Dans notre étude, nous avons utilisé 600 µL de plasma, correspondant à un seuil de détection de 40 copies/mL.

La quantification de la charge virale se fait selon les étapes suivantes :

- **Préparation des échantillons :**

Dans chaque échantillon du plasma, il est introduit un contrôle interne non infectieux qui contient des séquences du VIH-1 avec des sites de liaison aux amorces (identiques à celles de l'ARN cible), il est en un nombre connu de copies et subit toutes les étapes : la préparation des échantillons ; la rétrotranscription et l'amplification par PCR. Il est détecté simultanément avec l'ARN viral afin de démontrer le traitement correct de chaque échantillon.

Les réactifs d'extraction sont : la protéinase, les particules magnétiques en verre, les réactifs de lyse, de lavage et d'élution.

Le système de préparation lyse les particules du VIH-1 par l'incubation à des températures élevées à l'aide de la protéinase avec un tampon de liaison/lyse, qui libère des acides nucléiques et protège l'ARN du VIH-1 libéré de l'action des ARNase du plasma.

Ensuite, le mélange est incubé et les deux ARN (du contrôle interne et viral) se lient à la surface des particules magnétiques en verre. Les substances non liées telles que les sels, les protéines et d'autres impuretés cellulaires sont éliminées et retirées par le lavage des particules magnétiques en verre. Une fois que les billes magnétiques en verre sont séparées et que les étapes de lavage sont terminées, les acides nucléiques adsorbés sont élués à température élevée avec une solution d'élution aqueuse. Ensuite, les deux ARN élués, sont transférés vers les tubes de l'analyseur, qui seront ensuite, rétrotranscrits et amplifiés.

- **Rétrotranscription et amplification :**

Les réactions de la rétrotranscription et de l'amplification sont effectuées avec l'ADN polymérase (enzyme recombinante thermostable) simultanément au cours de la même réaction en présence d'un mélange réactionnel contenant :

- Les ions manganèse (Mn<sup>2+</sup>)
- Un excès de désoxynucléotides triphosphates (dNTPs) comprenant les triphosphates de désoxyadénosine, désoxyguanosine, désoxycytidine, désoxyuridine et désoxythymédine,
- Amorces sens et antisens
- Sondes oligonucléotidiques du VIH-1 et du contrôle interne marquées par des fluorophores spécifiques.

En premier lieu, le mélange réactionnel est chauffé pour permettre aux amorces de la rétrotranscription de s'hybrider avec leurs cibles (ARN viral et ARN du contrôle interne).

Puis, lorsque la température baisse, la polymérase allonge et étend les amorces hybridées le long des matrices cibles, générant ainsi des brins d'ADNc de l'ARN cible. Le thermocycleur des analyseurs chauffe le mélange réactionnel encore une fois, afin de dissocier les hybrides ADNc-ARN. Une deuxième amorce s'hybride afin de créer un ADN double brin lorsque la température baisse, et quand le mélange se refroidit, l'ADN polymérase continue la synthèse des nouveaux brins d'ADN, ce qui génère des molécules d'ADN bicaténares appelées «amplicons».

L'analyseur répète automatiquement cette opération pendant 35 cycles, et à chaque cycle la quantité d'ADN de l'amplicon est en double, en réalisant une amplification exponentielle grâce aux cycles répétés entre températures élevées et basses.

- **Détection :**

La détection de l'ADN amplifié est réalisée par l'utilisation de sondes doublement marquées spécifiques de la cible et du contrôle interne, permettant l'identification indépendante des amplicons du HIV-1 et du contrôle interne.

- **Interprétation des résultats :**

Le principe d'interprétation est basé sur la valeur du cycle seuil dit «Cycle threshold» (Ct), qui est définie comme étant le cycle où la fluorescence du fluorophore émetteur dépasse un seuil prédéterminé ou une ligne «seuil» (le niveau de fluorescence théorique) et où commence la phase de croissance exponentielle de ce signal et l'apparition des signaux spécifiques de fluorescence (Figure 13). Plus le titre du VIH-1 d'un échantillon est élevé, plus la fluorescence du fluorophore émetteur de la sonde du VIH-1 dépasse vite le niveau de fluorescence de base, donc plus le milieu est riche en ADNc, plus le Ct sera précoce.

La quantité de la cible initialement présente avant l'amplification de l'échantillon est extrapolée d'une courbe d'étalonnage du contrôle interne. Le logiciel effectue ensuite les calculs et permet l'expression de résultat en nombre de copies / ml ou en log 10.

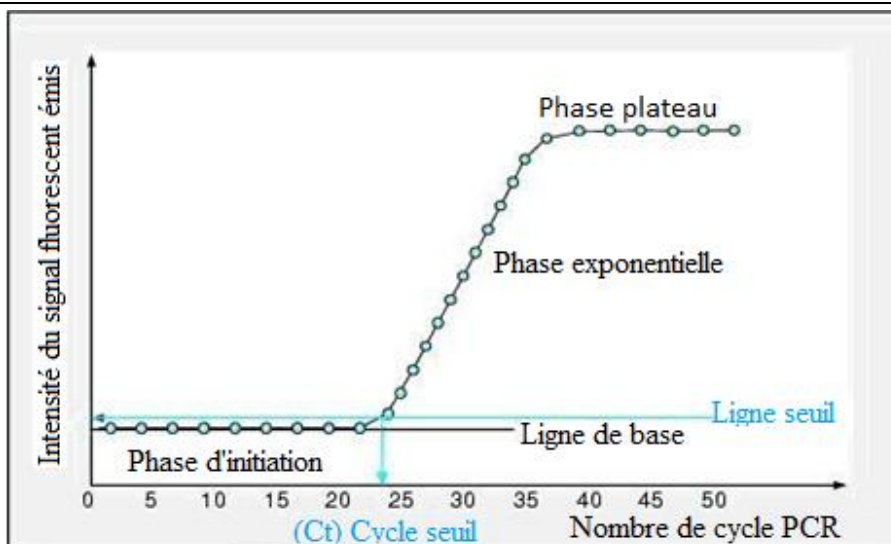


Figure 13 : Intensité de la fluorescence en fonction du nombre de cycle de la PCR en temps réel.

### Mode opératoire

#### 1- Préparation des échantillons et des contrôles :

La solution de lyse, de lavage, d'éluion et les microparticules sont préparées, puis les réactifs d'amplification sont portés à une température entre 15 et 30°C ou entre 2 et 8°C jusqu'à ce qu'ils soient utilisés pour la procédure de préparation du master mix dans un délai de 24 heures.

Les contrôles du dosage et les contrôles internes sont portés à une température entre 15 et 30°C, puis vortexés pendant 2 à 3 secondes avant leur utilisation. Les échantillons sont portés à une température entre 15 et 30°C, puis vortexés pendant 2 à 3 secondes avant leur utilisation. Le contrôle négatif, les contrôles positifs (low et high) et les contrôles internes sont placés sur le portoir à échantillon du M2000sp, alors que les échantillons sont portés à une température entre 15 et 20°C puis placés dans l'automate.

#### 2- Préparation des réactifs :

Le réactif de lyse est préparé en ajoutant 500 µl du contrôle interne préalablement décongelé et vortexé, au flacon de tampon Mlysis, Le contenu de chaque flacon de réactif de lyse est vidé dans la cuvette à réactif placée sur le portoir à réactif et la charger sur les positions adéquates sur l'automate.

#### 3- Chargement du consommable :

Les cupules réactionnelles de 5 ml sont placées sur le portoir de l'unité de traitement 1ml du M2000sp et la plaque à 96 puits profonds est placée sur le plan de travail M2000sp dans la position adéquate.

4- Lancement du processus d'extraction sur l'automate :

Le protocole destiné pour le test de la charge virale VIH-1 est sélectionné.

5- Lancement du protocole de Master Mix Abbott M2000sp une heure après la fin d'extraction.

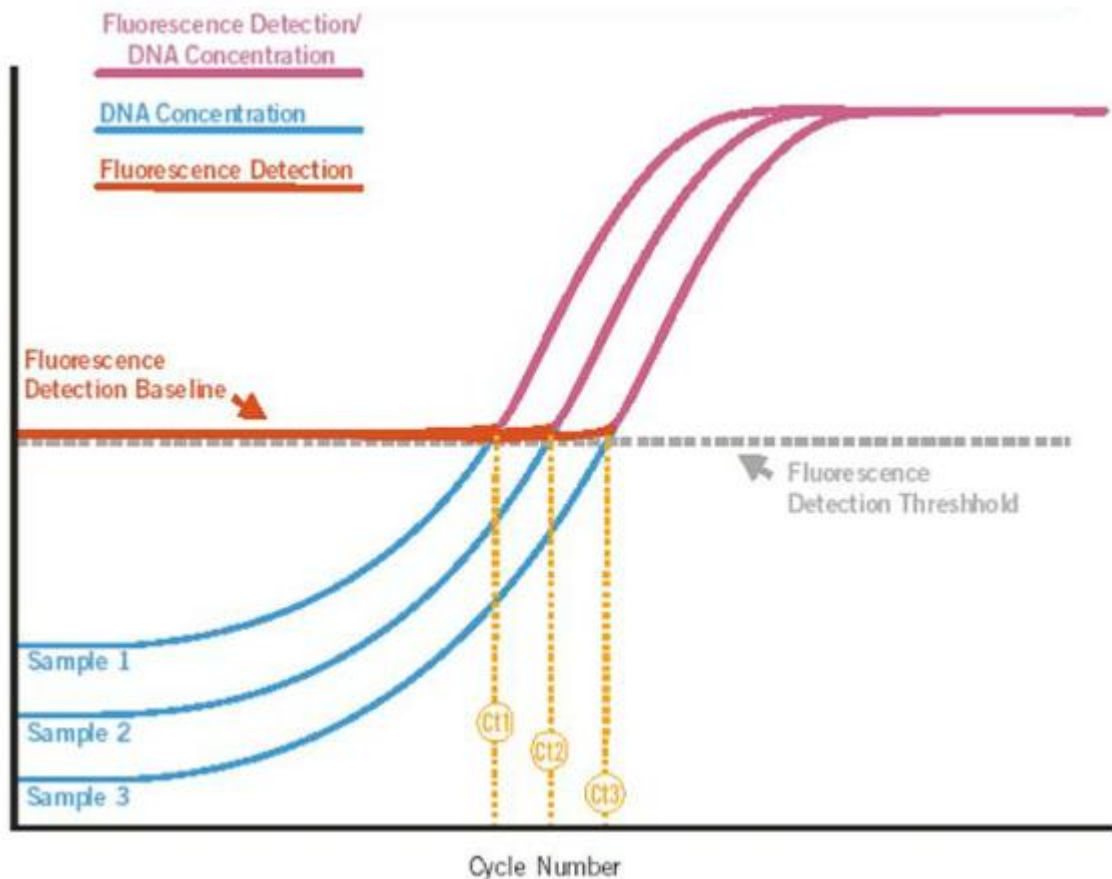


Figure 14 : Etapes de mesure de la charge virale par l'automate Abbott PCR en temps réel.

#### **4. Evaluation de la réponse humorale au vaccin de l'hépatite B**

Les échantillons du plasma conservés à  $-20^{\circ}\text{C}$ , ont été décongelés pour doser les anticorps Anti-HBs. Les échantillons qui sont négatifs pour les anticorps Anti-HBs sont testés pour l'AgHBs et l'anti-HBc pour voir s'ils sont infectés par le VHB ou pas.

##### **4-1 Quantification des anticorps Anti-HBs**

Les anticorps Anti-HBs ont été dosés par le kit Monalisa<sup>TM</sup> Anti-HBs PLUS (BIORAD, France). Il s'agit d'un test ELISA de type sandwich. La détermination des taux d'Anti-HBs a été standardisée en utilisant la préparation de référence Anti-HBs de l'OMS, exprimée en milli-unités internationales par millilitre (mUI/ml). Un niveau supérieur ou égal à 10 mUI/mL est généralement considéré comme la norme pour démontrer une protection post-vaccinale, contre le VHB. Un titre d'Anti-HBs  $< 10$  mUI/ml, signifie que le sujet n'est pas immunisé.

### **Principe du test « Monolisa™ Anti-HBs PLUS »**

Les échantillons sont incubés dans les micropuits d'une plaque de microtitration enrobés de l'AgHBs natif. Si des anticorps Anti-HBs sont présents dans l'échantillon, ils se lient à l'antigène et l'excès de l'échantillon est éliminé par une étape de lavage après incubation de 60 minutes à 37°C. Le conjugué, contenant de l'AgHBs marqué à la peroxydase de raifort, est ensuite ajouté aux micropuits. Ce conjugué se lie au complexe antigène-anticorps présent dans les micropuits, et l'excès est éliminé par une étape de lavage après incubation de 60 minutes à 37°C. Une solution de chromogène/substrat est ajoutée aux micropuits et laissée incuber 30 minutes à température ambiante. Si l'échantillon contient des Anti-HBs, l'enzyme liée au conjugué provoque la coloration de la tétraméthylbenzidine, dans la solution du chromogène qui devient bleue. La couleur bleue devient jaune, après l'ajout de la solution d'arrêt (acide sulfurique) de la réaction enzymatique. L'intensité de la couleur, mesurée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la quantité d'Anti-HBs présente dans l'échantillon. Les valeurs d'absorbance pour les échantillons sont comparées à une valeur de seuil déterminée par le calibrateur de 10 mUI/ml fourni avec le kit.



Figure 15 : Kit « Monolisa™ Anti-HBs PLUS ».

### **Mode opératoire du test**

Les réactifs de la trousse « Monolisa™ Anti-HBs PLUS » ont été portés à température ambiante (18-30°C), pendant 30 minutes avant toute utilisation. Des réactifs ont été fournis avec le kit mais en état concentré et qui ont nécessité une dilution :

La solution de lavage est diluée par la dilution de 1/20ème de la solution de lavage concentrée (20X) dans l'eau distillée, la solution de conjugué est diluée par une dilution de 1/11<sup>ème</sup>, alors que la solution de conjugué reconstituée doit être conservée à l'abri de la lumière. La solution

## Chapitre 4 : Matériel et méthodes

---

de révélation enzymatique (ou solution de substrat) est diluée par une dilution de 1/11ème. Cette solution doit être utilisée dans les 8 heures de la manipulation et conservée à température ambiante à l'obscurité.

Dans chaque cupule on met 25 µl de diluant d'échantillon, puis 75 µl de l'échantillon en mélangeant par aspiration refoulement 2 fois et doucement pour éviter la formation de mousse. Les contrôles, les calibrateurs et les échantillons sont déposés successivement en suivant la méthode quantitative dont le plan de distribution sur la microplaque est :

A1 Contrôle négatif Anti-HBs (C0)

B1 Calibrateur 10 mUI/ml (C1)

C1 Calibrateur 10 mUI/ml (C1)

D1 Calibrateur 100 mUI/ml – Contrôle Positif (C2)

E1 Calibrateur 400 mUI/ml (C3)

F1 Calibrateur 1000 mUI/ml (C4)

Puis les échantillons.

La microplaque est couverte d'un film adhésif pour incubation pendant  $60 \pm 5$  minutes à  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$  à l'aide d'un incubateur. Par la suite, le film adhésif est retiré et la microplaque est lavée 4 fois au laveur automatique. Un volume de 100 µl de la solution de conjugué déjà préparée est distribué dans toutes les cupules à l'aide d'une micropipette multicanaux et la microplaque est recouverte d'un film adhésif, puis incubée  $60 \pm 5$  minutes à  $37^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$ . Le film adhésif est retiré et la microplaque est lavée 4 fois à l'aide du laveur automatique. 100 µl de la solution de révélation est ensuite distribué dans toutes les cupules à l'aide d'une micropipette multicanaux et la microplaque est laissée à l'obscurité  $30 \pm 5$  minutes à température ambiante sans mettre le film adhésif. Ensuite, 100 µl de la solution d'arrêt est ajouté en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. Finalement, la microplaque est lue dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction, à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre et les titres des anticorps Anti-HBs sont déterminés à partir des DO des échantillons.

### **4-2 Recherche des AgHBs et les anti-HBc**

Pour tous les échantillons ayant des titres d'Anti-HBs  $< 10$  mUI/ml, nous les avons testés pour l'AgHBs et l'anti-HBc, pour voir si les enfants non immunisés, sont infectés par le VHB ou pas.

Ainsi, pour rechercher les anti-HBc nous avons utilisé le test ELISA « Monolisa™ Anti-HBc plus (BIORAD, France) », et le test « Monolisa™ HBsAg ULTRA (BIORAD, France) » pour la recherche de l'AgHBs dans ces échantillons.

**a- Recherche des anti-HBc**

***Principe du test Monolisa TM Anti-HBc PLUS***

Ce test est de type ELISA indirect, il est destiné à la détection simultanée d'anticorps totaux dirigés contre le core du VHB, dans le sérum ou le plasma humain. Les cupules de la microplaque, sont préparées avec de l'AgHBc recombinant. Les sérums à tester et les sérums de contrôle sont ajoutés aux puits. Si des anticorps anti-HBc sont présents, ils vont se lier aux antigènes fixés. Les anticorps anti-IgG et IgM humains marqués à la peroxydase sont ajoutés et se lient aux anticorps anti-HBc capturés sur la phase solide. La révélation du complexe enzymatique antigène-anticorps-peroxydase, est réalisée par l'ajout du substrat de la peroxydase. Après l'arrêt de la réaction, les valeurs d'absorbance sont lues à l'aide d'un spectrophotomètre à 450 nm. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-HBc liés sur la phase solide.

***Mode opératoire du test « Monolisa<sup>TM</sup> Anti-HBc plus »***

La solution de lavage est préparée par la dilution de 1/20<sup>ème</sup> de la solution de lavage concentrée (20X) avec de l'eau distillée, la solution de révélation enzymatique (ou de substrat) est préparée par la dilution de 1/11<sup>ème</sup> et doit être utilisée dans les 8 heures de la manipulation puis conservée à la température ambiante à l'obscurité. Un volume de 200 µl de diluant de l'échantillon est met dans chaque cupule, puis 20 µl de l'échantillon.

Les contrôles et les échantillons sont distribués successivement sur la microplaque selon le plan suivant :

A1 Contrôle négatif (R3)

B1 Contrôle négatif (R3)

C1 Contrôle Positif (R4)

D1 Contrôle Positif (R4)

E1 Contrôle Positif (R4)

Puis les échantillons.

La microplaque est couverte d'un film adhésif pour incubation pendant  $30 \pm 5$  minutes à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , ensuite ce film adhésif est retiré et la microplaque est lavée 4 fois au laveur automatique. Un volume de 200 µl de la solution de conjugué est distribué dans toutes les cupules à l'aide d'une micropipette multicanaux et la microplaque est recouverte d'un film adhésif pour incubation à  $60 \pm 5$  minutes à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Le film adhésif est retiré et la microplaque est lavée 4 fois au laveur automatique. Ensuite, 100 µl de la solution de révélation est distribuée dans toutes les cupules à l'aide d'une micropipette multicanaux et la

microplaque est laissée à l'obscurité pendant  $30 \pm 5$  minutes à température ambiante (18-30°C) sans mettre le film adhésif. Un volume de 100  $\mu$ l de la solution d'arrêt est ajouté en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. La microplaque est lue dans les 30 minutes qui suivent la distribution de la solution d'arrêt à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

### **b- Recherche de l'AgHBs**

#### ***Principe du test « Monolisa™ HBsAg ULTRA »***

Monolisa™HBsAg ULTRA, est un test immunoenzymatique de type "sandwich" qui utilise des anticorps monoclonaux et des anticorps polyclonaux sélectionnés pour leur capacité à se lier aux différents sous-types de l'AgHBs, actuellement reconnus par l'OMS, et la plupart des souches variantes de l'hépatite B.

La phase solide est sensibilisée avec des anticorps monoclonaux et les conjugués sont basés sur l'utilisation des anticorps (couplés à la peroxydase) monoclonaux de souris et des anticorps polyclonaux de chèvre contre l'AgHBs. La présence de l'AgHBs dans le sérum des échantillons et des contrôles, induit la formation du complexe immunoenzymatique (anticorps-AgHBs-anticorps\*peroxydase) dont la révélation est réalisée par l'ajout du substrat de peroxydase. L'ajout de la solution d'arrêt, permet l'arrêt de l'activité enzymatique, la coloration du substrat, rosée (pour les échantillons négatifs) ou bleue (pour les échantillons positifs), disparaît des cupules qui deviennent incolores (pour les échantillons négatifs) ou jaunes (pour les échantillons positifs) après addition de la solution d'arrêt.

Les densités optiques sont lues à 450 nm par spectrophotométrie.

#### ***Mode opératoire du test « Monolisa™ HBsAg ULTRA »***

La solution de lavage est préparée par la dilution de 1/20ème de la solution de lavage concentrée (20X) avec de l'eau distillée, la solution de révélation enzymatique (ou de substrat) est préparée par la dilution de 1/11<sup>ème</sup> et doit être utilisée dans les 8 heures de la manipulation et conservée à la température ambiante à l'obscurité. Dans chaque cupule on ajoute 200  $\mu$ l de diluant puis 20  $\mu$ l de l'échantillon en mélangeant par aspiration refoulement 3 fois et doucement pour éviter la formation de mousse. Ensuite, les contrôles et les échantillons sont distribués successivement sur la microplaque selon le plan suivant :

A1 Contrôle négatif (R3)

B1 Contrôle négatif (R3)

C1 Contrôle Positif (R4)

D1 Contrôle Positif (R4)



### E1 Contrôle Positif (R4)

Puis les échantillons.

La microplaque est couverte d'un film adhésif pour incubation pendant  $30 \pm 5$  minutes à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , puis ce film est retiré et la microplaque est lavée 4 fois au laveur automatique. Ensuite, 200  $\mu\text{l}$  de la solution de conjugué est distribuée dans toutes les cupules à l'aide d'une micropipette multicanaux et la microplaque est recouverte d'un film adhésif pour incubation à  $60 \pm 5$  minutes à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ . Puis, le film adhésif est retiré et la microplaque est lavée 4 fois au laveur automatique. Un volume de 100  $\mu\text{l}$  de la solution de révélation est distribué rapidement, dans toutes les cupules à l'aide d'une micropipette multicanaux et la microplaque est laissée à l'obscurité pendant 30 minutes à température ambiante sans mettre le film adhésif. Ensuite, 100  $\mu\text{l}$  de la solution d'arrêt est ajoutée en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. La microplaque est lue dans les 30 minutes qui suivent la distribution de la solution d'arrêt à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

### **5. Evaluation de la réponse humorale au vaccin de la rougeole**

Les anticorps dirigés contre la rougeole ou les IgG anti-rougeole, ont été mesurés à l'aide du kit commercial ELISA « Enzygnost Anti-measles virus/IgG, SIEMENS ». Dans ce test, la microplaque de titrage est recouverte de l'antigène du virus de la rougeole. Les puits de la rangée gauche de chaque barrette sont recouverts de l'antigène dérivé de l'antigène des cellules rénales de singe, infectées par le virus de la rougeole, et les puits de la rangée de droite sont recouverts de l'antigène de cellules non infectées (c'est l'antigène de contrôle).

#### ***Principe du test « Enzygnost Anti-measles virus/IgG »***

C'est un test ELISA indirect dont les anticorps IgG spécifiques dirigés contre le virus de la rougeole et contenus dans l'échantillon à tester, se lient à l'antigène dans les puits de la microplaque. Le conjugué qui est une fraction 'Fab' d'anticorps de lapin anti-IgG humaine et qui est couplé à la peroxydase, se fixe à ces anticorps spécifiques. L'ajout de substrat de cette enzyme engendre une réaction qui se traduit par un changement de coloration et l'addition de la solution d'arrêt de cette réaction, donne une coloration, proportionnelle au titre d'IgG anti-rougeole dans l'échantillon, et mesurable par un spectrophotomètre.



Figure 16: Kit « Enzygnost Anti-measles virus/IgG ».

### ***Mode opératoire***

La solution du conjugué est préparée en le diluant par le tampon conjugué au 50<sup>ème</sup>. Le diluant des échantillons est préparé en ajoutant 2.5 ml de solution colorante bleue au 50 ml du tampon de l'échantillon.

La solution de lavage est préparée en diluant au 20<sup>ème</sup> la solution de lavage concentrée avec de l'eau distillée, la solution de révélation enzymatique est préparée en diluant 1 ml de TMB chromogène avec 10 ml de tampon/substrat TMB. Cette solution une fois préparée doit être gardée à température ambiante et à l'obscurité.

Les contrôles P/N (positif/négatif) du test et les échantillons, sont dilués au 1/20<sup>ème</sup> en ajoutant dans un tube de dilution 400 µl du diluant d'échantillon à 20 µl du contrôle du test P/N et à 20 µl de l'échantillon à tester. Ensuite, dans une microplaque 200 µl du tampon d'échantillon non coloré est distribuée. Un volume de 20 µl des contrôles P/N est ajouté dans les 2 puits de la première paire et 20 µl de l'échantillon dilué dans les 2 puits de la deuxième paire, et ainsi de suite pour le reste des échantillons dilués. A la fin de la série et pour chaque plaque, 20 µl du contrôle P/N dilué est ajoutée dans les 2 puits de la dernière paire. Après, la microplaque est couverte par un film adhésif pour incubation pendant 60 ± 5 minutes à 37°C ± 1°C, puis est retiré et la microplaque est lavée 4 fois au laveur automatique. Par la suite, 100 µl de la solution du conjugué dilué est distribuée dans les puits à l'aide d'une micropipette multicanaux et la microplaque est recouverte d'un film adhésif pour incubation pendant 60 ± 2 minutes à 37°C ± 1 °C. Le film adhésif est retiré et la microplaque est lavée 4 fois au laveur automatique. Ensuite, 100 µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique est distribuée et la microplaque est laissée à l'obscurité pendant 30 minutes à température

ambiante, sans mettre le film adhésif. Un volume de 100 µl de la solution d'arrêt du substrat est ajouté en adoptant la même séquence et le même rythme de distribution que pour la solution de révélation. En fin, la microplaque est lue dans l'heure qui suit à 450 nm par un spectrophotomètre. Les titres des IgG anti-rougeole sont déterminés à partir des DO des échantillons.

### **V. Analyse statistique des résultats**

Les données démographiques collectées à partir du questionnaire, ont été saisies dans un fichier Excel. De même, les résultats de l'immunophénotypage lymphocytaire et des tests immunoenzymatiques et de la charge virale du VIH, ont été saisis sur un fichier Excel.

Pour étudier la différence statistique de l'âge entre les deux groupes d'enfants, le test Khi2 a été utilisé, alors que le test de Mann Whitney a été utilisé pour une analyse statistique du sexe entre ces deux groupes. Concernant le groupe d'enfants infectés par le VIH, le test Khi2 a été utilisé pour étudier la différence statistique existant entre le stade clinique de l'infection à VIH et le sexe des enfants. Ces tests ont été effectués en utilisant le logiciel XLSTAT version 2014.5.03 et la différence a été considérée statistiquement significative si  $P < 0.05$ .

Pour la réponse au vaccin de l'hépatite B, une analyse descriptive des données a été réalisée en mesurant la moyenne arithmétique, l'écart-type et la moyenne géométrique. Le test Chi-carrée 2/2 a été utilisé pour comparer les données cliniques entre les 2 groupes d'enfants, alors que le test Mann-Whitney U a été utilisé pour comparer la moyenne des T CD4+, T CD8+, cellules NK et cellules B, chez les 2 groupes d'enfants. Pour le test Mann-Whitney U, les résultats ont été considérés comme significatifs si  $p < 0,05$ . Concernant la réponse au vaccin de l'hépatite B, le taux d'anticorps Anti-HBs chez les enfants infectés et non infectés par le VIH, a été représentée en log10.

S'agissant de l'évaluation de la réponse au vaccin de la rougeole, l'analyse statistique a été effectuée pour les résultats des tests des échantillons de 50 enfants infectés par le VIH et de 64 enfants contrôles. Ainsi, une analyse descriptive a été aussi réalisée pour les variables âge, sexe, taux de CD4 et taux des anticorps anti-rougeole, chez les deux groupes d'enfants. Pour le groupe des enfants infectés par le VIH, nous avons également examiné les données de la charge virale du VIH et comparé la proportion des enfants sous traitement antirétroviral à une proportion attendue (0,5). La méthode de Clopper-Pearson a été utilisée pour l'intervalle de confiance exact et le test d'hypothèse p exact est fourni pour la proportion par rapport à la proportion attendue qui est 0,5. Les variables citées ci-dessus ont également été comparées chez les enfants infectés par le VIH, par rapport à la réponse au vaccin de la rougeole. Les

#### Chapitre 4 : Matériel et méthodes

---

résultats équivoques ont été considérés comme négatifs dans cette analyse. La méthode de Miettinen et Nurminen a été utilisée pour calculer l'intervalle de confiance pour la différence entre les proportions. Le test de Mann Whitney a été utilisé pour comparer la différence entre les médianes des deux groupes indépendants, en utilisant la valeur p bilatérale et l'intervalle de confiance. Les médianes ou la différence de proportion ont été considérées statistiquement significatives si  $p < 0,05$ .

Ces tests ont été effectués en utilisant le Logiciel statistique StatsDirect version 3.0124 (StatsDirect, Cheshire, Royaume-Uni).

## I. Description des groupes d'enfants étudiés

Un groupe de 53 enfants infectés par le VIH ont été inclus dans cette étude. Ces enfants ont été recrutés au niveau de l'Hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire, Ibn Sina, à Rabat entre le 03/12/2010 et le 13/01/2013. Ils sont tous nés de mères séropositives et sont issus de différentes régions du royaume. Ils viennent à l'hôpital pour la prise en charge. Parmi les 53 enfants, 4 enfants ont été exclus de l'étude en raison de l'insuffisance du volume de l'échantillon prélevé.

Durant la même période de recrutement des enfants infectés par le VIH, 127 enfants non infectés par le VIH (test rapide négatif), nés de mères séronégatives pour le VIH, ont été recrutés en tant que groupe contrôle, dans le même service que les enfants infectés par le VIH. Ces enfants consultaient pour des infections ou affections pulmonaires (asthme, rhume sévère). Parmi les 127 échantillons d'enfants non infectés par le VIH, 15 ont été exclus pour l'insuffisance de l'échantillon prélevé.

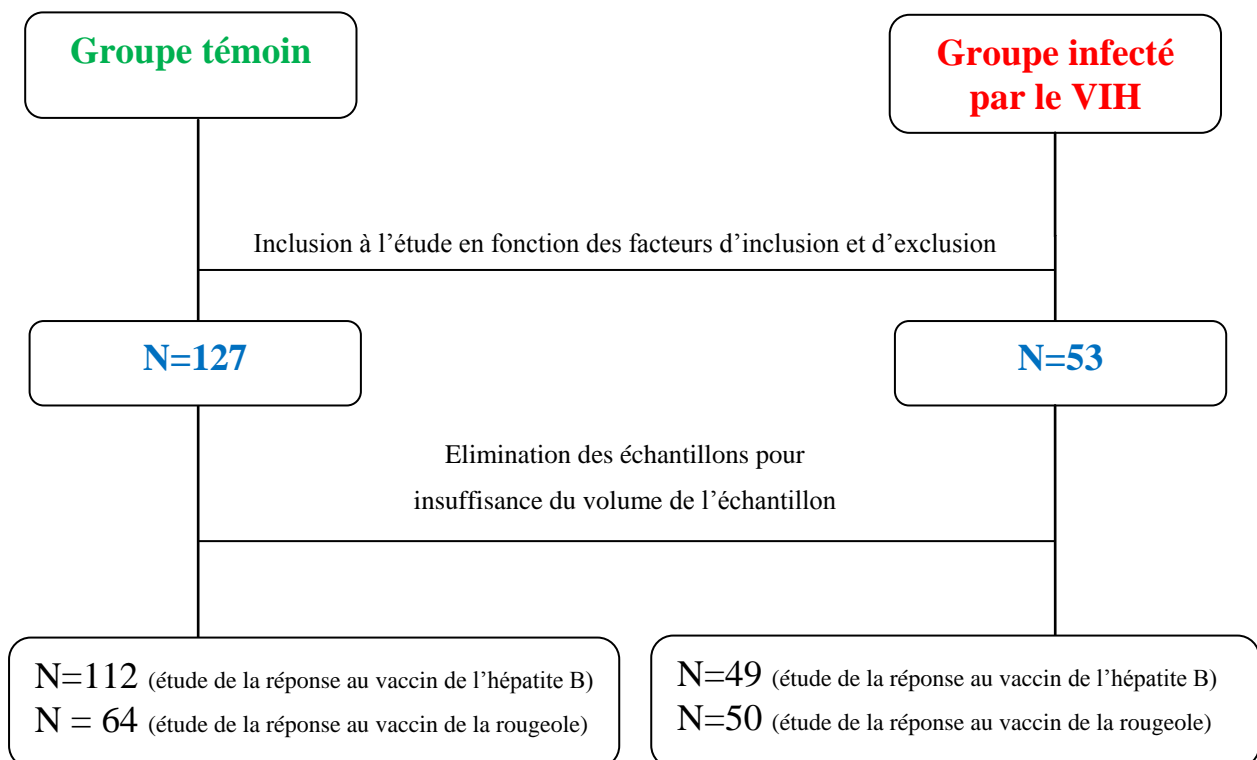


Figure 17 : Processus d'inclusion des enfants des deux groupes.

### 1) Age des enfants étudiés

L'âge médian est de 51.35 mois pour les enfants enrôlés du groupe infecté par le VIH et est de 54.36 mois pour les enfants contrôles, avec des extrêmes de 10 mois à 144 mois pour les deux groupes.

La répartition de l'âge des enfants infectés et non infectés, selon les tranches d'âges : < 12 mois, [12-35 mois], [36-59 mois] et > 60 mois), est résumée dans la figure 18.

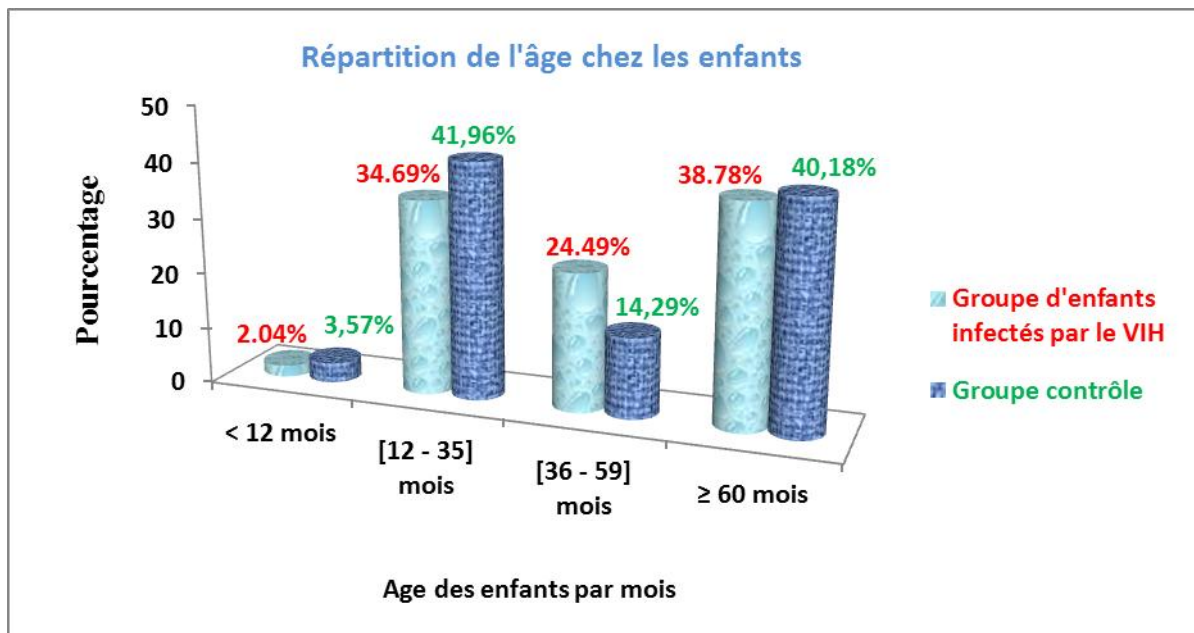


Figure 18 : Répartition des enfants étudiés en fonction des tranches d'âge.

La tranche d'âge de 12 à 35 mois et celle de 5 ans et plus, sont les plus représentées pour les deux groupes d'enfants. La tranche d'âge de 12 à 35 mois, représente 41.96% chez le groupe témoin et 34.69% chez le groupe infecté par le VIH. Alors que la tranche d'âge de 5 ans et plus, représente 40.18% chez le groupe témoin et 38.78% chez le groupe infecté par le VIH. Cependant, la tranche d'âge de moins de 12 mois constitue 2.04% chez le groupe infecté par le VIH et 3.57% chez le groupe témoin. La différence de l'âge entre les deux groupes d'enfants étudiés n'est pas significative ( $P = 0.513$ ).

### 2) Sexe des enfants étudiés

Dans le groupe infecté par le VIH, 65.3% des enfants sont des filles avec un sexe ratio de 1.72 (31 filles/18 garçons).

Les résultats de répartition du sexe chez les deux groupes d'enfants, sont présentés dans la figure 19.

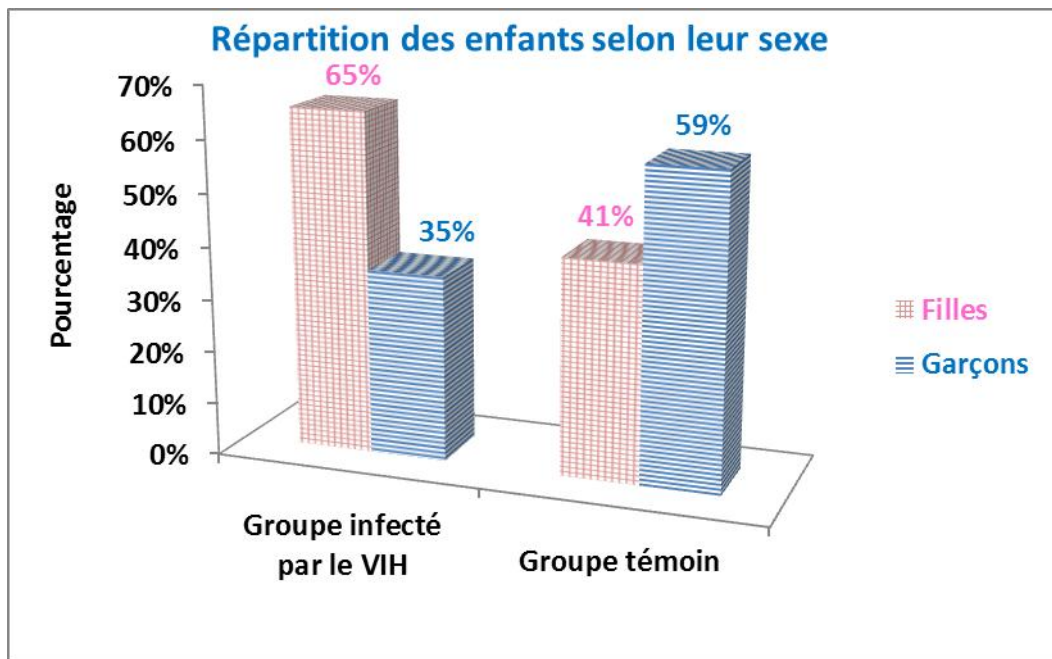


Figure 19 : Répartition des enfants étudiés en fonction du sexe.

Le sexe masculin est prédominant chez le groupe témoin, par 58.93% des garçons contre 41.07% des filles. En ce qui concerne le groupe d'enfants infectés par le VIH, le sexe féminin est prédominant par 65% des filles contre 35.42% des garçons.

Ces résultats montrent que le sexe féminin est majoritaire par rapport à l'ensemble des enfants inclus (infectés et non infectés par le VIH) dans notre étude. La différence du sexe entre les deux groupes d'enfants étudiés est significative ( $P = 0.01$ ).

### 3) *Stade clinique du VIH/SIDA*

L'analyse clinique de l'infection à VIH en fonction du sexe des enfants infectés, montre que 59% des enfants (17 filles et 12 garçons) sont asymptomatiques pour l'infection (stade A), 18% des enfants (5 filles et 4 garçons) sont symptomatiques (stade B) et 22% des enfants (9 filles et 2 garçons) sont au stade avancé (stade C) (figure 20).

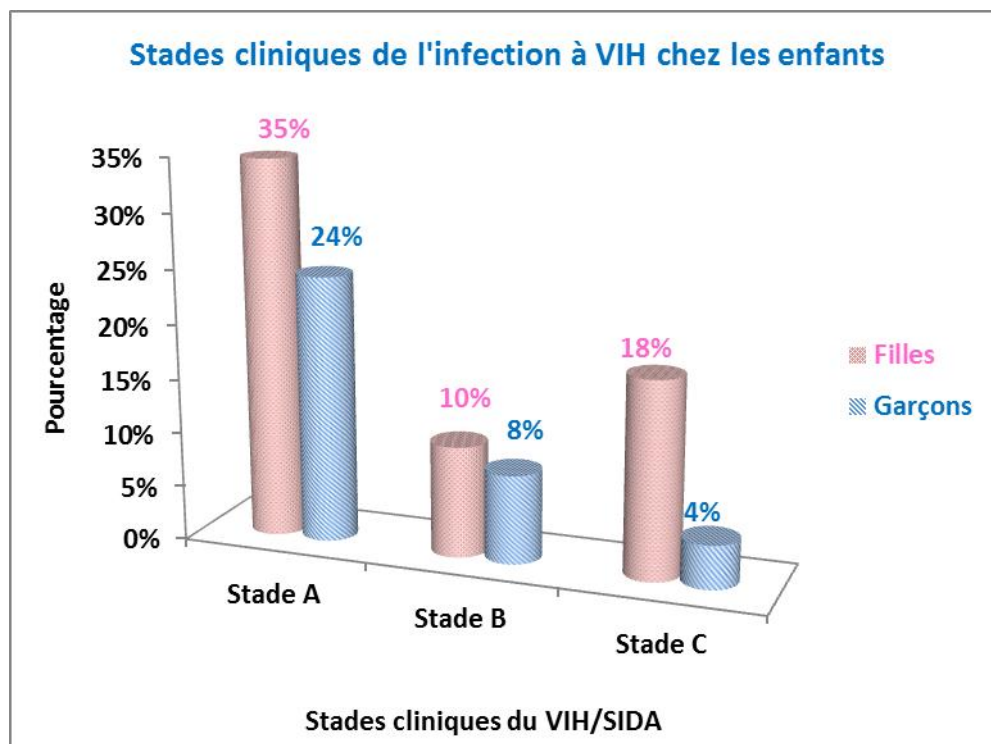


Figure 20 : Stade clinique des enfants du groupe infecté par le VIH en fonction du sexe.

La différence de l'évolution de l'infection par le VIH entre les filles et les garçons du groupe d'enfants infectés par le VIH n'est pas significative ( $P = 0.423$ ).

#### 4) *Traitement antirétroviral*

Les enfants infectés par le VIH sont suivis à l'hôpital d'Enfants, Centre Hospitalier Universitaire, Ibn Sina, à Rabat.

Avant de démarrer le traitement antirétroviral, le diagnostic de l'infection est d'abord confirmé soit par le test rapide et le western blot, chez l'enfant âgé de plus de 18 mois ou bien par PCR chez l'enfant âgé de moins de 18 mois.

Tableau 2 : Données sur le traitement antirétroviral des enfants infectés par le VIH.

<b>Traitement antirétroviral des enfants infectés par le VIH</b>	
<b>Effectif des enfants sous traitement</b>	38/49 enfants ( <b>77.55%</b> ) durant la période de l'étude
<b>Age médian au démarrage du traitement</b>	<b>39.18 mois</b>
<b>Type de traitement le plus fréquemment prescrit</b>	combinaison de l'AZT, le 3TC et l'EFV chez <b>43%</b> des enfants traités



La majorité des enfants enrôlés infectés par le VIH, étaient sous traitement antirétroviral (77.55%). Des nouveaux cas (26%, N=13) d'enfants infectés par le VIH, ont été inclus dans notre étude et n'étaient pas encore sous traitement antirétroviral.

Dans le cas des enfants de notre étude, l'âge médian de démarrage du traitement antirétroviral est de 39.18 mois. Ceci montre que ces enfants ont initié le traitement antirétroviral après l'administration des vaccins de l'hépatite B.

## II. Numération Formule sanguine (NFS) des enfants étudiés

Afin de pouvoir déterminer la valeur absolue des populations lymphocytaires dans le cas où les billes (tubes Trucount) ne sont pas disponibles, nous avons fait la NFS des échantillons de tous les enfants inclus dans notre étude.

La numération de la formule sanguine des échantillons étudiés, est réalisée par l'automate « MICROS ES60 » et effectuée en parallèle avec la cytométrie en flux.

La numération de la valeur absolue moyenne des lymphocytes est montrée dans la figure 21.

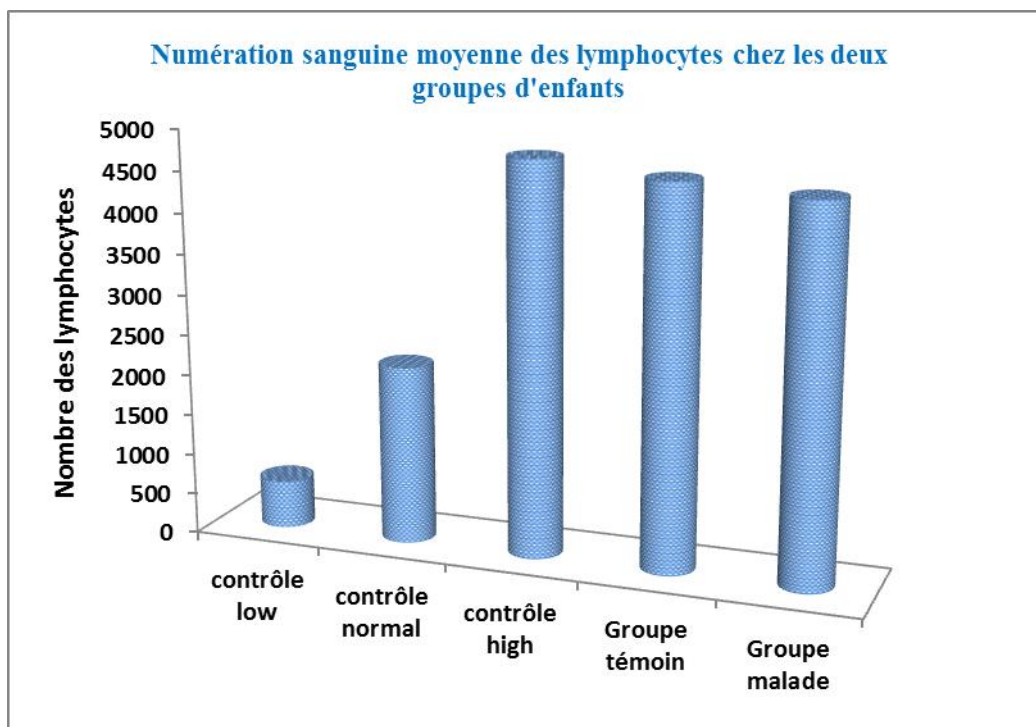


Figure 21 : Moyenne des lymphocytes des échantillons des deux groupes d'enfants (valeur absolue) par l'automate « MICROS ES60 ».

La valeur absolue des lymphocytes est élevée chez les deux groupes d'enfants de l'étude, par rapport aux contrôles testés par l'automate « MICROS ES60 ».

Les enfants du groupe contrôle ont été pris en charge à l'hôpital d'enfants de Rabat pour des

crises d'asthme et des infections pulmonaires, ceci pourrait expliquer l'élévation du nombre des lymphocytes chez ces enfants. De même, le nombre élevé des lymphocytes chez le groupe d'enfants infectés par le VIH, pourrait être expliqué par une stimulation permanente du système immunitaire par l'infection à VIH.

### **III. Immunophénotypage lymphocytaire**

La quantification des populations lymphocytaires sanguines permet d'explorer l'immunité cellulaire, avec un décompte des cellules B, T, et NK et au sein des cellules T, peuvent être distingués les T CD4 et les T CD8.

La quantification des cellules T CD4 est utilisée en particulier dans le suivi thérapeutique des patients infectés par le VIH. Dans notre étude, le but est d'étudier l'association entre le pourcentage des lymphocytes T, T CD4, T CD8, cellules B, cellules NK et la séroprévalence de l'immunisation contre le vaccin de l'hépatite B et de la rougeole, chez les enfants infectés par le VIH.

Tous les échantillons étaient marqués avec les anticorps anti-CD3-FITC, anti-CD8-PE, anti-CD4-PerCP, anti-CD19-APC et anti-CD16+56, fournis mélangés prêts à l'emploi (Multi test Beckton-Dickinson). Les anticorps étaient appliqués simultanément sur du sang total qui était ensuite traité pour érythrolyse, fixation et analyse immédiate (dans l'heure) au cytomètre FacsCalibur. Les tubes Trucount utilisés, contiennent de billes dosées. Les valeurs absolues étaient calculées par le logiciel « Cellquest Pro ».

#### ***1) Spécimen des résultats de l'immunophénotypage lymphocytaire des échantillons étudiés***

Des exemples de résultats d'immunophénotypage par cytométrie en flux sont présentés dans la figure 22, sous formes de graphiques ou de cytogrammes représentant l'intensité de fluorescence des cellules pour chaque anticorps. Les profils d'expressions permettent l'identification des populations cellulaires ciblées par l'immunomarquage.

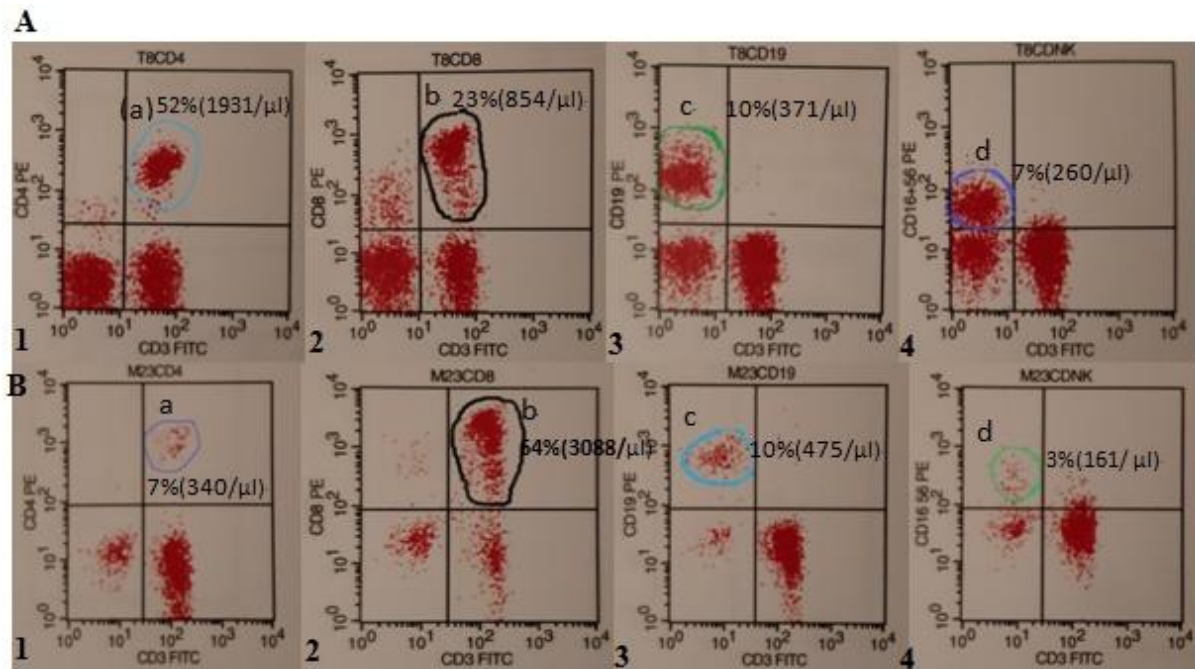


Figure 22 : Immunophénotypage des lymphocytes (en pourcentage et valeur absolue): T CD4 (a) (Cytogramme 1), T CD8(b) (Cytogramme 2), cellules B (c) (Cytogramme 3) et cellules NK (d) (Cytogramme 4). **A** : Cytogrammes représentant les lymphocytes de l'échantillon d'un enfant du groupe contrôle. **B** : Cytogrammes représentant les lymphocytes de l'échantillon d'un enfant du groupe infecté par le VIH.

Le pourcentage et la valeur absolue de chaque population lymphocytaire sont affichés pour chaque échantillon, puis enregistrés dans un fichier Excel comme il est montré dans le tableau suivant :

Tableau 3 : Immunophénotypage lymphocytaire de certains échantillons des deux groupes d'enfants.

Ech : échantillon, VA : valeur absolue.

Ech	%T	T (VA)	% T CD4	T CD4 (VA)	%T CD8	T CD8 (VA)	%T CD19	T CD19 (VA)	%NK	NK (VA)
<b>M1</b>	82	2962	31	970	44	1709	13	487	3	90
<b>M2</b>	84	6141	29	2070	50	3748	13	954	1	40
<b>M3</b>	82	3707	30	1348	45	2024	11	523	5	221
<b>M4</b>	70	4929	23	1577	44	4183	1	132	10	1319
<b>M5</b>	70	3819	24	1441	37	1883	23	1133	3	159
<b>M6</b>	87	4981	25	1458	58	3554	5	241	5	269
<b>M7</b>	77	1584	28	576	48	707	9	134	13	206
<b>M8</b>	77	1402	22	397	53	577	18	182	4	53
<b>M9</b>	74	3068	33	1368	36	1572	13	525	11	462
<b>T1</b>	63	5160	32	2651	24	2007	21	1735	14	1177

<b>T2</b>	66	3181	36	1752	25	1240	26	1313	5	69
<b>T3</b>	66	5629	51	4418	12	1052	23	1974	11	939
<b>T4</b>	59	2533	29	1224	26	584	28	636	13	300
<b>T5</b>	67	3357	35	1774	25	1287	18	893	12	596
<b>T6</b>	80	1800	44	1025	30	695	13	305	7	154
<b>T7</b>	75	3504	43	1983	24	1127	17	925	7	366
<b>T8</b>	75	5148	37	2616	36	2786	13	1051	12	904
<b>T9</b>	77	2827	38	1421	28	1262	7	363	13	708

## 2) Immunophénotypage lymphocytaire du contrôle interne utilisé

Le contrôle de qualité interne ou l'Immunotrol est un sang stabilisé, commercialisé avec des valeurs absolues des populations lymphocytaires connues. Il est utilisé dans cette étude comme contrôle de qualité interne et pour des raisons de facilité nous avons fait l'exploitation des résultats pour les cellules T et les cellules T CD4.

Les résultats de l'immunophénotypage lymphocytaire de l'Immunotrol Low et Normal, sont montrés dans la figure 23.

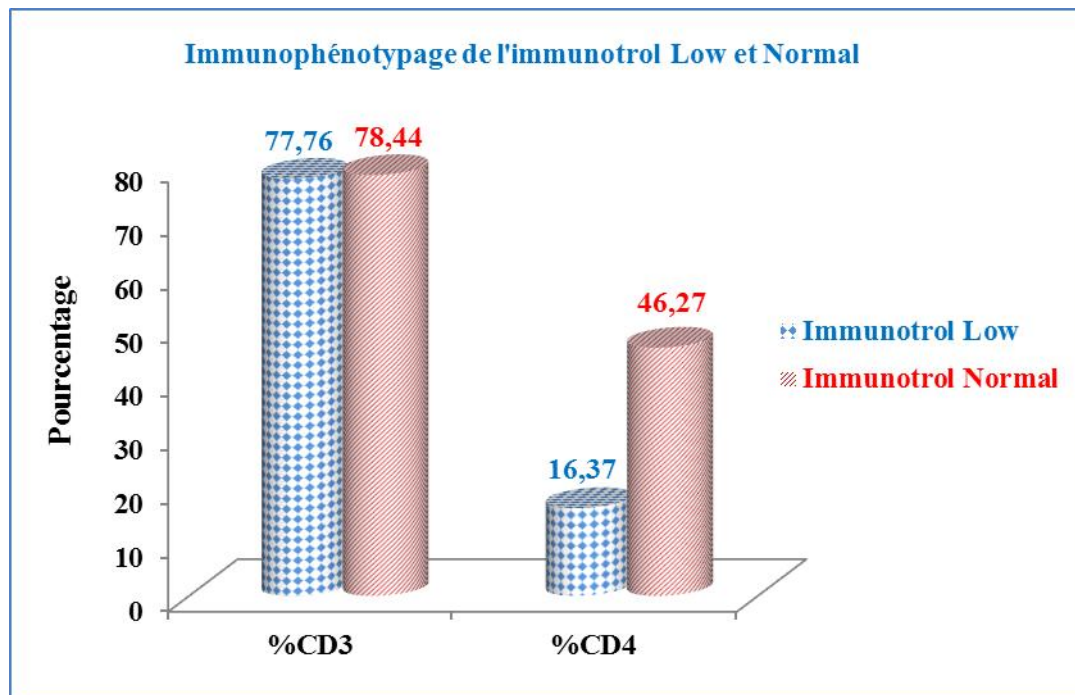


Figure 23 : Immunophénotypage des lymphocytes T et T CD4 du contrôle interne (Immunotrol low et Immunotrol norml).

Ces résultats montrent que le taux moyen des lymphocytes T CD4 est de 46.27% pour le contrôle normal et est de 16.37% pour le contrôle Low. Concernant le taux des lymphocytes T CD3, le taux moyen est de 78.44% pour le contrôle Normal et est de 77.76% pour le contrôle

Low.

Ces résultats sont comparables aux données des fiches techniques des Immunotroles utilisés.

### 3) Immunophénotypage lymphocytaire des échantillons d'enfants étudiés

Les résultats de l'immunophénotypage lymphocytaire des échantillons des enfants infectés et non infectés par le VIH, sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 4 : Immunophénotypage lymphocytaire des enfants des deux groupes étudiés. a : l'hypothèse de recherche  $P < 0.0001$  est significative. b : l'hypothèse de recherche est non significative. m : moyenne arithmétique. DS : Déviation Standard. IC : Intervalle de Confiance.

	Groupe contrôle m ± DS	Groupe infecté par le VIH m ± DS	Médiane	IC à 95% de la médiane
% des Cellules T	64.1 ± 9.8	76.7 ± 7.3	12	[9, 15] <sup>b</sup>
% des Cellules T CD8	25.4 ± 7.7	44.3 ± 12.0	19	[15, 22] <sup>b</sup>
<b>% des Cellules T CD4</b>	<b>34.9 ± 6.9</b>	<b>25.6 ± 9.2</b>	<b>0.10<sup>a</sup></b>	[-0.26, 0.43]
<b>% des Cellules B</b>	<b>20.7 ± 8.9</b>	<b>14.8 ± 7.2</b>	<b>-6</b>	<b>[-9, -4]<sup>a</sup></b>
<b>% des Cellules NK</b>	<b>09.0 ± 5.6</b>	<b>5.76 ± 3.3</b>	<b>3</b>	<b>[-4, -1]<sup>a</sup></b>

La comparaison entre les données lymphocytaires des deux groupes d'enfants, infectés et non infectés, a montré que la moyenne du taux des lymphocytes T est un peu élevée dans le groupe infecté par rapport au groupe contrôle (76.7% contre 64.1%), cependant la médiane n'est pas significative. Concernant la moyenne du taux des lymphocytes T CD8 chez les deux groupes d'enfants, la médiane n'est pas significative, bien que le taux soit élevé dans le groupe infecté par rapport au groupe non infecté par le VIH (44.3% contre 25.4%). Pour le taux des lymphocytes T CD4, la moyenne arithmétique est élevée chez le groupe contrôle par rapport au groupe infecté (respectivement 34.9% contre 25.6%), la médiane est significative ( $P < 0.0001$ ).

En ce qui concerne la moyenne du taux des cellules B et NK, dans le groupe contrôle et le groupe infecté, les médianes sont significatives ( $P < 0.0001$ ). La moyenne arithmétique du taux des cellules B est plus élevée chez le groupe contrôle par rapport au groupe infecté (20.7% contre 14.8%) ( $P < 0.0001$ ). D'autre part, la moyenne du taux des cellules NK est plus élevée chez le groupe des enfants contrôles en comparaison avec le groupe des enfants infectés par le VIH (9% contre 5.76%) ( $P < 0.0001$ ).

## IV. Charge virale du VIH des enfants infectés par le VIH

La charge virale du VIH correspond à la quantité d'ARN viral exprimée en nombre de copies/ml ou en log<sub>10</sub> pour évaluer sa variation dans le temps. Une variation supérieure ou égale à 0,5-10 log<sub>10</sub> est significative. La charge virale indique le nombre de virions dans l'organisme et par conséquent renseigne la réplication du VIH.

### 1) Spécimen de résultat de mesure de la charge virale du VIH

Les résultats s'affichent sous forme d'un tableau montrant l'emplacement de l'échantillon sur la plaque d'amplification, son identifiant ainsi que son taux en charge virale du VIH en log (copies/ml). Si la quantité de la charge virale est inférieure au seuil de détection de l'automate, le résultat affiché est indétectable « not detected ». Si la charge virale est quantifiable, le système affiche la quantification en copies d'ARN/ml du plasma ou en log à base de 10. Pour les échantillons dont la charge virale est inférieure au seuil de détection (< 40 copies/ml) mais détectable, le système indique < 40 copies/ml.

Nom plaque	Date et heure de l'analy	Statut	Statut de l'ar	Nom de l'application
0-09-2015	30/09/2015 15:57	Terminé	Archivé	0.6ml HIV-1 RNA
7-09-2015	17/09/2015 17:45	Terminé	Archivé	0.6ml HIV-1 RNA
5-09-2015	15/09/2015 18:17	Terminé	Archivé	0.6ml HIV-1 RNA
HCVG110915	10/09/2015 17:08	Terminé	Archivé	m2000 0.5ml HCV GT II

Résultats de la plaque sélectionnée :

Emplacement	ID échantillon	Type d'écha	Dosage	Résultat	Interprétati	Alarmes	Code
B12	5058		HIV0.6ml	< 1,60 Log (Copies / mL)	Detected		
C12	5059		HIV0.6ml	404 131 Copies / mL			
C12	5059		HIV0.6ml	5,61 Log (Copies / mL)			
D12	5060		HIV0.6ml	Not detected	Target not detected		
D12	5060		HIV0.6ml	Not detected	Target not detected		
E12	5061		HIV0.6ml	< 40 Copies / mL	Detected		
E12	5061		HIV0.6ml	< 1,60 Log (Copies / mL)	Detected		
F12	5062		HIV0.6ml	< 40 Copies / mL	Detected		
F12	5062		HIV0.6ml	< 1,60 Log (Copies / mL)	Detected		
G12	5063		HIV0.6ml	Not detected	Target not detected		
G12	5063		HIV0.6ml	Not detected	Target not detected		
H12	5068		HIV0.6ml	Not detected	Target not detected		
H12	5068		HIV0.6ml	Not detected	Target not detected		

Figure 24 : Charge virale du VIH par la technique Abbott Real Time HIV-1 sur le système M2000.

Dans ce tableau, nous avons des charges virales indétectables (notées : not detected), des charges virales < 40 copies/ml et des charges virales détectables qui peuvent être élevées (5.6 log). Les charges virales indétectables ou < 40 copies/ml témoignent que les enfants sont sous trithérapie et répondent virologiquement au traitement. Cependant, les charges virales

détectables signifient que les enfants ne sont pas encore sous traitement antirétroviral ou bien qu'ils viennent de commencer le traitement. En effet, le traitement au bout de 3 à 6 mois peut aboutir à une charge virale indétectable.

## **2) Charge virale du VIH des enfants infectés par le VIH**

L'ensemble des résultats de mesure de la charge virale du VIH dans les échantillons des enfants infectés par le VIH, est reporté et enregistré dans un fichier Excel.

Tableau 5 : Charge virale du VIH de certains échantillons d'enfants infectés par le VIH.

<b>Echantillon</b>	<b>Charge virale en copies/ml</b>
<b>M12</b>	indétectable
<b>M13</b>	indétectable
<b>M14</b>	736
<b>M15</b>	421987
<b>M16</b>	indétectable
<b>M17</b>	84747
<b>M18</b>	34234
<b>M19</b>	1490
<b>M20</b>	75 342
<b>M21</b>	indétectable
<b>M22</b>	4932
<b>M23</b>	Indétectable
<b>M24</b>	Indétectable
<b>M25</b>	649
<b>M26</b>	indétectable
<b>M27</b>	indétectable
<b>M28</b>	1194
<b>M29</b>	Indétectable

La répartition de la charge virale plasmatique du VIH des échantillons d'enfants infectés par le VIH, est montrée dans la figure 25.

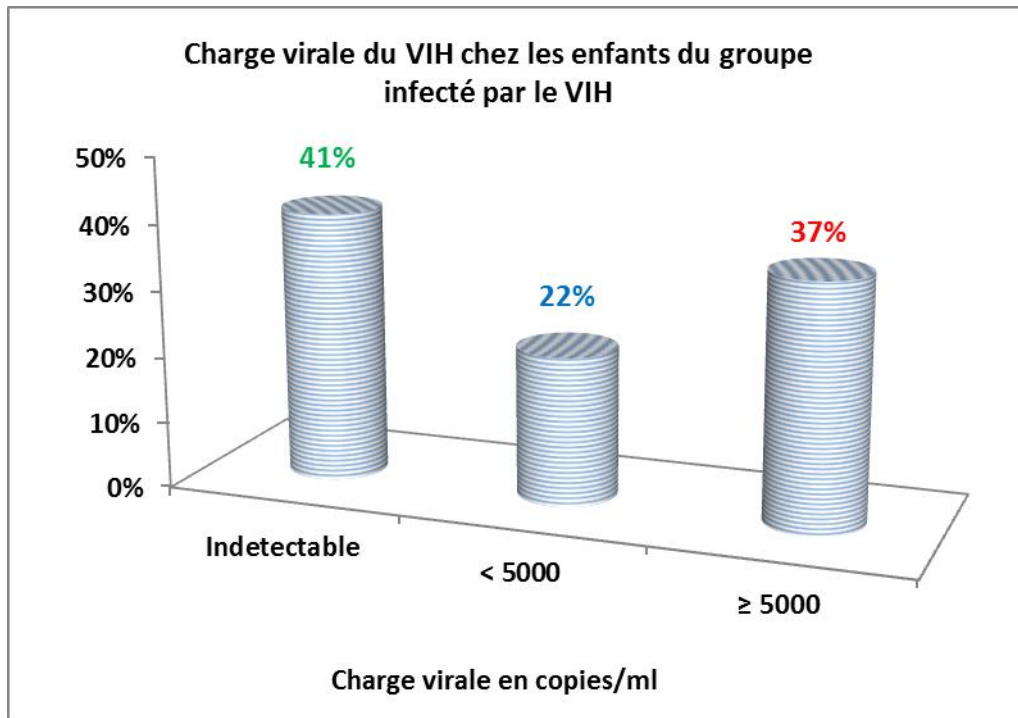


Figure 25 : Répartition de la charge virale du VIH (copies/ml) des enfants infectés par le VIH.

Environ la moitié des enfants infectés par le VIH (41%), inclus dans notre étude, leur charge virale est indétectable, 22% d'enfants leur charge virale est inférieure à 5000 copies/ml, alors que 37% d'enfants leur charge virale est supérieure ou égale à 5000 copies/ml.

Ces résultats montrent que le traitement antirétroviral a permis d'arrêter la réplication du VIH chez 41% des enfants.

## V. Quantification des anticorps « Anti-HBs »

Le vaccin contre l'hépatite B, administré au Maroc en 3 injections intramusculaires (M0, M2, M9), garantit une immunisation qui se traduit par un titre protecteur d'anticorps Anti-HBs  $\geq$  10 mUI/ml.

Notre objectif est d'évaluer le taux d'immunisation en anticorps Anti-HBs chez des enfants infectés par le VIH, comparativement à un groupe témoin. Ainsi, nous avons quantifié les anticorps Anti-HBs par le test ELISA en utilisant le kit « Monolisa Anti-HBs plus, Biorad France ».

Le test « Monolisa™ Anti-HBs PLUS », est un test immunoenzymatique direct de type sandwich. Les calibrateurs et les échantillons sériques des deux groupes sont incubés dans les cupules, les anticorps Anti-HBs éventuellement présents dans les échantillons et/ou les calibrateurs se lient avec les antigènes fixés sur les cupules en formant ainsi un complexe



immunologique antigène/anticorps. Le conjugué ajouté se lie au complexe antigène/anticorps formé, puis une solution de révélation enzymatique est ajoutée dans chaque cupule. Durant la phase d'incubation qui s'en suit, l'enzyme liée entraîne une coloration de la solution chromogène qui devient bleue. L'addition de la solution d'arrêt, change la coloration du substrat du bleu au jaune. Pour les échantillons ne contenant pas des anticorps Anti-HBs, la coloration du substrat disparaît des cupules pendant la phase d'incubation et après addition de la solution d'arrêt. L'intensité de coloration, mesurée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration en Anti-HBs dans l'échantillon.

Les valeurs d'absorbance (ou la densité optique : DO) mesurées par spectrophotométrie pour chaque échantillon, sont comparées à une valeur seuil ( $V_s$ ) déterminée à partir des contrôles utilisés et le titrage des anticorps est fait à l'aide des calibrateurs.

### 1) *Dosage des anticorps Anti-HBs par spectrophotométrie*

Les résultats du dosage enzymatique ou de la densité optique des échantillons du test « Monolisa Anti-HBs PLUS », mesurés par spectrophotométrie à 450 nm après révélation, sont montrés dans la figure 26.

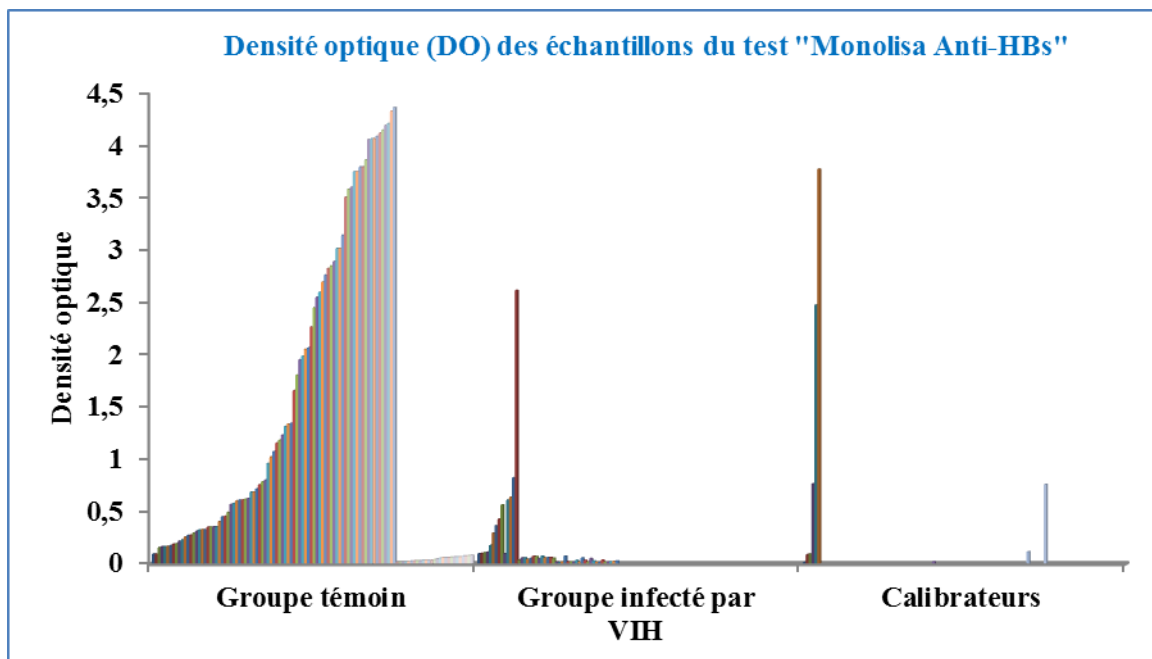


Figure 26 : Densités optiques, obtenues par le test « Monolisa Anti-HBs » plus, mesurées chez les deux groupes d'enfants par spectrophotométrie à 450 nm.

Ces résultats montrent que la densité optique est positive chez la majorité des échantillons des enfants du groupe témoin ( $DO > V_s = 0.093$ ) et qu'une partie de ces enfants leur DO est très élevée (comparable à la DO la plus élevée des Calibrateurs du test).

Pour les échantillons du groupe d'enfants infectés par le VIH, la majorité leurs DO sont négatives (< Vs) et seulement un seul échantillon a une DO élevée comparable à celle de l'un des Calibrateurs du test

## 2) *Titres des anticorps « Anti-HBs »*

Afin de déterminer la concentration en anticorps Anti-HBs des échantillons, nous avons utilisé la méthode quantitative du test « Monolisa Anti-HBs PLUS». Ainsi, l'absorbance ou la densité optique (DO) est mesurée à 450 nm pour les 4 calibrateurs C0, C1, C2 et C3, puis est apportée graphiquement en fonction de leurs concentrations respectives, en anticorps Anti-HBs, suivant une régression polynomiale d'ordre 2 (Tableau 5).

Les échantillons dont les DO mesurées sont inférieures à la DO du C3, sont interprétés avec la courbe établie en utilisant les DO des 4 calibrateurs C0, C1, C2 et C3.

L'absorbance mesurée pour les calibrateurs C3 (400 mUI/ml) et C4 (1000 mUI/ml) est apportée graphiquement en fonction de leurs concentrations respectives. La concentration en Anti-HBs (mUI/ml) de chaque échantillon peut ainsi être lue à l'intersection de la valeur d'absorbance mesurée. Cette deuxième courbe d'absorbance est utilisée pour déterminer la concentration en anticorps Anti-HBs pour les échantillons dont la valeur est comprise entre 400 mUI/ml et 1000 mUI/ml.

Tableau 6 : Densités optiques et titres d'Anti-HBs des calibrateurs, utilisés pour la courbe d'étalonnage et titrage des anticorps Anti-HBs des échantillons du test « Monolisa Anti-HBs plus ».

<b>Calibrateurs</b>	<b>DO à 450 nm</b>	<b>Niveau d'anticorps Anti-HBs en mUI/ml</b>
<b>C0</b>	0,016	0
<b>C1</b>	0,090	10
<b>C2</b>	0,764	100
<b>C3</b>	2,471	400
<b>C4</b>	3,770	1000

La densité optique de chaque échantillon, est placée sur la courbe pour repérer sa concentration correspondante en anticorps Anti-HBs.

Exemples de résultats :

Tableau 7 : DO et Titres d'Anti-HBs de certains échantillons du groupe d'enfants infectés par le VIH.

<b>Echantillon</b>	<b>DO de l'échantillon à 450 nm</b>	<b>Concentration de l'échantillon en Anti-HBs en UI/ml</b>
<b>M31</b>	0,035	4
<b>M32</b>	0,058	6
<b>M33</b>	0,057	6
<b>M34</b>	0,046	5
<b>M35</b>	0,054	6
<b>M36</b>	0,073	8
<b>M37</b>	0,071	7
<b>M38</b>	0,051	6
<b>M39</b>	0,073	8
<b>M40</b>	0,058	6
<b>M41</b>	0,098	11
<b>M42</b>	0,100	11
<b>M43</b>	0,108	12

Dans le tableau 6, certains patients présentent un titre immunisant alors que le reste des patients n'est pas immunisé contre le VHB car leur titre en Anti-HBs est < 10 mUI/ml.

Tableau 8 : DO et Titres d'Anti-HBs de certains échantillons du groupe contrôle.

<b>Echantillon</b>	<b>DO de l'échantillon à 450 nm</b>	<b>Concentration de l'échantillon en Anti-HBs en UI/ml</b>
<b>T1</b>	0,608	80
<b>T2</b>	0,611	80
<b>T3</b>	3,746	962
<b>T4</b>	4,060	1022
<b>T5</b>	4,062	1023
<b>T6</b>	4,082	1028
<b>T7</b>	4,115	1036
<b>T8</b>	4,144	1043
<b>T9</b>	4,187	1053
<b>T10</b>	4,205	1072
<b>T11</b>	4,325	1220
<b>T12</b>	4,359	1230

Dans le tableau 7, un extrait d'échantillons montrant les DO et les titres des anticorps Anti-HBs de certains enfants du groupe contrôle. Tous ces enfants sont immunisés contre le VHB car leurs titres en Anti-HBs est  $> 10$  mUI/ml.

### 3) Réponse au vaccin de l'hépatite B chez les deux groupes d'enfants étudiés

Les résultats de la réponse au vaccin de l'hépatite B, sont montrés dans le tableau ci-après. Une réponse vaccinale est estimée protectrice, si le titre des anticorps Anti-HBs est supérieur ou égal à 10 mUI/ml et elle est estimée non protectrice, si le titre de ces anticorps est strictement inférieur à 10 mUI/ml.

Tableau 9 : Réponse humorale au vaccin de l'hépatite B chez les 2 groupes d'enfants.

	Groupe contrôle	Groupe infecté par le VIH	Valeur P
Nombre d'enfants avec un titre des Anti-HBs protecteur ( $\geq 10$ mUI/ml) (%)	85 (76%)	14 (29%)	$< 0.0001$
Nombre d'enfants avec un titre des Anti-HBs non protecteur ( $< 10$ mUI/ml) (%)	27 (24%)	35 (71%)	$< 0.0001$
Niveau géométrique moyen des Anti-HBs	609.46	142.53	--

Dans le groupe contrôle, 76% des enfants ont un titre plasmatique des Anti-HBs protecteur contre le VHB et 24% enfants ont un titre non protecteur. Par ailleurs, dans le groupe des enfants infectés par le VIH, les résultats révèlent que 29% des enfants ont un titre protecteur des anticorps Anti-HBs et que 71% des enfants de ce groupe ont un titre non protecteur. En outre, les résultats montrent que le niveau géométrique moyen des Anti-HBs dans le groupe des enfants contrôles, est de 609.46 contre 142.53, dans le groupe des enfants infectés par le VIH.

La comparaison entre les deux groupes d'enfants, montre que la réponse post-vaccinale protectrice contre le VHB est révélée chez 76% des enfants contrôles contre seulement 29% des enfants infectés par le VIH, la différence est significative ( $P < 0.0001$ ), alors qu'une réponse non protectrice est révélée chez 24% des enfants contrôles, contre 71% des enfants infectés par le VIH, la différence est significative aussi ( $P < 0.0001$ ).

Ces données montrent que 71% des enfants infectés par le VIH n'ont pas répondu optimalement au vaccin de l'hépatite B et sont ainsi non protégés contre le VHB.

#### 4) Répartition des titres des anticorps « Anti-HBs » chez les deux groupes d'enfants

Après calcul des titres des anticorps Anti-HBs des échantillons par la méthode quantitative du test « Monolisa Anti-HBs plus », la répartition de ces titres chez les deux groupes d'enfants est montrée dans la figure 27.

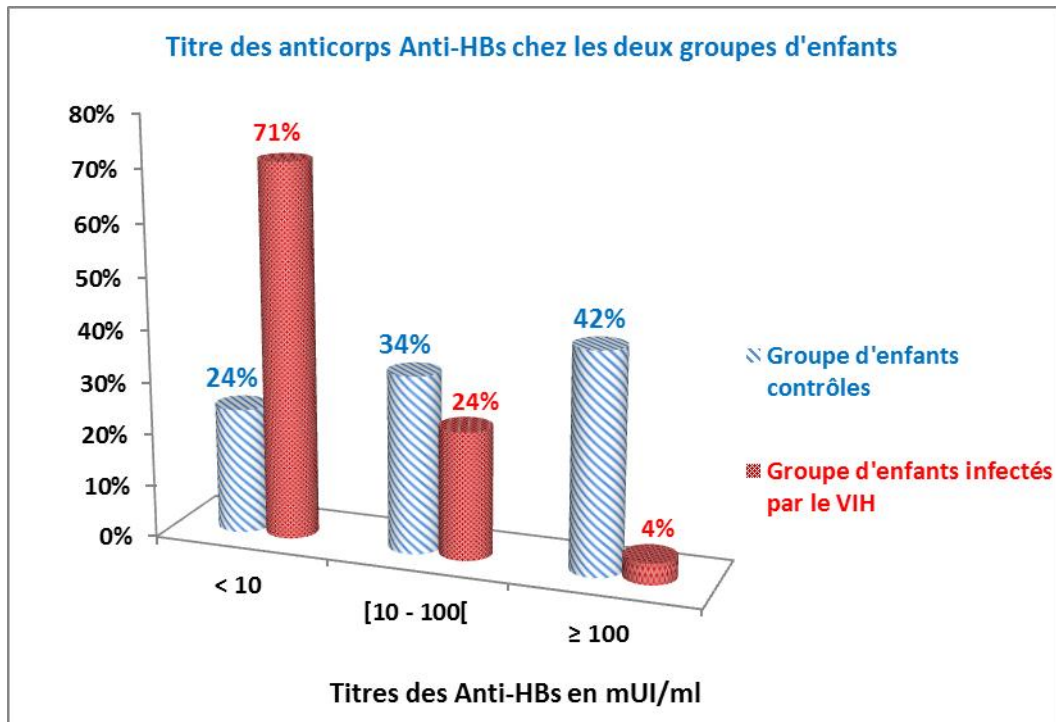


Figure 27 : Répartition des titres des anticorps Anti-HBs chez les deux groupes d'enfants étudiés.

Les résultats montrent aussi que 24% des enfants du groupe contrôle, ont un titre en anticorps Anti-HBs < 10 mUI/ml (titre non protecteur contre le VHB) par rapport à 71% des enfants infectés par le VIH.

Le titre des anticorps Anti-HBs compris entre 10 et 100 mUI/ml, est révélé chez 34% des enfants du groupe contrôle en comparaison avec 24% des enfants infectés par le VIH.

Le titre des anticorps Anti-HBs compris entre 101 et 500 mUI/ml, est révélé chez 21% des enfants du groupe contrôle contre seulement 4% des enfants infectés par le VIH.

Le titre des anticorps Anti-HBs > 501 mUI/ml, est révélé chez 21% des enfants du groupe contrôle contre 0% des enfants infectés par le VIH.

### 5) *Evaluation de la réponse au vaccin de l'hépatite B chez les 2 groupes d'enfants en fonction des données démographiques, biologiques et thérapeutiques*

Les résultats de l'évaluation de la réponse humorale au vaccin de l'hépatite B en fonction des données démographiques, biologiques et thérapeutiques entre les enfants du groupe contrôle et les enfants du groupe infecté par le VIH, sont montrés respectivement dans le tableau 9 et le tableau 10.

Tableau 10 : Réponse humorale au vaccin de l'hépatite B chez les enfants du groupe contrôle en fonction des données démographiques, biologiques et thérapeutiques.

	Groupe contrôle		
	Anti-HBs < 10 m ± DS	Anti-HBs ≥ 10 m ± DS	Valeur P
Age (mois)	64 ± 38	45 ± 35	0.991
sexe Féminin	56%	37%	0.080
%Cellules T	67.5 ± 1 1.5	63.1 ± 9.0	0.986
%Cellules T CD4	34.1 ± 6.7	35.1 ± 7.0	0.741
%Cellules T CD8	27.4 ± 7.5	24.8 ± 7.6	0.963
% Cellules B	<b>17.9 ± 9.5</b>	<b>21.6 ± 8.5</b>	<b>0.029</b>
%Cellules NK	8.9 ± 5.0	09.1 ± 5.8	0.593

Dans le groupe contrôle, l'âge moyen des enfants qui n'ont pas un titre d'anticorps Anti-HBs protecteur contre le VHB, est supérieur à l'âge moyen des enfants qui ont un titre protecteur en ces anticorps, respectivement 64 mois contre 45 mois, mais la différence n'est pas significative (P = 0.991). Dans ce groupe, le sexe féminin représente 56% des enfants qui n'ont pas une réponse protectrice contre le VHB et 37% des enfants qui ont une réponse protectrice contre cette infection, mais la différence n'est pas significative (P = 0.080). En outre, les résultats montrent que la différence de la moyenne du taux des lymphocytes T, T CD4, T CD8 et NK entre les enfants du groupe contrôle qui ont un titre protecteur et ceux qui

ne l'ont pas, n'est pas significative ( $P = 0.986, 0.741, 0.963$  et  $0.593$  respectivement). Cependant, une différence significative ( $P = 0.029$ ) existe lorsqu'on compare la moyenne du taux des cellules B chez les enfants contrôles avec une réponse non protectrice contre le vaccin du VHB, versus les enfants contrôles qui ont une réponse post-vaccinale protectrice contre le VHB, 17.9% contre 21.6% respectivement.

Tableau 11 : Réponse humorale au vaccin de l'hépatite B chez les enfants du groupe infecté par le VIH en fonction des données démographiques, biologiques et thérapeutiques.

	Groupe infecté par le VIH		
	Anti-HBs < 10 m ± DS	Anti-HBs ≥ 10 m ± DS	Valeur P
Age (mois)	59 ± 36	32 ± 26	0.998
sexe Féminin	69%	50%	0.223
%Cellules T	75.7 ± 7.8	75.5 ± 5.9	0.652
<b>%Cellules T CD4</b>	<b>23.6 ± 9.0</b>	<b>30.4 ± 8.4</b>	<b>0.008</b>
%Cellules T CD8	46.0 ± 12.6	40.1 ± 9.2	0.928
% Cellules B	14.0 ± 7.0	16.7 ± 7.3	0.056
%Cellules NK	06.3 ± 3.1	04.3 ± 3.5	0.983
Traitement antirétroviral	65.71%	85.71%	0.185
Charge virale du VIH (log)	2.4 ± 2.3	2.4 ± 2.1	0.5

Dans le groupe des enfants infectés par le VIH, l'âge moyen des enfants qui n'ont pas un titre des anticorps Anti-HBs protecteur contre le VHB, est supérieur à l'âge moyen des enfants qui ont un titre protecteur de ces anticorps, 59 mois contre 32 mois, mais la différence n'est pas significative ( $P = 0.998$ ). Le sexe féminin représente 69% des enfants infectés par le VIH, qui n'ont pas une réponse protectrice contre l'hépatite B et 50% des enfants infectés qui ont une réponse protectrice, cependant la différence n'est pas significative ( $P = 0.223$ ). Dans ce groupe, les résultats montrent que la différence de la moyenne des taux des lymphocytes T, T CD8 et cellules NK, n'est pas significative entre les enfants non immunisés et immunisés ( $P =$

0.652, 0.928 et 0.983 respectivement). Néanmoins, une différence significative ( $P = 0.008$ ) est obtenue pour la moyenne du taux des lymphocytes T CD4 entre les enfants infectés par le VIH qui n'ont pas une réponse post-vaccinale protectrice et les enfants infectés par le VIH, qui ont une réponse protectrice (23.6% contre 30.4%). Concernant la moyenne du taux des cellules B, elle est de 14% chez les enfants infectés par le VIH, qui n'ont pas un titre protecteur des anticorps Anti-HBs et est de 16.7% chez les enfants infectés par le VIH, qui ont un titre protecteur, la différence n'est pas significative ( $P = 0.056$ ). De plus, les résultats montrent que 65.71% des enfants qui n'ont pas répondu optimalement au vaccin de l'hépatite B, sont sous traitement antirétroviral, contre 85.71% des enfants qui ont une réponse vaccinale, mais la différence n'est pas significative ( $P = 0.185$ ). Finalement, la moyenne de la charge virale est similaire (2.4 log<sub>10</sub>) entre les enfants infectés par le VIH qui ont un titre protecteur des anticorps Anti-HBs et ceux qui n'en ont pas, la différence n'est pas significative ( $P = 0.5$ ).

## **VI. Recherche des AgHBs et des anticorps anti-HBc**

Pour rechercher une éventuelle infection par le VHB chez les échantillons des enfants qui étaient négatifs pour les anticorps Anti-HBs, dans notre étude, nous avons recherché les AgHBs et les anticorps anti-HBc, en utilisant respectivement le test « Monolisa HBsAg ULTRA plus » et le test « Monolisa Anti-HBc Plus ».

### ***1) Recherche des AgHBs***

La présence de l'AgHBs dans le sérum témoigne d'une infection par le VHB. Il est le premier marqueur à apparaître et peut précéder de 2 à 3 semaines les signes cliniques et biologiques de la maladie. Sa présence peut être très brève (quelques jours) ou très longue (plusieurs années). Au-delà de 6 mois de persistance de l'AgHBs, l'hépatite est qualifiée de "chronique".

Ainsi, pour explorer une éventuelle infection récente ou chronique par le virus de l'hépatite B chez les enfants qui ne sont pas immunisés contre le VHB, nous avons recherché l'AgHBs dans le plasma de ces enfants en utilisant le test « Monolisa<sup>TM</sup>HBs Ag ULTRA plus ».

Il s'agit d'une technique immunoenzymatique de type "sandwich", utilisant comme phase solide des anticorps monoclonaux et des anticorps polyclonaux sélectionnés, pour la détection de différents sous-types de l'AgHBs. La présence de l'AgHBs dans les échantillons et/ou les calibrateurs, engendre la formation du complexe immunologique antigène/anticorps. Les conjugués de ce test sont des anticorps monoclonaux et des anticorps polyclonaux contre l'AgHB et sont couplés à la peroxydase. La révélation du complexe anticorps-Ag-anticorps\*peroxydase est effectuée par la réaction enzymatique de la peroxydase avec son



substrat. L'intensité de coloration (jaune pour les échantillons positifs), mesurée par spectrophotométrie à 450 nm, est proportionnelle à la concentration en AgHBs dans l'échantillon.

### a. Dosage de l'AgHBs par spectrophotométrie

Les résultats du dosage enzymatique de l'AgHBs dans les échantillons négatifs pour les Anti-HBs, sont montrés dans la figure 28.

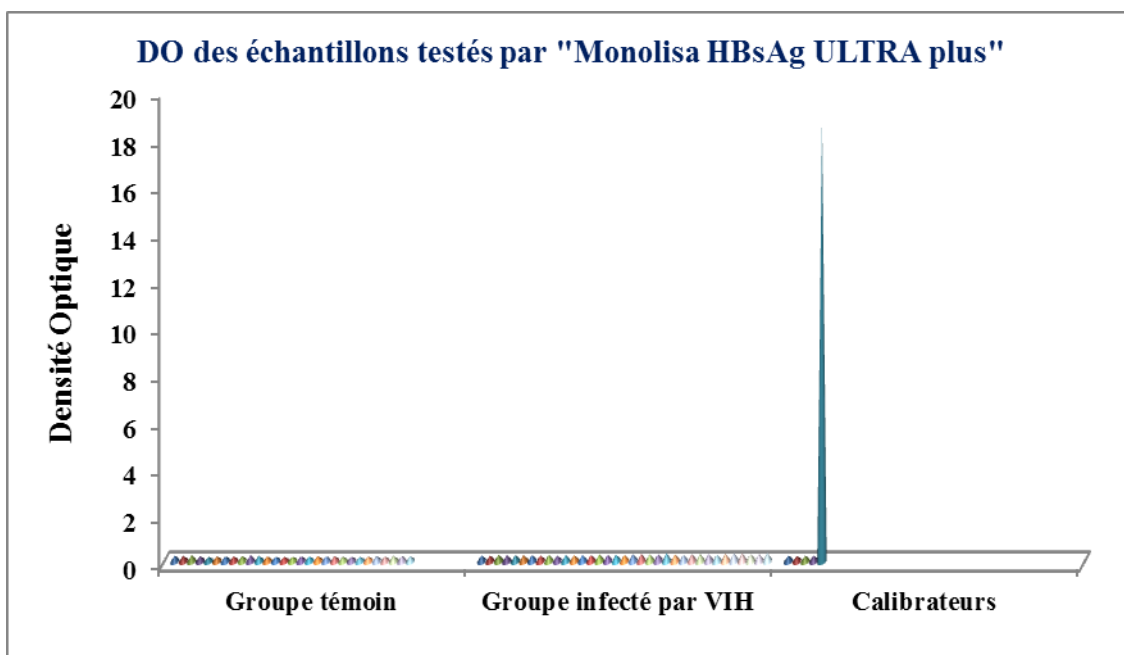


Figure 28 : Densités optiques des échantillons, obtenues par le test « Monolisa HBsAg ULTRA plus », mesurées par spectrophotométrie à 450 nm.

Ces résultats montrent que les échantillons (négatifs pour les Anti-HBs) testés pour la recherche de l'AgHBs, leurs densités optiques sont inférieures à 1 et à la valeur seuil du test ( $V_s = 0.066$ ).

### b. Calcul et interprétation des résultats

\* Calcul de la DO moyenne du contrôle négatif (R3) :

$$\{0.017 (A1) + 0.015 (B1) + 0.016 (C1) + 0.017 (D1)\}/4 = 0.016$$

\* Calcul de la valeur seuil (VS) :

$$V_s = 0.016 + 0.050 = 0.066$$

\* Calcul des ratios :

Pour chaque échantillon, le ratio est égal à la DO de l'échantillon/ VS.

Exemple :  $0.016 (G1)/0.066 (VS) = 0.24$ .

\* Interprétation des résultats :

- Les échantillons dont le ratio est inférieur à 1 sont considérés comme négatifs.
- Les échantillons dont le ratio est  $\geq 1$  sont considérés comme initialement positifs et doivent être testés de nouveau en double avant une interprétation finale.
- Pour les échantillons dont le ratio est compris entre 0.9 et 1, doivent être interprétés avec prudence (il est conseillé de retester les échantillons).
- Pour les échantillons initiaux réactifs ou douteux ( $0,9 < \text{ratio} < 1$ ), après un autre essai, l'échantillon est considéré positif, si au moins l'une des deux mesures est positive.

Les résultats de calcul des ratios des échantillons testés pour la recherche des AgHBs, ont montré que tous ces ratios sont inférieurs à 1. Par conséquent, ces échantillons sont négatifs pour l'AgHBs.

### ***2) Recherche des anticorps anti-HBc***

Le test « Monolisa anti-HBc Plus », est un test ELISA indirect pour la détection simultanée des anticorps totaux du core du VHB dans le sérum ou le plasma humain. Le principe de ce test consiste à utiliser une phase solide préparée avec l'AgHBc recombinant. Si les anti-HBc sont présents dans les sérums à tester et les sérums témoins, ils se lieront aux antigènes fixés sur la phase solide. Les IgG et IgM humaines marquées à la peroxydase, qui sont ajoutées après une étape de lavage, se lient à leur tour aux anticorps spécifiques capturés sur la phase solide. Après l'élimination du conjugué enzymatique non lié, le complexe antigène-anticorps est révélé par l'addition de substrat. L'intensité de la couleur émise suite à la réaction enzymatique est mesurée par spectrophotomètre à 450 nm et elle est proportionnelle à la quantité d'anti-HBc liés sur la phase solide.

#### **a. Dosage des Anti-HBc par spectrophotométrie**

Les résultats du dosage enzymatique ou la densité optique des échantillons du test « Monolisa anti-HBc plus », mesurée par spectrophotométrie à 450 nm après révélation, sont montrés dans la figure 29.

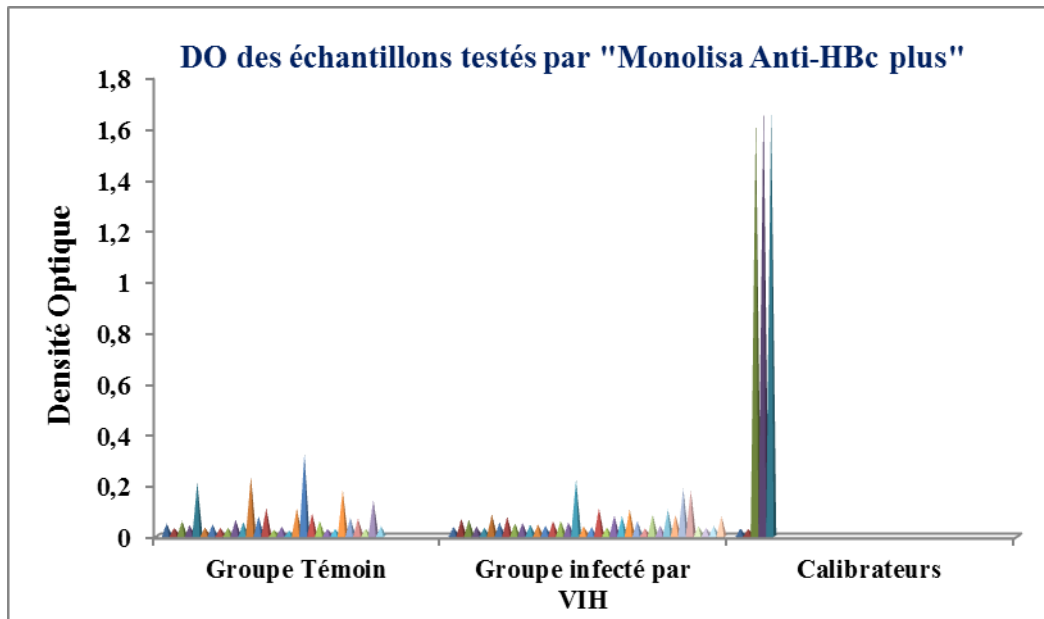


Figure 29 : Densités optiques des échantillons, obtenues par le test « Monolisa anti-HBc plus », mesurées par spectrophotométrie à 450 nm.

Ces résultats montrent que tous les échantillons négatifs pour les anticorps Anti-HBs, testés pour la recherche des anticorps anti-HBc par « Monolisa anti-HBc Plus », leurs DO sont inférieures à la valeur seuil du test ( $V_s = 0.335$ ) et n'atteignent pas celles des calibrateurs positifs du test.

#### **b. Calcul et interprétation des résultats**

La présence ou l'absence d'anti-HBc est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée avec celle de la valeur seuil calculée.

\* Calcul de la moyenne des valeurs de DO pour le sérum témoin positif (R4) :

$$\{1.651 (C1) + 1.701 (D1) + 1.676 (E1)\} / 3 = 1.676$$

\* Calcul de la valeur seuil (VS) :

$$VS = \text{moyenne des DO de R4/5} = 1.676 / 5 = 0.335$$

A partir de la DO des échantillons testés pour la recherche des anticorps anti-HBc et en comparaison avec la valeur seuil ( $VS = 0.335$ ) du test « Monolisa anti-HBc plus », nous observons que les DO de tous les échantillons sont inférieures à la VS. Par conséquent, ces échantillons sont négatifs pour les anticorps anti-HBc.

Les résultats négatifs en AgHBs et en anticorps Anti-HBc, montrent que ces enfants non immunisés contre l'hépatite B, ne sont pas infectés par le VHB, puisque les AgHBs et les anticorps anti-HBc sont négatifs.

## **VII. Quantification des IgG anti-rougeole**

Malgré les programmes de vaccination adoptés par de nombreux pays et les progrès accomplis vers l'élimination de la rougeole par certains pays, des cas de rougeole continuent

de se produire dans certaines régions du globe. Une immunité à vie est généralement rapportée après une infection rougeoleuse de type sauvage, tandis qu'une immunité décroissante a été rapportée chez les personnes vaccinées, en corrélation avec des taux plus faibles ou une diminution plus rapide des anticorps spécifiques de la rougeole, en particulier chez les enfants infectés par le VIH.

Ainsi, pour évaluer le titre d'immunisation des enfants infectés par le VIH contre la rougeole, nous avons utilisé dans cette étude le test enzymatique « Enzygnost Anti-measles virus/IgG » (SIEMENS). Pour ce test, si les anticorps IgG spécifiques de la rougeole sont présents dans les échantillons testés, ils vont se lier à l'antigène désactivé du virus de la rougeole qui recouvre la paroi des cupules de la microplaque du test. Le conjugué anti-IgG humaine couplé à la peroxydase, se fixe au complexe lié (IgG-Antigène) et la révélation enzymatique du complexe formé se fait par l'ajout du substrat de la peroxydase. La réaction enzymatique est arrêtée par l'ajout de la solution d'arrêt et puis l'intensité de la coloration, qui est proportionnelle au titre des IgG anti-rougeole dans l'échantillon, est mesurée par spectrophotométrie à 450 nm. La quantification de ce titre est réalisée par calcul via la méthode  $\alpha$  du test.

### ***1) Dosage des IgG anti-rougeole par spectrophotométrie***

Les résultats du dosage enzymatique des IgG anti-rougeole dans les échantillons des deux groupes d'enfants, sont montrés dans la figure 30.

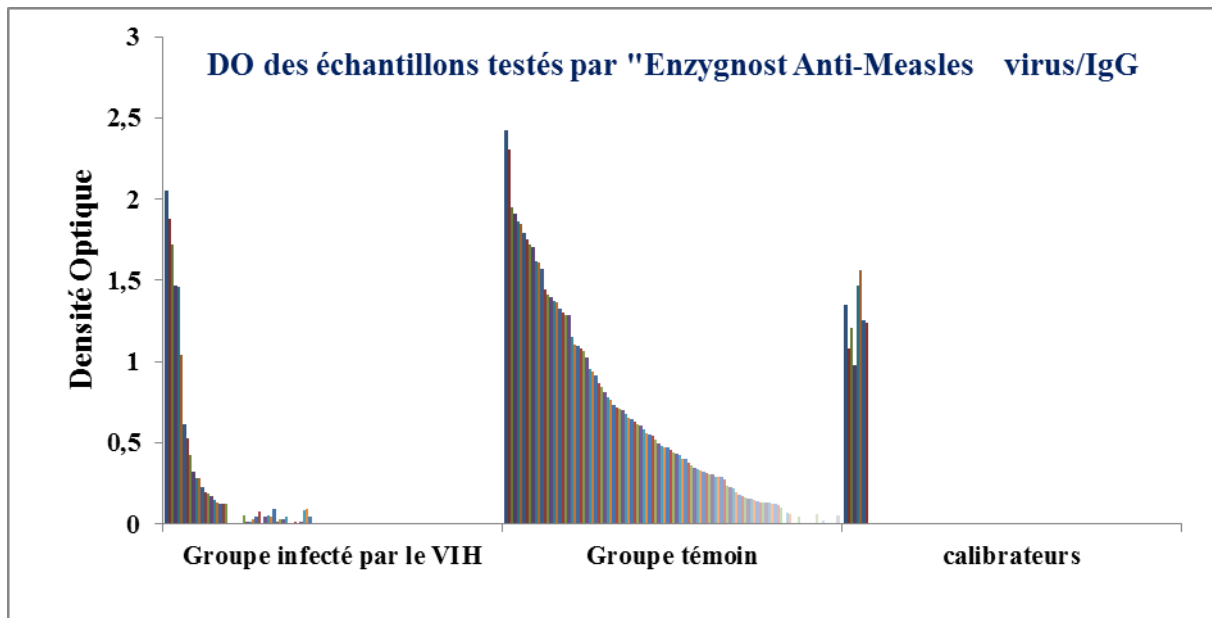


Figure 30 : Densités optiques ( $\Delta DO$ ) des échantillons, obtenues par le test « Enzygnost Anti-measles virus/IgG », mesurées par spectrophotométrie à 450 nm.

Les résultats montrent que la réaction enzymatique est révélée dans la majorité des échantillons du groupe témoin, ce qui indique la présence des IgG anti-rougeole dans ces échantillons. Les  $\Delta DO$  sont importées pour le groupe contrôle et le groupe infecté par le VIH. D'autres parts, certains échantillons du groupe contrôle et du groupe infecté par le VIH, leurs DO sont supérieures à celles des calibrateurs positifs du test. Ceci montre que les titres des IgG anti-rougeole sont très importants dans ces échantillons.

## 2) Calcul et interprétation des résultats

\* D'après les critères définis pour le test, les échantillons sont classés comme suit :

- Un échantillon est considéré négatif si  $\Delta A < 0.100$ .
- Un échantillon est considéré positif si  $\Delta A > 0.200$ .
- Un échantillon est considéré indéterminé (ou équivoque) si  $0.100 \leq \Delta A \leq 0.200$ .

\* L'évaluation quantitative des IgG dirigées contre la rougeole à l'aide de la méthode  $\alpha$  est comme suivant :

Les échantillons ayant des activités d'anticorps IgG supérieures à la valeur seuil (VS), peuvent être analysés quantitativement à l'aide de la méthode  $\alpha$ . Le calcul est réalisé selon la formule suivante :

$$\text{Log}_{10} \text{ mUI/ml} = \alpha \times \Delta A^\beta$$

Les valeurs des constantes  $\alpha$  et  $\beta$  dépendent du lot et dans notre cas  $\alpha = 3.4283$  et  $\beta = 0.1974$ .

*Exemple de calcul :*

\* Calcul de  $\Delta A$  d'un échantillon de DO (T28) = :  $0.314(\text{T28}) - 0.021(\text{T28}) = 0.293$

\* Calcul de  $\Delta A^\beta$ :  $0.293^{0.1974} = 0.78$

\* Calcul de  $\alpha \times \Delta A^\beta = 3.4283 \times 0.78 = 2.674$

\* Le titre d'anticorps anti-rougeole est  $10^{2.674} = 472.06$  mUI/ml.

*Exemple de résultats :*

Tableau 12 : DO et Titre des IgG anti-rougeole de certains échantillons des enfants du groupe contrôle.

Echantillon	$\Delta DO$ de l'échantillon	Concentration de l'échantillon en IgG anti-rougeole en UI/ml
<b>T12</b>	2,427	12135
<b>T13</b>	2,308	11059
<b>T14</b>	1,953	8177
<b>T15</b>	1,911	7867
<b>T16</b>	1,753	6761

<b>T17</b>	1,615	5869
<b>T18</b>	1,15	3343
<b>T19</b>	1,069	2977
<b>T20</b>	0,816	1965
<b>T21</b>	0,781	1841
<b>T22</b>	0,767	1792
<b>T23</b>	0,735	1683
<b>T24</b>	0,707	1590
<b>T25</b>	0,677	1494
<b>T26</b>	0,644	1390
<b>T27</b>	0,603	1266
<b>T28</b>	0,293	472
<b>T29</b>	0,12	180

Dans le tableau 10, excepté l'échantillon témoin T29 qui a un titre non immunisant contre la rougeole (un titre des IgG anti-rougeole < 304 mUI/ml), tous les enfants sont immunisés car leurs titres en IgG anti-rougeole sont très élevés (> 304 mUI/ml).

Tableau 13 : DO et Titre des IgG anti-rougeole de certains échantillons des enfants infectés par le VIH.

<b>Echantillon</b>	<b><math>\Delta</math>DO de l'échantillon</b>	<b>Concentration de l'échantillon en IgG anti-rougeole en UI/ml</b>
<b>M1</b>	0.002	10
<b>M2</b>	0.003	12
<b>M3</b>	0.005	16
<b>M4</b>	0,006	18
<b>M5</b>	0.010	24
<b>M6</b>	0,012	27
<b>M7</b>	0.017	34
<b>M8</b>	0.031	53
<b>M9</b>	0.032	55
<b>M10</b>	0.043	70
<b>M11</b>	0.075	114
<b>M12</b>	0.086	129
<b>M13</b>	0.090	135

Dans le tableau 11, tous les enfants ne sont pas immunisés contre la rougeole car leurs titres en IgG anti-rougeole sont < 150 mUI/ml.

### 3) Réponse au vaccin de la rougeole chez les deux groupes d'enfants étudiés

Les résultats de la réponse au vaccin de la rougeole chez les deux groupes d'enfants étudiés sont montrés dans le tableau ci-dessus.

Une réponse antirougeoleuse est estimée :

- Immunisante si le titre des anticorps anti-rougeole est supérieur à 304 mUI/ml ;
- Non immunisante si le titre des anticorps anti-rougeole est inférieur à 150 mUI/ml ;
- Equivoque si le titre des anticorps anti-rougeole est strictement compris entre 150 mUI/ml et 300 mUI/ml.

Tableau 14 : Réponse humorale au vaccin de la rougeole chez les deux groupes d'enfants.

	Titre en IgG anti-rougeole		
	Non immunisant % (n)	Equivoque % (n)	Immunisant % (n)
Groupe contrôle	12.5% (8)	14.1% (8)	73.4% (48)
Groupe des enfants infectés par le VIH	58% (28)	16% (7)	26% (15)
Valeur P	< 0.0001	0.62	< 0.0001

Dans le groupe des enfants contrôles, 73.4% des enfants ont répondu positivement au vaccin de la rougeole, c'est-à-dire qu'ils sont immunisés, 12.5% des enfants ont répondu négativement et 14.1% des enfants ont eu une réponse indéterminée.

Dans le groupe des enfants infectés par le VIH, 26% des enfants ont répondu positivement au vaccin, 58% des enfants ont répondu négativement et 16% des enfants ont eu une réponse indéterminée.

En comparaison entre les deux groupes, les résultats montrent que la réponse post-vaccinale non protectrice contre le virus de la rougeole, est révélée chez 12.5% des enfants contrôles

contre 58% des enfants infectés par le VIH, la différence est significative ( $P < 0.0001$ ). La réponse indéterminée est montrée chez 14.1% des enfants contrôles, contre 16% des enfants infectés par le VIH, la différence n'est pas significative ( $P = 0.62$ ). En fin, la réponse post-vaccinale protectrice contre le virus de la rougeole est observée chez 73.4% des enfants contrôles, contre seulement 26% des enfants infectés par le VIH, la différence est significative ( $P < 0.0001$ ).

#### 4) Répartition des titres des « IgG anti-rougeole » chez les deux groupes d'enfants

Dans la comparaison des sujets immunisés et non immunisés contre la rougeole pour les deux groupes d'enfants étudiés, nous avons considéré les enfants qui ont eu des titres indéterminés d'IgG anti-rougeole comme étant non immunisés.

Les résultats de répartition des titres des IgG anti-rougeole chez les deux groupes d'enfants de notre étude, sont montrés dans la figure 31.

A noter qu'une réponse vaccinale est estimée protectrice contre le virus de la rougeole, si le titre des IgG anti-rougeole est strictement supérieur à 304 UI/ml et elle est estimée non protectrice, si le titre de ces anticorps est strictement inférieur à 304 UI/ml.

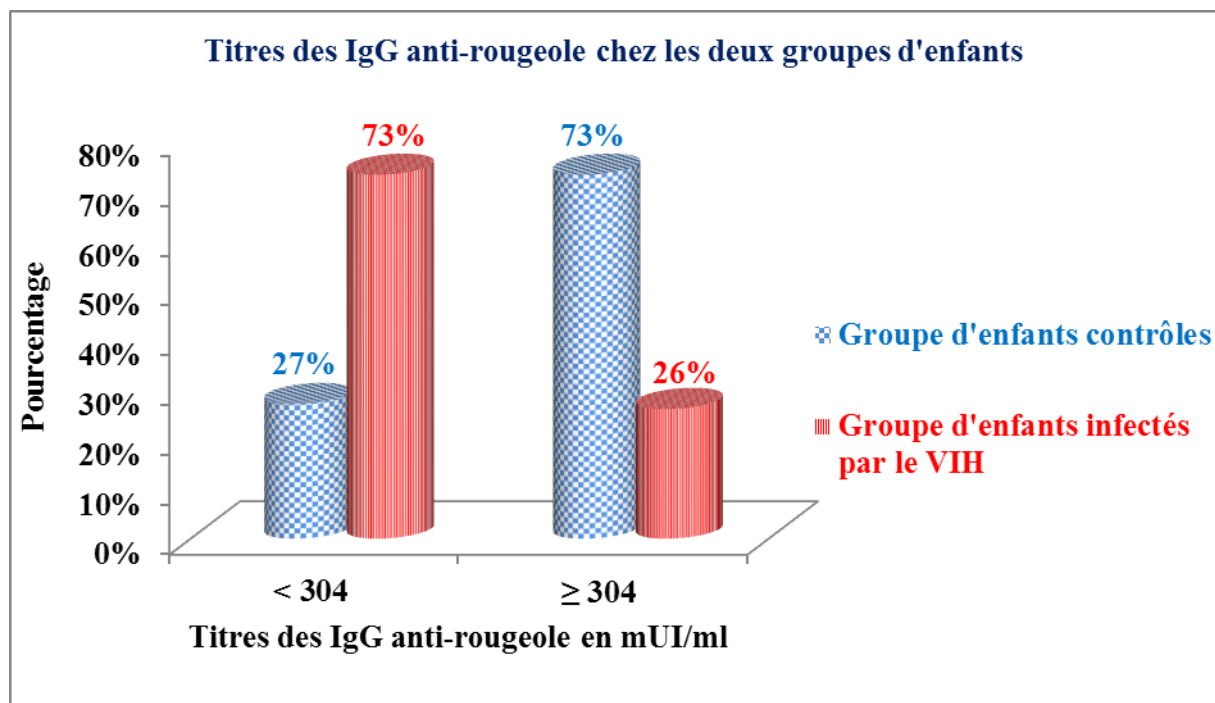


Figure 31 : Répartition des titres des IgG anti-rougeole chez les deux groupes d'enfants étudiés.

Les résultats montrent que 30% des enfants témoins, leur titre en IgG anti-rougeole est inférieur à 304 UI/ml en comparaison avec 71% des enfants infectés par le VIH. En outre, un



titre des IgG anti-rougeole supérieur à 304 UI/ml est révélé chez 70% des enfants témoins par rapport à 29% des enfants infectés par le VIH.

### **5) Réponse humorale au vaccin de la rougeole chez le groupe d'enfants infectés par le VIH**

Les résultats de la réponse humorale au vaccin de la rougeole chez les enfants infectés par le VIH en fonction des données démographiques, biologiques et thérapeutiques, sont montrés dans le tableau 13.

Tableau 15 : Séroprévalence des IgG anti-rougeole chez les enfants infectés par le VIH en fonction des données démographiques, biologiques et thérapeutiques.

<b>Variable</b>	<b>Enfants infectés séronégatifs pour les IgG anti-rougeole n=37</b>	<b>Enfants infectés séropositifs pour les IgG anti-rougeole n= 13</b>	<b>Valeur de P</b>
<b>Age (mois)</b>	50±31	55±47	0.729
<b>Sexe féminin</b>	62%	61.5%	> 0.9999
<b>% des lymphocytes T CD4</b>	<b>23</b>	<b>32</b>	<b>0.0005</b>
<b>% des lymphocytes T CD8</b>	<b>49.36</b>	<b>36.62</b>	<b>0.0004</b>
<b>% des lymphocytes B</b>	13.45	16.62	0.116
<b>% des lymphocytes NK</b>	5.5	3	0.992
<b>Traitement antirétroviral</b>	<b>62%</b>	<b>92%</b>	<b>0.0081</b>
<b>Charge virale du VIH (log)</b>	<b>2.91±2.24</b>	<b>1.07±1.5</b>	<b>0.043</b>

L'âge moyen des enfants infectés par le VIH, séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, est de 50 mois contre 55 mois pour les enfants infectés par le VIH séropositifs pour les IgG anti-rougeole, la différence n'est pas significative (P = 0.729). Le sexe féminin représente 62% des enfants infectés par le VIH séronégatifs pour les IgG anti-rougeole et 61.5% des enfants infectés par le VIH séropositifs pour les IgG anti-rougeole, la différence n'est pas significative (P > 0.9999). La moyenne du taux des lymphocytes T CD4 est de 23% chez les enfants infectés par le VIH, séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, et est de 32% chez les

enfants infectés par le VIH séropositifs pour les IgG anti-rougeole, la différence est significative ( $P = 0.0005$ ). D'autre part, les résultats montrent que 62% des enfants infectés par le VIH séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, sont sous traitement antirétroviral, alors que 92% des enfants infectés par le VIH séropositifs pour les IgG anti-rougeole, sont sous traitement antirétroviral, la différence est significative ( $P = 0.0081$ ). En outre, les résultats montrent que la charge virale est trois fois supérieure chez les enfants infectés par le VIH séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, à celle chez les enfants infectés par le VIH séropositifs pour les IgG anti-rougeole (2.91 log<sub>10</sub> contre 1.07 log<sub>10</sub> respectivement), la différence est significative ( $P = 0.043$ ).

Le taux moyen des lymphocytes T CD8 est de 36.62% chez les enfants séropositifs pour les IgG anti-rougeole et est de 49.36% chez les enfants séronégatifs pour ces IgG anti-rougeole, la différence est significative ( $P = 0.0004$ ). Concernant le taux moyen des lymphocytes B, les résultats montrent que ce taux est de 16.62% chez les enfants séropositifs pour les IgG anti-rougeole et est de 13.45% chez les enfants séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, la différence est non significative ( $P = 0.116$ ). Pour le taux moyen des lymphocytes NK, nos résultats révèlent que ce taux est de 3% chez les enfants séropositifs pour les IgG anti-rougeole et est de 5.5% chez les enfants séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, la différence n'est pas significative ( $P = 0.992$ ).

Nous avons étudié dans ce travail, l'immunisation des enfants infectés par le VIH qui sont vaccinés contre l'hépatite B et la rougeole. Il s'agit d'un travail réalisé au Maroc, qui explore pour la première fois le statut immunitaire des enfants infectés par le VIH vis-à-vis des vaccins contre l'hépatite B et la rougeole. Dans ce travail, nous avons comparé la réponse aux vaccins de l'hépatite B et de la rougeole, chez un groupe d'enfants infectés par le VIH, par rapport à un groupe d'enfants non infectés par le VIH (groupe contrôle).

L'évaluation de la réponse immune de cette catégorie d'enfants est d'une importance capitale pour notre pays. En effet, le Maroc enregistre chaque année des cas de rougeole et il est classé parmi les zones de faible endémie pour l'hépatite B (WHO-EMRO 2013, Sbai A et al 2007 et 2012). Bien que ces deux infections soient évitables par la vaccination, les individus immunodéprimés peuvent développer une immunité sous optimale après vaccination. En effet, les patients infectés par le VIH courent un grand risque d'être infectés par des infections qui sont évitables par la vaccination (Castello-Branco L.R.R et Ortigão-de-Sampaio M.B 1998). Notre étude a porté sur 2 groupes d'enfants vaccinés au Maroc, selon le Programme National d'Immunisation, domicilié à la direction de la population, au ministère de la santé. Un groupe infecté par le VIH et l'autre non infecté par le VIH, qui ont été recrutés à partir du service de pédiatrie, à l'Hôpital d'enfants, CHU Ibn Sina à Rabat.

Pour ce qui est du vaccin de l'hépatite B, il a été rapporté dans la littérature qu'il était très immunogène et induisait une réponse protectrice qui se traduit par des titres d'anticorps Anti-HBs au-dessus de 10 mUI/mL, dans 95% à 99% des cas (Hoofnagle J.H 2006). Dans notre étude portant sur l'évaluation de la réponse post-vaccinale contre le VHB, les résultats ont montré que dans le groupe contrôle, 76% des enfants avaient un titre d'anticorps Anti-HBs supérieur ou égal à 10 mUI/mL. Ces résultats prouvent que ces enfants sont protégés contre le VHB (Jack A.D et al 1999, Note de l'OMS 2009). Cependant, chez 24% des enfants du groupe contrôle, le taux en anticorps Anti-HBs est inférieur à 10 mUI/mL témoignant de l'absence de titre en anticorps immunisant. Ces résultats sont en concordance avec ceux d'autres études, dont notamment l'étude camerounaise, qui a rapporté que seuls 61% des enfants non infectés par le VIH, âgés entre 6 mois et 59 mois, ont une réponse post-vaccinale protectrice, contre le VHB (Njom Nlend A.E et al 2016). En outre, dans une étude réalisée au Ghana sur des enfants sains, âgés entre 1 an et 10 ans, la réponse post-vaccinale protectrice contre le VHB a été rapportée chez 67% des enfants (Samuel A Sakyi et al 2015). En effet, environ 4% à 10% des sujets immunocompétents et en bonne santé, ne parviennent pas à montrer des niveaux protecteurs d'anticorps Anti-HBs, après avoir terminé le calendrier vaccinal habituel, contre le VHB (Komatsu H 2014, Ertem D et al 2010, Leonardi M et al

2009). Nos résultats sont aussi comparables avec ceux d'une étude Iranienne, où il a été montré que 80% des enfants sains, âgés de 6 mois à 15 ans, avaient répondu de manière optimale au vaccin de l'hépatite B, contre 20% des enfants, non répondeurs (Reza Rezaee et al 2015). Dans une autre étude réalisée sur des enfants Italiens non infectés par le VIH, âgés de 5 ans à 10 ans, il a été montré que 82.6% des enfants avaient des titres des anticorps Anti-HBs protecteurs ( $\geq 10$  mUI/mL) contre 17.4% des enfants avec des titres non protecteurs de ces anticorps (Mele Alfonso et al 2001). Le phénotype spécifique de l'antigène des leucocytes humains (HLA) est considéré le marqueur génétique le plus important pour l'identification des non-répondeurs et les allèles HLA-B8, DR3 et DQ2 étaient présents dans le groupe des non-répondeurs (Ertem D et al 2010, Leonardi M et al 2009, Ahishali E et al 2008, Mc Combs C.C et Michalski J.P 1989). Dans notre étude, l'exploration de facteurs associés à l'absence de réponse vaccinale chez les sujets sains, n'a pas été effectuée.

En ce qui concerne le groupe d'enfants infectés par le VIH, notre étude a montré que seulement 29% des enfants avaient des titres protecteurs contre le VHB, en comparaison avec 76% des enfants du groupe contrôle, la différence est significative ( $P < 0.0001$ ). Nos résultats ont révélé aussi que, 71% des enfants infectés par le VIH, avaient une réponse non protectrice contre le VHB, en comparaison avec 24% des enfants du groupe contrôle, la différence est statistiquement significative ( $P < 0.0001$ ). De plus, le niveau géométrique moyen des Anti-HBs, est de 609.46 au sein du groupe d'enfants contrôles contre 142.53, au sein du groupe d'enfants infectés par le VIH. Ces résultats témoignent que la réponse vaccinale en termes d'anticorps Anti-HBs est très faible dans le groupe d'enfants infectés par le VIH. Par conséquent, ces enfants non immunisés restent susceptibles de contracter le VHB. Les résultats de notre étude sont comparables avec ceux de l'étude camerounaise précitée, où la réponse post-vaccinale protectrice contre le VHB a été développée chez seulement 20% des enfants infectés périnatalement par le VIH, contre 61% des enfants non infectés par le VIH (Njom Nlend A.E et al 2016). En outre, dans une étude réalisée sur des enfants infectés par le VIH, ayant reçu 3 doses ou plus du vaccin de l'hépatite B, il a été rapporté qu'une séropositivité en Anti-HBs a été révélée chez seulement 24% de ces enfants (Abzug M.J et al 2009). D'autres études portant sur l'évaluation de la réponse au vaccin de l'hépatite B chez les enfants infectés par le VIH, ont démontré que la réponse vaccinale protectrice varie entre 28% à 78% (Chandra J et al 2012, Moss W.J et al 2003, Arrazola M.P et al 1995, Rutstein R.M et al 1994, Diamant E.P et al 1993, Zuin G et al 1992).

Notre étude a révélé un titre des anticorps Anti-HBs  $> 100$  mUI/ml, chez 42% des enfants contrôles et chez seulement 4% des enfants infectés par le VIH. En outre, un titre des

anticorps Anti-HBs > 500 mUI/ml a été révélé chez 25% des enfants contrôles, contre une absence de ce titre chez les enfants infectés par le VIH. Bien que le titre des Anti-HBs > 10 mUI/ml soit considéré comme étant protecteur, un niveau  $\geq 100$  mUI/ml est important pour une protection durable (Sahana H.V et al 2017). En effet, des recommandations européennes préconisent ce titre (Anti-HBs  $\geq 100$  mUI/ml) pour les personnes infectées par le VIH, du fait que l'immunodépression favorise la chute des anticorps en fonction du temps (Haut Conseil de la Santé Publique Français 2016).

Il est à noter que nos résultats de recherche des AgHBs et des anticorps anti-HBc dans les échantillons des enfants non immunisés contre l'hépatite B, ont révélé l'absence des AgHBs et des anticorps anti-HBc, ce qui élimine toute infection chronique ou récente par le VHB chez ces enfants.

L'étude de la réponse post-vaccinale contre le VHB en fonction des taux des populations lymphocytaires, chez les deux groupes d'enfants, a révélé que la moyenne du taux des lymphocytes T CD4 était faible dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, en comparaison avec le groupe d'enfants contrôles, la différence est significative (respectivement 25.6% contre 34.9% et  $P < 0.0001$ ). Ces résultats prouvent que les enfants infectés par le VIH, de cette étude, étaient relativement immunodéprimés au moment de leurs prélèvements. En revanche, la moyenne du taux des lymphocytes T CD4 parmi les enfants infectés par le VIH qui n'ont pas un titre d'anticorps Anti-HBs protecteur contre le VHB, est faible par rapport à celle chez les enfants infectés par le VIH, la différence est statistiquement significative (respectivement 23.6% contre 30.4% et  $P = 0.008$ ). Ceci suggère que le système immunitaire est très affaibli chez ces enfants infectés par le VIH. En effet, la réplication du VIH détruit les cellules T CD4 qui ont un rôle central dans l'immunité, et en conséquence aboutit à une réponse humorale faible ou absente contre le vaccin de l'hépatite B (Beghin J.C et al 2017, Obaro S.K et al 2004). D'autre part, une corrélation entre une charge virale indétectable, un taux normal des cellules T CD4 et une réponse post-vaccinale optimale a été rapportée par plusieurs études (Rock C et al 2013, Ni J.D et al 2013, Irungu E et al 2013, Overton E.T et al 2005, Launay O et al 2011, Moss W.J et al 2003). En effet, le traitement antirétroviral inhibe la multiplication du VIH et permet une restauration du système immunitaire, qui à son tour induit le développement d'une réponse au vaccin de l'hépatite B (Mutwa P.R et al 2013, Lao-araya M et al 2007). Néanmoins, certains sujets peuvent avoir une restauration immunitaire limitée, malgré le traitement, ce qui impacte la réponse au vaccin de l'hépatite B (Whitaker J.A et al 2012, Pinzone M.R et al 2012). Dans le cas des enfants de notre étude, les résultats ont montré que 86% des enfants infectés par le VIH, qui ont répondu optimalement au vaccin

de l'hépatite B, étaient sous traitement antirétroviral contre 65% des enfants infectés par le VIH, qui n'avaient pas une réponse humorale protectrice, contre le VHB, mais la différence n'est pas significative ( $P = 0.185$ ). En outre, la charge virale du VIH est de 2.4 log chez les enfants infectés par le VIH, aussi bien chez ceux ayant un titre immunisant que ceux qui ne l'ont pas, la différence n'est pas significative ( $P = 0.5$ ). Ceci pourrait être dû à la taille de notre échantillon d'étude.

Les résultats de notre étude, démontrent aussi que la moyenne du taux des cellules B dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, était faible par rapport au groupe contrôle, la différence est significative (14.8% contre 20.7% avec  $P < 0.0001$ ). Ces résultats, sont comparables aux résultats d'une étude qui a rapporté que le taux médian des lymphocytes B circulants était de 14,2% chez les enfants infectés par le VIH-1, contre 19,8% chez les enfants contrôles ( $P < 0,001$ ) (Yonas Bekele et al 2015). Dans notre étude, le groupe d'enfants infectés par le VIH, témoigne de la même tendance de la moyenne du taux des lymphocytes B, entre les enfants ayant une réponse post-vaccinale protectrice et ceux qui n'en ont pas, cependant la différence n'est pas significative (16.7% contre 14% et  $P = 0.056$ ). Ceci pourrait être dû à la taille de notre échantillon. Par contre, dans le groupe d'enfants contrôles, la différence de la moyenne du taux des lymphocytes B est significative entre les enfants qui ont un titre protecteur des anticorps Anti-HBs et ceux qui n'en ont pas (21.6% contre 17.9% et  $P = 0.029$ ). En effet, après vaccination contre l'hépatite B, un taux bas des cellules B mémoire spécifiques de l'AgHBs, conjugué à une prolifération réduite des cellules B mémoire, seraient à l'origine d'une faible réponse humorale à la vaccination (Nishaki Mehta et al 2010).

Pour les cellules NK, nos résultats ont montré que la moyenne du taux de ces cellules était faible dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, en comparaison avec la moyenne du taux de ces cellules dans le groupe d'enfants contrôles (5.76% contre 9% avec  $P < 0.0001$ ). Dans le groupe d'enfants contrôles, la moyenne du taux des lymphocytes NK chez les enfants qui ont un titre protecteur des Anti-HBs et les enfants qui n'en ont pas, était respectivement de 9.1% contre 8.9% ( $P = 0.593$ ). Cependant, pour le groupe d'enfants infectés par le VIH, la moyenne du taux des lymphocytes NK chez les enfants qui ont un titre protecteur des Anti-HBs était de 4.3% contre 6.3% chez les enfants qui n'en ont pas ( $P = 0.983$ ). Dans une étude récente, il a été montré que les cellules NK étaient significativement ( $p \leq 0,003$ ) plus faibles dans les groupes d'enfants infectés par le VIH, que dans le groupe d'enfants contrôles (Bhukkar R et al 2019). Néanmoins, jusqu'à présent on ne connaît pas l'interaction des lymphocytes NK avec la réponse humorale (Farsakoglu Y et al 2019).

La faible réponse humorale au vaccin de l'hépatite B pourrait être due à l'échec de la primo-

vaccination à induire une immunité optimale contre le VHB, ou au déclin des anticorps Anti-HBs, au fil du temps (Sahana H.V et al 2017, I-Cheng Lu et al 2016). Cependant, une chute de ces anticorps à un niveau indétectable, ne signifie pas nécessairement une perte de la mémoire immunitaire spécifique au VHB, parce qu'elle peut être réactivée par l'administration d'une dose de rappel (Samia M et al 2016).

Concernant l'effet de l'âge sur la réponse post-vaccinale contre le VHB, chez les deux groupes d'enfants, les résultats de cette étude ont montré que dans le groupe contrôle, l'âge moyen des enfants qui n'avaient pas répondu optimalement au vaccin de l'hépatite B était de  $64 \pm 38$  mois, contre  $45 \pm 35$  mois, chez les enfants qui avaient répondu optimalement à ce vaccin, mais la différence n'est pas significative ( $P = 0.991$ ). Ces résultats sont comparables avec les résultats d'une étude qui a porté sur l'évaluation de la réponse sérologique au vaccin de l'hépatite B chez des enfants non infectés par le VIH, âgés de 2 ans à 10 ans, où cette réponse n'était pas associée à l'âge ( $P = 0.32$ ) (Walkiewicz-Jedrzejczak D et al 2014). Nos résultats, ont rapporté que dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, l'âge moyen des enfants qui ont une réponse non protectrice contre le VHB, était de  $59 \pm 36$  mois contre  $32 \pm 26$  mois, chez les enfants qui ont une réponse protectrice contre ce virus, mais la différence n'est pas significative ( $P = 0.998$ ). Ces résultats suggèrent que l'âge n'est pas associé à la réponse au vaccin de l'hépatite B chez les enfants infectés par le VIH de notre étude, et ceci pourrait être dû à la taille de notre échantillon d'étude, qui ne permet pas aussi de répartir les enfants en tranches d'âge pour analyser l'effet de l'âge sur l'immunisation. D'autre part, l'intervalle de l'âge est large, allant de 10 mois à 10 ans, ce qui limite les interprétations en fonction de l'âge. Des études ont rapporté que les anticorps Anti-HBs déclinaient avec l'âge (Pippi F et al 2008, Appay V et al 2007).

Concernant le sexe, les résultats de notre étude ont montré que le sexe féminin était prédominant dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, avec un sexe ratio de 1.7. En outre, le sexe féminin représente 69% des enfants qui ont une réponse non protectrice contre le VHB et 50% des enfants qui ont une réponse protectrice contre ce virus, mais la différence n'est pas significative ( $P = 0.223$ ). Dans le groupe d'enfants contrôles, nos résultats ont révélé que le sexe féminin représentait par 56% des enfants qui n'avaient pas une réponse protectrice, contre le VHB et par 37% des enfants qui avaient une réponse protectrice contre ce virus, la différence n'est pas significative ( $P = 0.080$ ). Une étude portant sur la séroconversion Anti-HBs chez des enfants ghanéens sains, âgés de 1 an à 10 ans, a révélé qu'il n'y avait pas une différence significative dans la séroconversion entre les garçons et les filles (Samuel A. Sakyi et al 2015).

Au Maroc, le vaccin de l'hépatite B est administré depuis 1999 à 2015 selon le schéma de 3 doses (0, 2, 3 mois) et depuis 2015, sous le schéma de 4 doses (0, 2, 3 et 4 mois). D'après les dossiers médicaux des enfants infectés par le VIH inclus dans notre étude, l'âge médian au démarrage du traitement était de 39.18 mois. Cela indique que le traitement antirétroviral chez ces enfants, a été initié tardivement par rapport à la vaccination de routine contre le VHB. Autrement dit, la vaccination contre le VHB a été administrée à ces enfants avant le démarrage du traitement antirétroviral, quand la réplication virale avait déjà endommagé le système immunitaire. Dans ce cas, les cellules T CD4 sont détruites, ce qui limite leur impact sur la stimulation de la réponse humorale médiée par les cellules B. Dans une étude récente, il a été montré que les enfants infectés par le VIH, qui n'étaient pas sous traitement antirétroviral lors de la primo-vaccination, présentaient des réponses mémoires plus faibles, tandis que les enfants non infectés exposés au VIH avaient de fortes réponses de mémoire (Simani O.E et al 2019). D'autres études ont rapporté qu'une meilleure réponse au vaccin de l'hépatite B, chez les enfants vivant avec le VIH/SIDA est possible dans un contexte d'une thérapie antirétrovirale, un taux des cellules T CD4 bien restauré et une réplication virale supprimée (Abzug M.J et al 2009, Overton E.T et al 2005, Soriano V et al 2005).

Il est à noter que notre étude pourrait présenter certaines limitations. Premièrement, la taille de l'échantillon des enfants infectés par le VIH, qui ne reflète pas la réalité de cette population, au Maroc. Deuxièmement, les enfants ayant un titre des anticorps Anti-HBs séroprotecteur n'ont pas été testés pour les anticorps HBc et par conséquent, le nombre d'enfants immunisés naturellement est inconnu. Troisièmement, au moment de la vaccination, le nombre de cellules T CD4 ainsi que la charge virale étaient inconnus.

S'agissant du vaccin antirougeoleux, ce dernier est connu pour induire chez les enfants immunocompétents une immunité protectrice de plus de 90% (Al-Mekaini L.A et al 2016, Markowitz L.E et al 1990). Il s'agit d'un vaccin vivant atténué qui est contre-indiqué chez les sujets très immunodéprimés (McLaughlin M et al 1988, CDC 1988).

Dans notre étude, l'évaluation de la réponse vaccinale contre la rougeole chez les enfants infectés par le VIH, a montré que dans le groupe d'enfants contrôles, 73.4% des enfants avaient un titre immunisant des IgG anti-rougeole. En outre, 12.5% n'avaient pas le titre immunisant et 14.1% présentaient un statut immunitaire indéterminé. Concernant le groupe d'enfants infectés par le VIH, nos résultats ont révélé que 26% des enfants étaient immunisés contre la rougeole, 58% des enfants n'en étaient pas, alors que 16% des enfants ont un statut indéterminé. La comparaison entre le groupe contrôle et le groupe d'enfants infectés par le VIH, dévoile une réponse protectrice au vaccin de la rougeole chez 73.4% des enfants



contrôles, contre seulement 26% des enfants infectés par le VIH, la différence est significative ( $P < 0.0001$ ). Il est à noter que les enfants infectés par le VIH, dont la réponse était indéterminée pour le vaccin de la rougeole, étaient considérés séronégatifs pour les IgG anti-rougeole dans notre étude. En conséquence, 74% du groupe d'enfants infectés par le VIH n'étaient pas immunisés contre la rougeole, malgré le fait qu'ils soient vaccinés. Ces enfants n'avaient pas pu développer une immunité protectrice contre le virus de la rougeole et donc constituent une population vulnérable et pourrait contracter le virus de la rougeole et éventuellement de le disséminer (Rainwater-Lovett K et al 2013). Cette faible réponse au vaccin de la rougeole chez les enfants vivant avec le VIH/SIDA, a été rapportée par d'autres études. Ainsi, dans une étude réalisée sur des patients infectés par le VIH, âgés de 5 ans à 18 ans, il a été démontré que 24.2% des sujets étaient séropositifs pour les IgG anti-rougeole, 63.6% étaient séronégatifs pour ces anticorps et 12.1% étaient équivoques (Anju S et al 2016). Dans une étude conduite sur des enfants zambiens infectés par le VIH, âgés de 9 mois à 10 ans, il a été rapporté que seulement 23% de ces enfants avaient des IgG anti-rougeole (Rainwater-Lovett K et al 2013). Une autre étude a révélé que des IgG anti-rougeole étaient positives chez uniquement 33% des enfants, alors que 58% des enfants n'avaient pas d'IgG anti-rougeole et que 9% des enfants avaient une réponse indéterminée (Farquhar C et al 2009).

Dans notre étude, il a été montré que le taux moyen des lymphocytes T CD4 était de 36% dans le groupe d'enfants contrôles contre 25 % dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, la différence est significative ( $P < 0.0001$ ). Ces résultats sont comparables aux résultats de l'étude zambienne précitée où le taux moyen des lymphocytes T CD4 était de 34% chez les enfants contrôles contre 10% chez les enfants infectés par le VIH, la différence est significative ( $P < 0.001$ ) (Rainwater-Lovett K et al 2013). D'autre part, dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, les résultats ont montré que le taux moyen des lymphocytes T CD4 était de 23% chez les enfants séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, alors que le taux de ces lymphocytes était de 32% chez les enfants séropositifs pour les IgG anti-rougeole, la différence est significative ( $P = 0.0005$ ). Ces résultats montrent que les enfants qui n'ont pas répondu au vaccin de la rougeole étaient immunodéprimés et la faible réponse humorale serait due au dysfonctionnement du système immunitaire. Ceci pourrait être expliqué aussi par la perte des IgG anti-rougeole, en dépit d'une réponse initiale au traitement antirétroviral (Farquhar C et al 2009, Aurpibul L et al 2007, Melvin A.J et Mohan K.M 2003). En effet, il a été rapporté que les IgG anti-rougeole diminuaient chez les enfants infectés par le VIH, voire même disparaissaient (Rainwater-Lovett K et al 2013). En outre, l'intervalle large de l'âge de

ces enfants (de 10 mois à 10 ans), pourrait également expliquer le déclin de ces anticorps (Sutcliffe C.G et al 2017, Bekker V et al 2006).

La suppression virale via le traitement antirétroviral, permet de restaurer les lymphocytes T CD4 et booster la réponse humorale anti-rougeole (Moir S et al 2008, Faye A et al 2004). Dans notre étude, les résultats ont montré que 62% des enfants infectés par le VIH, qui sont séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, étaient sous traitement antirétroviral contre 92% des enfants séropositifs pour les IgG anti-rougeole (la différence est statistiquement significative). Ceci est en adéquation avec le taux de la charge virale du VIH, qui était de  $2.91 \pm 2.24$  log chez les enfants séronégatifs pour les IgG anti-rougeole et de  $1.07 \pm 1.5$  log chez les enfants séropositifs pour les IgG anti-rougeole (la différence est significative). Par conséquent, la faible réponse au vaccin de la rougeole chez ces enfants infectés par le VIH, pourrait être due à une multiplication virale délétère pour le système immunitaire, en absence du traitement antirétroviral. En revanche, malgré le fait que 62% des enfants infectés par le VIH soient sous traitement antirétroviral, ils n'ont pas pu produire des IgG anti-rougeole et cela montre que la restauration du fonctionnement du système immunitaire était limitée, chez ces enfants. En effet, dans une étude réalisée sur des enfants immunisés avant l'initiation du traitement antirétroviral, il a été révélé que la moitié des enfants avaient des anticorps contre la rougeole et que ces anticorps déclinaient rapidement, indiquant ainsi des réponses vaccinales primaires altérées (Bekker V et al 2006). L'initiation du traitement antirétroviral pendant au moins 3 mois avant de recevoir les doses du vaccin de la rougeole et à un âge plus précoce, étaient des facteurs prédictifs importants et interdépendants de la séroprotection. Des études antérieures ont démontré que les réponses immunitaires aux vaccins chez les enfants vivant avec le VIH, étaient comparables aux réponses des enfants non infectés si le traitement antirétroviral précède la vaccination (Simani O.E et al 2014). Au Maroc, le vaccin de la rougeole est administré sous forme combinée à la rubéole (Rougeole-Rubéole) en monodose à l'âge de 9 mois et sous forme monovalente en une dose à l'âge de 18 mois. En se référant aux dossiers médicaux des enfants infectés par le VIH, recrutés dans notre étude, nous avons observé que la plupart de ces enfants ont démarré le traitement antirétroviral à l'âge médian de 39.18 mois. Cela prouve que le traitement antirétroviral a été initié tardivement par rapport à la vaccination antirougeoleuse, chez la plupart de ces enfants. En conséquence, la faible réponse de ces enfants au vaccin antirougeoleux, serait due à l'incapacité du système immunitaire à induire une réponse suffisante au moment de la vaccination, du fait qu'il était déjà affaibli par une forte charge virale, en absence du traitement antirétroviral. En effet, l'initiation précoce de la thérapie antirétrovirale est un meilleur prédicteur de la persistance de la séroprotection

vaccinale chez les enfants infectés par le VIH (Cagigi A et al 2012, Moir S et al 2010). En 2015, l'OMS a recommandé que toute personne infectée par le VIH doit commencer le traitement antirétroviral le plus tôt possible après le diagnostic, quel que soit le niveau des T CD4. Ces données renforcent donc le concept selon lequel la thérapie antirétrovirale est nécessaire pour bloquer la réplication virale et en conséquence favorise la restauration immunitaire, un préalable pour reconstituer de manière fiable et durable, l'immunité induite par le vaccin.

Nos résultats, ont montré que dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, le taux moyen des lymphocytes T CD8 était de 37% chez les enfants séropositifs pour les IgG anti-rougeole et était de 49% chez les enfants séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, la différence est significative ( $P = 0.0004$ ). Les lymphocytes T CD8 jouent un rôle important dans la cytotoxicité des cellules infectées. Néanmoins, au cours de l'infection par le VIH et suite à la maturation du virus, il y a une activation continue des lymphocytes T CD8 qui se traduit par une prolifération importante de ces cellules, sans pourtant pouvoir bloquer la réplication virale (Roberts E.R et al 2016, Demers K.R et al 2016).

Concernant le taux moyen des lymphocytes B, les résultats de notre étude ont révélé que dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, ce taux était de 16.62% chez les enfants séropositifs pour les IgG anti-rougeole et était de 13.45% chez les enfants séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, la différence n'est pas significative ( $P = 0.116$ ). Contrairement à notre étude sur la vaccination contre le VHB, où la différence était significative, ces résultats différents, pourraient être dus à la taille de notre échantillon étudié. En effet, la faible réponse pourrait être due à la destruction des lymphocytes T CD4 nécessaires pour aider les cellules B à produire des anticorps et à se différencier en cellules B mémoire (Obaro S.K et al 2004). Des études ont rapporté une immunité humorale défailante chez les enfants sous traitement antirétroviral, associée à une restauration fonctionnelle lente des cellules B mémoire et une durée de vie plus courte des plasmocytes (Moir S et al 2009, Moir S et al 2008).

Pour le taux moyen des lymphocytes NK, nos résultats ont révélé que ce taux était de 3% chez les enfants séropositifs pour les IgG anti-rougeole et était de 5.5% chez les enfants séronégatifs pour les IgG anti-rougeole, la différence n'est pas significative ( $P = 0.992$ ). Ces résultats pourraient être dus à la taille de notre échantillon d'étude.

Concernant l'âge des enfants étudiés, les résultats de notre étude ont montré que l'âge moyen dans le groupe d'enfants contrôles était de 51 mois, contre 54 mois dans le groupe d'enfants infectés par le VIH, la différence n'est pas significative. En outre, l'âge moyen dans le groupe d'enfants infectés par le VIH séronégatifs pour les IgG anti-rougeole était de  $50 \pm 31$  mois,

contre  $55 \pm 47$  mois, dans le groupe d'enfants infectés par le VIH séropositifs pour les IgG anti-rougeole, la différence n'est pas significative ( $P = 0.729$ ). Ces résultats montrent que l'âge n'est pas associé à la réponse au vaccin de la rougeole, chez les enfants et ceci pourrait être dû d'une part à la taille de notre échantillon d'étude et d'autre part à l'intervalle d'âge large, allant de 10 mois à 10 ans, puisque les anticorps anti-rougeole ont tendance à diminuer avec l'âge chez les enfants infectés par le VIH (Rainwater-Lovett K et al 2013).

L'analyse de la répartition du sexe féminin dans cette étude, a révélé que ce dernier représentait 41% des enfants du groupe contrôle et 65% des enfants du groupe infecté par le VIH, la différence est significative ( $P = 0.03$ ). Nos résultats ont montré aussi que le sexe féminin représentait 62% des enfants infectés par le VIH séronégatifs pour les IgG anti-rougeole et 61% des enfants infectés par le VIH séropositifs pour les IgG anti-rougeole, cependant la différence n'est pas significative ( $P > 0.9999$ ).

La protection des enfants infectés par le VIH contre la rougeole est liée à l'âge optimal de la vaccination, à l'innocuité du vaccin chez l'enfant de moins de 12 mois et à un calendrier vaccinal offrant une protection plus longue. Les études réalisées sur des enfants infectés par le VIH âgés entre 6 et 12 mois, suggèrent une tendance vers une réponse contre la rougeole, plus appropriée en comparaison avec les enfants qui ont reçu une première dose du vaccin après l'âge de 12 mois (Arpadi S.M et al 1996, Rudy B.J et al 1994). Un déficit des réponses lymphoprolifératives et humorales peut se produire suite à la déplétion des lymphocytes T CD4. D'où l'intérêt d'une vaccination précoce chez les enfants infectés par le VIH (Borkowsky W et al 1992). La première dose du vaccin de la rougeole à l'âge de 6 mois, chez des enfants infectés par le VIH, est bien tolérée et immunogène, en raison d'un système immunitaire relativement intact, ce qui favorise le développement d'une réponse optimale et plus durable, que lorsque cette dose est administrée à 12 mois (Sulachni Chandwani et al 2011).

Les enfants de notre étude dont le statut sérologique était équivoque pour les IgG anti-rougeole (14% des enfants contrôles et 16% des enfants infectés par le VIH), leur réponse sérologique est considérée négative et nécessitent ainsi une revaccination contre le virus de la rougeole pour acquérir un titre immunisant contre ce virus. Par ailleurs, 12% des enfants contrôles n'ont pas répondu au vaccin antirougeoleux et ceci pourrait être dû à l'échec de la première dose du vaccin à induire une immunité vaccinale optimale ou à des déterminants liés aux sujets, tels que les alloantigènes HLA et les polymorphismes des gènes de cytokines immunorégulatrices (Gregory A et al 2008). En général, lorsque les enfants non immunisés suite à la première dose du vaccin, sont revaccinés, environ 90% développent une immunité

humorale protectrice (Abzug M.J et al 2012). En outre, une trithérapie antirétrovirale efficace avant la vaccination est un prédicteur d'une immunité antirougeoleuse optimale (Gregory A et al 2008). D'autre part, une méta-analyse a indiqué que la revaccination après la reconstitution immunitaire par la thérapie antirétrovirale, peut générer des réponses immunitaires durables contre la rougeole (Sutcliffe C.G et Moss WJ 2010). En effet, le meilleur résultat d'immunisation contre la rougeole nécessite une revaccination de ces enfants, une fois la répllication virale est supprimée et l'immunité est restaurée, par le traitement antirétroviral (Newman L.P et al 2017, WHO 2017, Farquhar C et al 2009). Dans ce contexte, des directives internationales ont recommandé la revaccination des enfants infectés par le VIH contre la rougeole, une fois le système immunitaire est reconstitué, après traitement antirétroviral (WHO 2017, SAGE 2015, Rubin L.G et al 2014, Menson E.N et 2012).

L'évaluation des résultats de la réponse au vaccin de la rougeole, durant cette étude, présentait des limitations. Premièrement, le nombre des cellules T CD4 et la charge virale au moment de la vaccination, n'étaient pas connus. Deuxièmement, les anticorps dirigés contre la rougeole mesurés dans cette étude, par le test immunoenzymatique, étaient supposés être déclenchés par la réponse vaccinale, mais ils pourraient résulter du virus sauvage. Néanmoins, aucune épidémie de rougeole n'a été signalée pendant la période de l'étude.

A travers cette étude, il s'avère que les enfants infectés par le VIH développent une réponse humorale faible aux vaccins de l'hépatite B et de la rougeole. L'état d'immunodépression de ces enfants rend compte cette réponse. En effet, les enfants sont traités tardivement, du fait qu'ils sont diagnostiqués tardivement. Dans ce cadre, le renforcement du dépistage du VIH ainsi que le programme d'élimination de la transmission mère-enfant du VIH, pourrait parer à cette situation. D'autre part, la stratégie « tester et traiter » permet aussi de préserver l'immunité des enfants infectés par le VIH.

## Conclusion et perspectives

---

La prise en charge des enfants infectés par le VIH nécessite une vaccination optimale de ces enfants contre toutes les infections recommandées par les programmes de vaccination. En effet, suite à des études qui ont montré que les enfants infectés par le VIH ne répondent pas optimalement aux vaccins, l'OMS recommande une vaccination efficace de tous ces enfants. Cependant, l'administration de tous les vaccins vivants atténués, sauf pour le BCG qui est contre indiqué quels que soit le taux des T CD4, est conditionnée par les seuils des lymphocytes T CD4. Ainsi, ces vaccins sont contre indiqués en cas de taux des T CD4 :

< 25% pour l'enfant âgé de moins de 12 mois.

< 20% pour l'enfant âgé entre 12 et 35 mois.

< 15% pour l'enfant âgé entre 36 et 59 mois.

< 200/mm<sup>3</sup> pour l'enfant âgé de plus de 5 ans et l'adulte.

Dans ce cadre, l'objectif principal de notre étude c'était d'évaluer la réponse post-vaccinale d'un groupe d'enfants infectés par le VIH contre le vaccin de l'hépatite B et la rougeole, au Maroc. Ainsi, pour ce faire nous avons procédé à : comparer la portion des enfants immunisés contre les deux infections entre le groupe infecté par le VIH et un groupe contrôle, déterminer les facteurs associés à une immunisation faible des enfants vaccinés contre les deux virus et à proposer des mesures pour optimiser l'immunisation des enfants infectés par le VIH.

A partir des résultats de notre travail, nous avons montré que :

- Plus de 70% des enfants infectés par le VIH, n'avaient pas développé une réponse post-vaccinale protectrice contre le VHB.
- 74% des enfants infectés par le VIH, n'avaient pas répondu au vaccin de la rougeole.
- Le diagnostic tardif et par conséquent le traitement antirétroviral initié tardivement par rapport à la vaccination de routine contre l'hépatite B et la rougeole, pourraient être à l'origine de cette faible réponse post-vaccinale.

Ainsi, nous pouvons conclure que les enfants infectés par le VIH recrutés dans cette étude, ne présentent pas une réponse humorale optimale aux vaccins de l'hépatite B et de la rougeole. En effet, ces enfants ne développent pas des titres protecteurs d'anticorps contre le VHB et le virus de la rougeole et par conséquent demeurent susceptibles à contracter ces virus et être coinfectés, et donc subir des complications sérieuses.

Cependant, notre étude avait des limitations à savoir : le taux des lymphocytes T CD4 et la charge virale qui n'étaient pas mesurés au moment de la vaccination des enfants infectés par le VIH contre l'hépatite B et la rougeole.

## Conclusion et perspectives

---

En conclusion, les enfants infectés par le VIH, qui n'ont pas développé une réponse sérologique post-vaccinale protectrice contre l'hépatite B et la rougeole, doivent être :

- Revaccinés contre le virus de l'hépatite B et contre la rougeole.
- Suivis régulièrement pour évaluer leurs réponses suite à la revaccination, afin de s'assurer d'une immunisation durable contre l'hépatite B et la rougeole.

Compte tenu des recommandations universelles, sur la vaccination contre le VHB et la rougeole chez des enfants infectés par le VIH, nous proposons les mesures suivantes :

Pour une immunisation optimale contre le virus de l'hépatite B :

- Les nourrissons doivent recevoir leur première dose de vaccin contre le VHB à la naissance, sinon dans les 24 heures qui suivent l'accouchement.
- Les enfants infectés par le VIH, doivent recevoir sans retard 4 doses du vaccin de l'hépatite B selon le schéma 0, 1, 2, 3 mois.
- Les enfants infectés par le VIH, doivent recevoir la trithérapie le plutôt possible.
- Les enfants infectés par le VIH qui ont raté une dose du vaccin contre le VHB ou qui ont interrompu cette vaccination, doivent être revaccinés en suivant le schéma de 4 doses administrées avec un intervalle d'au moins un mois. Les titres des Anti-HBs doivent être dosés 1 à 2 mois après la dernière injection pour évaluer la séroprotection chez ces enfants et administrer des doses supplémentaires en cas d'une réponse sous-optimale ou absence de réponse à la revaccination.

Pour les enfants vivant avec le VIH au Maroc, le schéma vaccinal recommandé par le PNI est : M0+M1+M2+M3, et nous recommandons de tester la réponse vaccinal, 1 mois après la dernière dose administrée, pour évaluer leurs titres en Anti-HBs qui doivent être  $\geq 100$  mUI/ml et administrer des doses supplémentaires si le titre des Anti-HBs  $< 100$  mUI/ml ou de les revaccinés, si le titre de ces anticorps sont  $< 10$  mUI/ml.

Concernant les adultes infectés par le VIH, les directives internationales recommandent la vaccination de toutes les personnes séropositives susceptibles de contracter l'hépatite B selon la série standard de trois doses administrées sur une période de 6 mois.

Pour une immunisation optimale contre le virus de la rougeole :

- Le vaccin antirougeoleux est administré plus tard que certains autres vaccins infantiles, car les anticorps transférés de la mère au bébé peuvent offrir une certaine protection contre la maladie et rendre ce vaccin moins efficace jusqu'à environ 1 an.
- Puisqu'il s'agit d'un vaccin vivant atténué, la vaccination des enfants infectés par le VIH contre le virus de la rougeole, doit prendre en considération l'état

## Conclusion et perspectives

---

d'immunodépression de ces enfants et en tenant compte de leurs âges. Ainsi, il est contre-indiqué de vacciner ces enfants en cas de taux des lymphocytes T CD4 précités.

- En absence d'immunosuppression sévère, 2 doses doivent être administrées aux enfants infectés par le VIH selon le schéma de 9 mois et de 12 mois.
- Lorsque la vaccination antirougeoleuse a été retardée ou non effectuée, il est recommandé d'administrer 2 doses espacées d'au moins un mois.
- La réponse au vaccin antirougeoleux, doit être aussi évaluée par la quantification des IgG anti-rougeole, 4 semaines après la dernière dose administrée, pour prévoir une dose supplémentaire en cas d'absence de réponse humorale optimale.

Pour les enfants vivant avec le VIH au Maroc, le schéma vaccinal recommandé par le PNI est M9+M18, alors que nous recommandons pour ces enfants de faire un suivi des IgG anti-rougeole, 4 semaines après la dernière dose administrée, pour prévoir une dose supplémentaire en cas d'absence de réponse humorale optimale.

Le vaccin vivant atténué contre le virus de la rougeole est recommandé pour les enfants, les adolescents et les jeunes adultes atteints du VIH, afin de prévenir la morbidité et la mortalité imputables à la rougeole.

Dans ce travail, nous avons étudié uniquement la réponse vaccinale des enfants infectés par le VIH contre le VHB et de la rougeole, et nous avons montré que la plupart des enfants (plus de 70%), ne sont pas immunisés contre les deux virus de ces infections et nécessitent une revaccination, ainsi qu'un suivi de leurs titres en anticorps Anti-HBs et en IgG anti-rougeole, après la dernière vaccination. Néanmoins, les enfants infectés par le VIH pourraient être aussi susceptibles à des coinfections prévenables par la vaccination (méningocoque, diphtérie, poliomyélite, pneumocoque...), s'ils ne sont pas immunisés contre ces infections. Jusqu'à présent, il n'y a pas d'études qui explorent l'immunisation des enfants infectés par le VIH suite à la vaccination, au Maroc. Dans ce contexte, d'autres études doivent être entreprises afin d'évaluer la réponse de ces enfants aux autres vaccins du calendrier national de vaccination. De telles données sont nécessaires pour le Programme National d'Immunisation et le Programme National de Lutte contre le SIDA, pour adopter une stratégie à même d'optimiser la vaccination des enfants infectés par le VIH, dans notre pays.



## Références bibliographiques

---

- Abzug MJ, Qin M, Levin MJ, Fenton T, Beeler JA, Bellini WJ, Audet S, Sowers SB, Borkowsky W, Nachman SA, Pelton SI, Rosenblatt HM. Immunogenicity, immunologic memory, and safety following measles revaccination in. *J Infect Dis.* 2012; 206:512–522.
- Abzug MJ, Warshaw M, Rosenblatt HM, Levin MJ, Nachman SA, Pelton SI, Borkowsky W, Fenton T. International Maternal Pediatric Adolescent AIDS Clinical Trials Group P1024 and P1061s. Protocol Teams Immunogenicity and immunologic memory after hepatitis B virus booster vaccination in HIV-infected children receiving highly active antiretroviral therapy. *J Infect Dis.* 2009; 200:935–46.
- Ahishali E, Boztas G, Akyuz F, Ibrisim D, Poturoglu S, Pinarbasi B, Ozdil S, Mungan Z. Response to hepatitis B vaccination in patients with celiac disease. *Dig Dis Sci* 2008; 53(8): 2156–2159.
- Alfonso Mele, Francesco Tancredi, Luisa Romano, Anna Giuseppone, Mario Colucci, Aldo Sangiuolo, Rosina Lecce, Brunella Adamo, Maria Elena Tosti, Gloria Taliani, and Alessandro R. Zanetti. Effectiveness of Hepatitis B Vaccination in Babies Born to Hepatitis B Surface Antigen–Positive Mothers in Italy. *JID* 2001;184
- Allison C. Galassie et Andrew J. Link, Proteomic contributions to our understanding of vaccine and immune responses, *Proteomics Clin Appl.* 2015 December ; 9(0): 972–989.
- Al-Mekaini LA, Kamal SM, Al-Jabri O, Soliman M, Alshamsi H, Narchi H, Souid AK, Alsuwaidi AR. Seroprevalence of vaccine-preventable diseases among young children in the United Arab Emirates. *Int J Infect Dis.* 2016; 50:67–71.
- Alter MJ. Epidemiology of viral hepatitis and HIV co-infection. *J Hepatol.* 2006; 44(1 Suppl):S6-9.
- Andre FE, Booy R, Bock HL, Clemens J, Datta SK, John TJ, Lee BW, Lolekha S, Peltola H, Ruff TA, Santosham M, and Schmittk HJ. Vaccination greatly reduces disease, disability, death and inequity worldwide. *Bull World Health Organ.* 2008; 86:140–146.
- Angel JB, Walpita P, Lerch RA, Sidhu MS, Masurekar M, DeLellis RA, Noble JT, Snyderman DR, Udem SA. Vaccine-associated measles pneumonitis in an adult with AIDS. *Ann Intern Med.* 1998; 129:104–6.
- Anju Seth; Deepa Sudha; Dutta, Renu; Chandra, Jagdish. Evaluation of Immune Response to Measles Component of MMR Vaccine in Children with HIV Infection Receiving Antiretroviral Therapy. *The Pediatric Infectious Disease Journal: January 2016 - Volume 35 - Issue 1 - p e8–e11.*
- Anselem O, Tsatsaris V, Lopez E, Krivine A, Le Ray C, Loulergue P, Floret D, Goffinet F, Launay O. Measles and pregnancy. *Presse Med.* 2011 Nov; 40(11):1001-7.

## Références bibliographiques

---

- Appay V, Almeida JR, Sauce D, Autran B, Papagno L. Accelerated immune senescence and HIV-1 infection. *ExpGerontol.* 2007; 42:432-7.
- Arpadi SM, Markowitz LE, Baughman AL, Shah K, Adam H, Wiznia A, Lambert G, Dobroszycki J, Heath JL, Bellini WJ. Measles antibody in vaccinated human immunodeficiency virus type 1-infected children. *Pediatrics.* 1996; 97:653–7.
- Arrazola MP, de Juanes JR, Ramos JT, Aragon AJ, deCodes AG. Hepatitis B vaccination in infants of mothers infected with human immunodeficiency virus. *J Med Virol.* 1995; 45:339–341.
- Aurbul L, Puthanakit T, Sirisanthana T, Sirisanthana V. Response to measles, mumps, and rubella revaccination in HIV-infected children with immune recovery after highly active antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis* 2007; 45:637–642.
- Ayalew J, Moges H, Worku A. Identifying factors related to the survival of AIDS patients under the follow-up of Antiretroviral Therapy (ART): the case of South Wollo. *International Journal of Data Envelopment Analysis and Operations Research.* 2014; 1(2):21–27.
- Azzoni L, Rutstein RM, Chehimi J, Farabaugh MA, Nowmos A, Montaner LJ. Dendritic and natural killer cell subsets associated with stable or declining CD4+ cell counts in treated HIV-1-infected children. *J Infect Dis.* 2005; 191:1451–1459.
- Bajjou Tahar , Hicham Elannaz, Mohamed Rida Tagajdid, Hicham Elghafouli, Abdelilah Laraoui, Rachid Abi, Farida Elhilali, Mimoune Zouhdi, Idriss Lahlou, Yassine Sekhsoukh, Saad Mrani. Occult hepatitis B virus infection in Moroccan HIV infected patients. *International Journal of Research in Medical Sciences.* 2015 Mar; 3(3):617-621
- Barnard DL. Inhibitors of measles virus. *Antivir Chem Chemother* 2004; 15:111–9.
- Beckford AP, Kaschula ROC, Stephen C. Factors associated with fatal cases of measles: A retrospective autopsy study. *S Afri Med J.* 1985; 68:858–863.
- Beghin J-C, Ruelle J, Sokal E, Bachy A, Krishna M, Hall L, Goubau P, Van der Linden D. Effectiveness of the South African expanded program of immunization against hepatitis B in children infected with human immunodeficiency virus-1 living in a resource-limited setting of Kwazulu-Natal. *J Med Virol.* 2017; 89:182–5.
- Bekker V, Scherpbier H, Pajkr D, Jurriaans S, Zaaijer H, Kuijpers TW. Persistent humoral immune defect in highly active antiretroviral therapy-treated children with HIV-1 infection: loss of specific antibodies against attenuated vaccine strains and natural viral infection. *Pediatrics.* 2006; 118:e315-322.

## Références bibliographiques

---

- Bellini WJ, Rota JS, Lowe LE, Katz RS, Dyken PR, Zaki SR, Shieh WJ, Rota PA. Subacute sclerosing panencephalitis: more cases of this fatal disease are prevented by measles immunization than was previously recognized. *J Infect Dis.* 2005; 192:1686–1693.
- Bessesen M, Ives D, Condreay L, Lawrence S, Sherman KE. Chronic active hepatitis B exacerbations in human immunodeficiency virus-infected patients following development of resistance to or withdrawal of lamivudine. *Clin Infect Dis.* 1999; 28:1032–1035.
- Beverley PC. Vaccine immunity. *Immunol Today* 1997, 18: 413-415
- Beyrer C, Baral SD, van Griensven F, Goodreau SM, Chariyalertsak S, Wirtz AL, Brookmeyer R. Global epidemiology of HIV infection in men who have sex with men. *Lancet.* 2012 Jul 28; 380 (9839):367-77.
- Bhatti Adnan Bashir, Muhammad Usman, Venkataramana Kandi. Current Scenario of HIV/AIDS, Treatment Options and Major Challenges withn Compliance to Antiretroviral Therapy. *Cureus.* 2016 Mar; 8(3): e515.
- Bhavik Dalal, Aruna Shankarkumar and K. Ghosh. Individualization of antiretroviral therapy - Pharmacogenomic aspect. *Indian J Med Res.* 2015 Dec; 142(6): 663–674.
- Bhukkar R, Sachdeva RK, Suri D, Shandilya J, Rawat A, Saikia B, Singh S. Reduced Natural Killer Cell Subsets in Perinatally Acquired Long-Term Non-Progressor Human Immunodeficiency Virus-Infected Children. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2019 Feb 27. doi: 10.1089/AID.2018.0243.
- Blanche S, Newell ML, Mayaux MJ, Dunn DT, Teglas JP, Rouzioux C, Peckham CS. Morbidity and mortality in European children vertically infected by HIV-1. The French Pediatric HIV Infection Study Group and European Collaborative Study. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol.* 1997 Apr 15; 14(5):442-50.
- Bloom Bet Zinkernagel R. Immunity to infection. *CUIT Opinlmmunol* (1996), 8: 465-466.
- Blumberg B. S and Riddell N. M. *J. clin Invest:* 42, 867 (1963).
- Bobat R, Moodley D, Coutsooudis A, Coovadia H. Breastfeeding by HIV-1-infected women and outcome in their infants: a cohort study from Durban, South Africa. *AIDS.* 1997 Nov; 11(13):1627-33.
- Bonacini M, Hadi G, Govindarajan S, Lindsay KL. Utility of a discriminant score for diagnosing advanced fibrosis or cirrhosis in patients with chronic hepatitis C virus infection. *Am J Gastroenterol.* 1997; 92:1302–1304.
- Borkowsky W, Rigaud M, Krasinski K, Moore T, Lawrence R, Pollack H. Cell-mediated and humoral immune responses in children infected with human immunodeficiency virus during the first four years of life. *J Pediatr.* 1992; 120:371–5.

## Références bibliographiques

---

- Boulougoura A, Sereti I. *HIV infection and immune activation: the role of co-infections.* *Curr Opin HIV AIDS.* 2016 Mar; 11(2):191-200.
- *British HIV association guidelines on the use of vaccines in HIV-positive adults 2015.* <http://www.bhiva.org/documents/Guidelines/Immunisation/consultation/BHIVA-Immunisation-Guidelines-2015-Consultation.pdf>. Accessed 30 Mar 2017.
- Buchbinder SP, Katz MH, Hessol NA, O'Malley PM, Holmberg SD. *Long-term HIV-1 infection without immunologic progression.* *AIDS.* 1994 Aug; 8(8):1123-8.
- Burnett RJ, Francois G, Kew MC, Leroux-Roels G, Meheus A, Hoosen AA, M. J. Mphahlele. (2005) *Hepatitis B virus and human immunodeficiency virus co-infection in sub-Saharan Africa: a call for further investigation.* *Liver Int* 25: 201–213.
- Burns, D. N. and L. M. Mofenson (1999). "Paediatric HIV-1 infection." *Lancet* 354 Suppl 2: S11-6.
- *Cahiers de l'ordre national des pharmaciens. Comment améliorer la couverture vaccinale ?* [Internet]. [cité 14 janv 2019]. Disponible sur: <http://www.ordre.pharmacien.fr>
- Cagigi Alberto, Nicola Cotugno, Carlo Giaquinto, Luciana Nicolosi, Stefania Bernardi, Paolo rossi, iyadh Douagiand Paolo Palma. *Immune reconstitution and vaccination outcome in HIV-1 infected children, Present knowledge and future directions.* *Human vaccines & immunotherapeutics* 8:12, 1784–1794; December 2012; © 2012 Landes Bioscience.
- Capolunghi Federic, Manuela Rosado, Matilde Sinibaldi, Alaitz Aranburu, Rita Carsetti. *Why do we need IgM memory B cells?* *Immunology Letters.* Volume 152, Issue 2, May 2013, Pages 114-120.
- Casey RM, Dumolard L, Danovaro-Holliday MC, Gacic-Dobo M, Diallo MS, Hampton LM, Wallace AS. *Global Routine Vaccination Coverage, 2015.* *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2016; 65(45):1270–3.
- Castello-Branco LRR and MB Ortigão-de-Sampaio. *Immunization of Persons with HIV Infection and other Secondary Immunodeficiencies.* *Mem. Inst. Oswaldo Cruz* vol. 93 no. 3 Rio de Janeiro May/June 1998.
- Cattaneo R, Schmid A, Rebmann G, Baczko K, ter Meulen V, Bellini WJ, Rozenblatt S, Billeter MA. *Accumulated measles virus mutations in a case of subacute sclerosing panencephalitis. Interrupted matrix protein reading frame and transcription alteration.* *Virology.* 1986; 154:97–109.
- CDC. 1981a. *Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men New York City and California.* *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 30: 305–308.

## Références bibliographiques

---

- CDC. *Immunization of children infected with human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus*. *MMWR* 1986; 35 :595-606.
- Centers for Disease Control and Prevention. *Hepatitis A vaccination coverage among children aged 24–35 months –United States, 2004–2005*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2007; 56: 678–681.
- Centers for Disease Control and Prevention. *Prevention of hepatitis A through active or passive immunization: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)*. *MMWR Recomm Rep* 2006; 55: 1–23.
- Centers for Disease Control and Prevention. *Use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine for adults with immunocompromising conditions: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP)*. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 2012; 61:816–819.
- Centers for Disease Control. 1981. b. *Kaposi's sarcoma and Pneumocystis pneumonia among homosexual men—New York City and California*. *Mopbid. Mortal. Weekly Rep.* 30:305–308.
- Centers for Disease Control. 1982. a. *Persistent, generalized lymphadenopathy among homosexual males*. *Morbidity. Mortal. Weekly Rep.* 31:249–252.
- Centers for Disease Control. 1982. b. *Update on acquired immune deficiency syndrome (AIDS)—United States*. *Morbidity. Mortal. Weekly Rep.* 31:507–514.
- Centers for Disease Control. 1984. *Hepatitis B vaccine: Evidence confirming lack of AIDS transmission*. *Morbidity. Mortal. Weekly Rep.* 33:685–687.
- Centers for Disease Control. 1985. *Revision of the case definition of acquired immunodeficiency syndrome for national reporting United States*. *Morbidity. Mortal. Weekly Rep.* 34:373–376.
- Centers for Disease Control. 1986 a. *Apparent transmission of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus from a child to a mother providing health care*. *Morbidity. Mortal. Weekly Rep.* 35:76–79.
- Centers for Disease Control. 1986. b. *Recommendations for assisting in the prevention of perinatal transmission of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy associated virus and the acquired immunodeficiency syndrome*. *Morbidity. Mortal. Weekly Rep.* 34:721–726, 731–732.
- Centers for Disease Control. 1986. c. *Acquired Immunodeficiency Syndrome Weekly Surveillance Report, September 9, 1986*. Atlanta, Ga.: Centers for Disease Control.

## Références bibliographiques

---

- *Centers for Disease Control. Measles in HIV-1 infected children, United States. MMWR 1988; 37:183–6.*
- *Chandra J, Yadav D. Immunization of HIV infected children. Indian J Pediatr.2012; 79:1634-41.*
- *Chang JJ, Altfeld M. TLR-mediated immune activation in HIV. Blood. 2009;113:269–70.*
- *Chang JJ, Lewin SR. Immunopathogenesis of hepatitis B virus infection. Immunol Cell Biol. 2007; 85:16–23.*
- *Chemin I, Zoulim F 2009. Hepatitis B virus induced hepatocellular carcinoma. Cancer Lett 286: 52–59.*
- *Chevret S, Costagliola D, Lefrere J J, and Valleron A J. A new approach to estimating AIDS incubation times: results in homosexual infected men.J Epidemiol Community Health. 1992 Dec; 46(6): 582–586.*
- *Chintu C, Bhat GJ, Walker AS, Mulenga V, Sinyinza F, Lishimpi K, Farrelly L, Kaganson N, Zumla A, Gillespie SH, Nunn AJ, Gibb DM; CHAP trial team. Co-trimoxazole as prophylaxis against opportunistic infections in HIV-infected Zambian children (CHAP): a double-blind randomised placebo-controlled trial. Lancet. 2004 Nov 20-26; 364(9448):1865-71.*
- *Chiu SS, Lau YL. Update on perinatally acquired human immunodeficiency virus infection in children followed at one centre in Hong Kong. Hong Kong J Paediatr. 2006; 11:215–22.*
- *Chouquet, C., S. Richardson, M Burgard, S Blanche, M J Mayaux, C Rouzioux, D Costagliola. (1999). "Timing of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) transmission from mother to child: bayesian estimation using a mixture." Stat Med 18(7): 815-33.*
- *Christina C Chang, Megan Crane, Jing Ling Zhou, Michael Mina, Jeffrey J Post, Barbara A Cameron, Andrew R Lloyd, Anthony Jaworowski, Martyn A French, Sharon R Lewin. HIV and co-infections. Immunol Rev. 2013 July ; 254(1): 114–142.*
- *Chun, T.W. and A.S. Fauci, Latent reservoirs of HIV: obstacles to the eradication of virus. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. 96(20): p. 10958-61.*
- *Clements CJ, Cutts FT. The epidemiology of measles: thirty years of vaccination. Curr Top Microbiol Immunol 1995; 191:13-33.*
- *Clemmons NS, Gastanaduy PA, Fiebelkorn AP, Redd SB, Wallace GS; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Measles - United States, January 4-April 2, 2015. MMWR Morb Mortal Wkly Rep. 2015 Apr 17; 64(14):373-6.*

## Références bibliographiques

---

- Clerici M, Stocks N.I, Zajac R.A, Boswell R.N, Lucey D.R, Via C.S, Shearer G.M. Detection of three distinct patterns of T helper cell dysfunction in an asymptomatic, human immunodeficiency virus-seropositive patients: independence of CD4+ cell numbers and clinical staging. *J. Clin. Invest.* 1989; 84:1892–1899.
- Cohen BJ, Audet S, Andrews N, Beeler J; WHO working group on measles plaque reduction neutralization test. Plaque reduction neutralization test for measles antibodies: description of a standardised laboratory method for use in immunogenicity studies of aerosol vaccination. *Vaccine* 2007; 26:59–66.
- Colin JF, Cazals-Hatem D, Loriot MA, Martinot-Peignoux M, Pham BN, Auperin A, Degott C, Benhamou JP, Erlinger S, Valla D, Marcellin P. Influence of human immunodeficiency virus infection on chronic hepatitis B in homosexual men. *Hepatology.* 1999Apr; 29(4):1306-10.
- Cooper DA, Gold J, Maclean P, Donovan B, Finlayson R, Barnes TG, Michelmore HM, Brooke P, Penny R. Acute AIDS retrovirus infection. Definition of a clinical illness associated with seroconversion. *Lancet.* 1985 Mar 9; 1(8428):537–540.
- Costantini A, Marinelli K, Biagioni G, Monachetti A, Ferreri ML, Butini L, Montroni M, Manzin A & Patrizia Bagnarelli . Molecular analysis of hepatitis B virus (HBV) in an HIV co-infected patient with reactivation of occult HBV infection following discontinuation of lamivudine-including antiretroviral therapy. *BMC Infect Dis.* 2011;11:310.
- Cutts FT, Mandala K, St Louis M, Brown C, Mayala B, Zell ER, Deforest A, Kamenga M, Davachi F, Markowitz LE. Immunogenicity of high-titer Edmonston-Zagreb measles vaccine in human immunodeficiency virus-infected children in Kinshasa, Zaire. *J Infect Dis.* 1993 Jun; 167(6):1418-21.
- Daar ES, Moudgil T, Meyer RD, Ho DD. Transient high levels of viremia in patients with primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *N Engl J Med.* 1991 Apr 4;324(14):961-4.
- Dabbagh Alya; Rebecca L. Laws; Claudia Steulet; Laure Dumolard; Mick N. Mulders; Katrina Kretsinger; James P. Alexander; Paul A. Rota; James L. Goodson. Progress Toward Regional Measles Elimination — Worldwide, 2000–2017. *Morbidity and Mortality Weekly Report.* US Department of Health and Human Services/Centers for Disease Control and Prevention. *MMWR / November 30, 2018 / Vol. 67 / No. 47*
- Dandri M, Locarnini S. New insight in the pathobiology of hepatitis B virus infection. *Gut.* 2012; 61(suppl 1):i6–i17.

## Références bibliographiques

---

- Davidkin I, Jokinen S, Broman M, Leinikki P, Peltola H. Persistence of measles, mumps, and rubella antibodies in an MMR-vaccinated cohort: a 20-year follow-up. *J Infect Dis.* 2008 Apr 1;197(7):950-6.
- De Swart R. L, S. Yüksel, A.D. Osterhaus. Relative contributions of measles virus hemagglutinin- and fusion protein-specific serum antibodies to virus neutralization *J. Virol.*, 79 (2005), pp. 11547-11551.
- Delpeut S, Noyce RS, Siu RW, Richardson CD. *Curr Opin Virol.* 2012 Dec; 2(6):773-83. Host factors and measles virus replication.
- Demers KR, Makedonas G, Buggert M, Eller MA, Ratcliffe SJ, Goonetilleke N, Chris K. Li, Eller LA, Rono K, Maganga L, Nitayaphan S, Kibuuka H, Routy JP, Slifka MK, Haynes BF, McMichael AJ, Bernard NF, Robb ML, Betts MR. Temporal dynamics of CD8+ T cell effector responses during primary HIV infection. *PLoS Pathog.* (2016).
- Diamant EP, Schetchter C, Hodes DS, Peters VB. Immunogenicity of hepatitis B vaccine in human immunodeficiency virus-infected children. *Pediatr Infect Dis J.* 1993; 12:877-8.
- Diaz T, Nuñez JC, Rullan JV, Markowitz LE, Barker ND, Horan J. Risk factors associated with severe measles in Puerto Rico. *Pediatr Infect Dis J* 1992.
- Dunn D. Short-term risk of disease progression in HIV-1-infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis. *Lancet.* 2003; 362:1605–1611.
- Dunn D; HIV Paediatric Prognostic Markers Collaborative Study Group. Short-term risk of disease progression in HIV-1-infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis. *Lancet.* 2003 Nov 15;362 (9396):1605-11.
- Edejer TT, Aikins M, Black R, Wolfson L, Hutubessy R, Evans DB. Cost effectiveness analysis of strategies for child health in developing countries. *British Medical Journal,* 2005, 331:1177.
- Elharti E, Elaouad R, Amzazi S, Himmich H, Elhachimi Z, Apetrei C, Gluckman J C, Simon F, Benjouad A. HIV-1 diversity in Morocco. *Aids* 1997; 11:1781–3.
- El-Serag HB. Epidemiology of viral hepatitis and hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology.* 2012 May;142 (6):1264-1273.e1.
- Enders JF, McCarthy K, Mitus A, Cheatham WJ. Isolation of measles virus at autopsy in cases of giant cell pneumonia without rash. *N Engl J Med.* 1959; 261:875–881.
- Ertem D, Gonen I, Tanidir C, Ugras M, Yildiz A, Pehlivanoglu E, Eksioglu-Demiralp E. The response to hepatitis B vaccine: does it differ in celiac disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2010; 22: 787–793.



## Références bibliographiques

---

- *European collaborator study. Level and pattern of HIV-1-RNA viral load over age: differences between girls and boys? AIDS.* 2002; 16:97–104.
- *Farci P, Niro GA. Clinical features of hepatitis D. Semin Liver Dis.* 2012 Aug;32(3):228-36. Epub 2012 Aug 29.
- *Farquhar C, Wamalwa D, Selig S, John-Stewart G, Mabuka J, Majiwa M, Sutton W, Haigwood N, Wariua G, Lohman-Payne B. Immune responses to measles and tetanus vaccines among Kenyan human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-infected children pre- and post-highly active antiretroviral therapy and revaccination. Pediatr Infect Dis J.* 2009; 28:295–299.
- *Farsakoglu Y, Palomino-Segura M, Latino I, Zanaga S, Chatziandreou N, Pizzagalli DU, Rinaldi A, Bolis M, Sallusto F, Stein JV, Gonzalez SF. Influenza Vaccination Induces NK-Cell-Mediated Type-II IFN Response that Regulates Humoral Immunity in an IL-6-Dependent Manner. Cell Rep.* 2019 Feb 26; 26(9):2307-2315.
- *Fauci AS, Pantaleo G, Stanley S, Weissman D. Immunopathogenic mechanisms of HIV infection. Ann Intern Med.* 1996 Apr 1; 124 (7):654-63.
- *Faye A, Le Chenadec J, Dollfus C, Thuret I, Douard D, Firtion G, Lachassinne E, Levine M, Nicolas J, Monpoux F, Tricoire J, Rouzioux C, Tardieu M, Mayaux MJ, Blanche SP, for the French Perinatal Study Group.; French Perinatal Study Group. Early versus deferred antiretroviral multidrug therapy in infants infected with HIV type 1. Clin Infect Dis* 2004; 39:1692-8.
- *Fernandes SJ, Shlessarenko N, Souto FJ. Effects of vertical HIV infection on the persistence of Anti-HBs after a schedule of three doses of recombinant hepatitis B vaccine. Vaccine.* 2008; 26:1032–7.
- *Fiedler JL and Chuko T. The cost of Child Health Days: a case study of Ethiopia's Enhanced Outreach Strategy (EOS). Health Policy and Planning,* 2008, 23:222–233.
- *Fleuridor R, Wilson B, Hou R, Landay Alan, Kessler H and Al-Harthi L. CD1d-restricted natural killer T cells are potent targets for human immunodeficiency virus infection. Immunology.* 2003; 108:3–9.
- *Freeman JM, Magoffin RL, Lennette EH, Herndon RM. Additional evidence of the relation between subacute inclusion-body encephalitis and measles virus. Lancet.* 1967;2:129–131.
- *Garenne M. Sex differences in measles mortality: a world review. Int J Epidemiol.* 1994; 23:632–642.

## Références bibliographiques

---

- Gershon A. *Measles virus (rubeola)*. In: Mandell, Douglas, and Bennet's *Principles and Practice of Infectious Diseases (7th Edition)*. Mandell GL, Bennet JE, Dolin R (Eds). Churchill Livingstone, PA, USA, 2229–2236 (2010).
- Grais RF, Dubray C, Gerstl S, Guthmann J P, Djibo A, Nargaye K D, Coker J, Alberti K P, Cochet A, Ihekweazu C, Nathan N, Payne L, Porten K, Sauvageot D, Schimmer B, Fermon F, Burny M E, Hersh B S, Guerin P J. *Unacceptably high mortality related to measles epidemics in Niger, Nigeria and Chad*. *PLoS Med.* 2007; 4:122–129.
- Grancher N, Venard V, Kedzierewicz F, Ammerlaan W, Finance C, Muller CP, Le Faou A. *Improved antiviral activity in vitro of ribavirin against measles virus after complexation with cyclodextrins*. *Antiviral Research* [01 Jun 2004, 62(3):135-137.
- Greenwood B. *The contribution of vaccination to global health: past, present and future*. *PhilosTrans.*2014; 369:20130433.
- Gregory A Poland and Robert M Jacobson. *The Re-Emergence of Measles in Developed Countries: Time to Develop the Next-Generation Measles Vaccines?* *Vaccine.* 2012 Jan 5; 30(2): 103–104.
- Gregory A. Poland, Inna G. Ovsyannikova, and Robert M. Jacobson. *Vaccine Immunogenetics: Bedside to Bench to Population*. *accine.* 2008 November 18; 26(49): 6183–6188.
- Griffin DE. *Measles virus-induced suppression of immune responses*. *Immunol Rev.* 2010; 236:176–189.
- Griffin, D.E. and Pan, C.H. *Measles: Old vaccines, new vaccines*. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2009, 330, 191–212.
- *Guide de la vaccination au Maroc 2008 ; ministère de la santé P11.*
- *Guide des vaccinations 2012. Direction générale de la santé. Comité technique des vaccinations.inpes.santepubliquefrance.fr*
- Gururangan S, Stevens RF, Morris DJ. *Ribavirin response in measles pneumonia*. *J Infect.* 1990 May; 20(3):219-21.
- Hadler SC, Judson FN, O'Malley PM, Altman N L, Penley K, Buchbinder S, Schable C A, Coleman P J, Ostrow D N, Francis D P. *Outcome of hepatitis B virus infection in homosexual men and its relation to prior human immunodeficiency virus infection*. *J Infect Dis.* 1991; 163:454–459.
- Hamborsky J, Kroger A, Wolfe S. *Centers for Disease Control and Prevention, editor. Epidemiology and Prevention of Vaccine-Preventable Diseases. 13th ed. Washington, DC: Public Health Foundation; 2015. 209–29.*

## Références bibliographiques

---

- Haralambieva IH, Ovsyannikova IG, Pankratz VS, Kennedy RB, Jacobson RM, Poland GA. *The genetic basis for interindividual immune response variation to measles vaccine: new understanding and new vaccine approaches. Expert Rev Vaccines. 2013 Jan; 12(1):57-70.*
- Harris JB, Gacic-Dobo M, Eggers R, Brown DW, Sodha SV, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Global routine vaccination coverage, 2013. MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep. 2014; 63(46):1055–8.*
- Haut Conseil de la santé publique. *Guide pour l'immunisation en post-exposition Vaccination et immunoglobulines. Rapport 19 février 2016.*
- Haut Conseil de la santé publique. *Vaccination des personnes immunodéprimées ou aspléniques Recommandations. Rapport. 2e édition - Décembre 2014.*
- Healy Sara A, Sonia Gupta and Ann J Melvin. *HIV/HBV co-infection in children and antiviral therapy. Expert Rev Anti Infect Ther. 2013 Mar; 11(3): 251–263.*
- Ho D.D, Neumann A U, Perelson A S, Chen W, Leonard J M, Markowitz M. *Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. Nature, 1995.373(6510): p. 123-6.*
- Hoffmann CJ, Seaberg EC, Young S, Witt MD, D'Acunto K, Phair J, Thio CL. *Hepatitis B and long-term HIV outcomes in coinfecting HAART recipients. AIDS. 2009 Sep 10; 23 (14):1881-9. doi: 10.1097/QAD.0b013e32832e463a.*
- Hogan MC, Foreman KJ, Naghavi M, Ahn SY, Wang M, Makela SM, Lopez AD, Lozano R, Murray CJL. *Maternal mortality for 181 countries, 1980-2008: a systematic analysis of progress towards Millennium Development Goal 5. Lancet. 2010; 375 (9726):1609–23.*
- I-Cheng Lu, Mei-Chu Yen Jean, Chi-Wei Lin, Wei-Hung Chen, Daw-Shyong Perng, Chih-Wen Lin, and Hung-Yi Chuang. *Predictive factors for Anti-HBs status after 1 booster dose of hepatitis B vaccine. Medicine (Baltimore). 2016 Sep; 95(39): e5023.*
- Imdad A, Mayo-Wilson E, Herzer K, Bhutta ZA. *Vitamin A supplementation for preventing morbidity and mortality in children from six months to five years of age. Cochrane Database Syst Rev 2017.*
- Inoue T, Tanaka Y. *Hepatitis B virus and its sexually transmitted infection – an update. Microb Cell. 2016; 3:420-37.*
- Ioannidis JP, Tatsioni A, Abrams EJ, Bulterys M, Coombs RW, Goedert JJ, Korber BT, Mayaux MJ, Mofenson LM, Moye Jr J, Newell ML, Shapiro DE, Teglas JP, Thompson B, Wiener J. *Maternal viral load and rate of disease progression among vertically HIV-1 infected children: an international meta-analysis. AIDS. 2004; 18: 99-108.*

## Références bibliographiques

---

- *Irungu E, Mugo N, Ngure K, Njuguna R, Celum C, Farquhar C, Dhanireddy S, Baeten JM. Immune response to hepatitis B virus vaccination among HIV-1 infected and uninfected adults in Kenya. J Infect Dis [Internet] 2013; 207:402-10.*
- *Iser DM, Avihingsanon A, Wisedopas N, Thompson AJ, Boyd A, Matthews GV, Locarnini SA, Slavin J, Desmond PV, Lewin SR. Increased intrahepatic apoptosis but reduced immune activation in HIV-HBV co-infected patients with advanced immunosuppression. AIDS. Jan 2011; 25(2): 197-205.*
- *Jack AD, Hall AJ, Maine N, Mendy M, Whittle HC. What level of hepatitis B antibody is protective? Journal of Infectious Diseases, 1999,179:489–492.*
- *Jacob G. Ginglen; Michael Q. Doyle. Immunization. 2017, StatPearls Publishing LLC. Bookshelf ID: NBK459331 PMID: 29083718.*
- *Jay H. Hoofnagle. Hepatitis B — Preventable and Now Treatable. N Engl J Med 2006; 354:1074-1076.*
- *Jeena PM, Pillay P, Pillay T, Coovadia HM. Impact of HIV-1 co-infection on presentation and hospital-related mortality in children with culture proven pulmonary tuberculosis in Durban, South Africa. Int J Tuberc Lung Dis. 2002 Aug;6(8):672-8.*
- *Jeulin H, Grancher N, Kedzierewicz F, Finance C, Le Faou AE, Venard V. In vivo antiviral activity of ribavirin/alpha-cyclodextrin complex: evaluation on experimental measles virus encephalitis in mice. Int J Pharm. 2008 Jun 5; 357(1-2):148-53.*
- *Joanna Mikulak, Ferdinando Oriolo, Elisa Zaghi, Clara Di Vito, and Domenico Mavilio. Natural Killer cells in HIV-1 infection and therapy. AIDS. 2017 Nov 13; 31(17): 2317–2330.*
- *Kà Daye , Noël Magloire Manga, Ndéye Fatou Ngom-Guéye, Diop Ndiaga, Moustapha Diop, Viviane Marie Pierre Cisse-Diallo, Khardiata Diallo-Mbaye, Ndèye Aissatou Lakhe, Louise fortès-Déguenonvo, Cheikh Tidiane Ndour, Sylvie Audrey Diop-Nyafouna, et Moussa Seydi. Factors associated with immunovirologic dissociation in HIV-1-infected patients under highly active antiretroviral therapy in the Ambulatory Treatment Center (ATC) in Dakar. Pan Afr Med J. 2017 May 8; 27:16.*
- *Karch Christopher P and Peter Burkhard. Vaccine Technologies: From Whole Organisms to Rationally Designed Protein Assemblies. Biochemical Pharmacology. 2016 November 15; 120: 1–14.*
- *Koblin B, Taylor P, Rubinstein P, Stevens C. Effect of duration of hepatitis B virus infection on the association between human immunodeficiency virus type-1 and hepatitis B viral replication. Hepatology. 1992; 15:590–592.*

## Références bibliographiques

---

- Komatsu H. *Hepatitis B virus: where do we stand and what is the next step for eradication.* *World J Gastroenterol* 2014; 20(27): 8998–9016.
- Koplik H. *The diagnosis of the invasion of measles from a study of the exanthema as it appears on the buccal mucous membrane.* *Arch Pediatr* 1896; 13:918-22.
- Koup RA, Safrit JT, Cao Y, Andrews CA, McLeod G, Borkowsky W, Farthing C, Ho DD. *Temporal association of cellular immune responses with the initial control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 syndrome.* *J Virol.* 1994 Jul; 68 (7):46505.
- Kourtis AP, Bulterys M, Nesheim SR, Lee FK. *Understanding the timing of HIV transmission from mother to infant.* *Jama.* 2001 Feb 14; 285 (6):709–12.
- Krasinski K, Borkowsky W. *Measles and measles immunity in children with human immunodeficiency virus.* *JAMA* 1989; 261:2512–6.
- Lallemand M, Jourdain G, Le Coeur S, Mary JY, Ngo-Giang-Huong N, Koetsawang S, Kanshana S, McIntosh K, Thaineua V; *Perinatal HIV Prevention Trial (Thailand) Investigators.* *Single-dose perinatal nevirapine plus standard zidovudine to prevent mother-to-child transmission of HIV-1 in Thailand.* *N Engl J Med.* 2004 Jul 15; 351(3):217-28. Epub 2004 Jul 9.
- Lao-araya M, Puthanakit T, Aupibul L, Sirisanthana T, Sirisanthana V. *Antibody response to hepatitis B re-vaccination in HIV-infected children with immune recovery on highly active antiretroviral therapy.* *Vaccine.* 2007; 25:5324–9.
- Launay O, van der Vliet D, Rosenberg AR, Michel M-L, Piroth L, Rey D, Colin de Verdiere N, Slama L, Martin K, Lortholary O, Carrat F. *Safety and immunogenicity of 4 intramuscular double doses and 4 intradermal low doses vs standard hepatitis B vaccine regimen in adults with HIV-1: a randomized controlled trial.* *JAMA.* 2011; 305(14):1-9;
- Laure Stella Ghoma Linguissi,<sup>1,2</sup> Tani Sagna,<sup>3,4</sup> Serge Théophile Soubeiga,<sup>1,4</sup> Luc Christian Gwom,<sup>5</sup> Céline Nguéfeu Nkenfou,<sup>6,5</sup> Dorcas Obiri-Yeboah,<sup>7</sup> Abdoul Karim Ouattara,<sup>1,4</sup> Virginio Pietra,<sup>4</sup> and Jacques Simpore. *Prevention of mother-to-child transmission (PMTCT) of HIV: a review of the achievements and challenges in Burkina-Faso.* *HIV AIDS (Auckl).* 2019; 11: 165–177.
- Laurence JC. *Hepatitis A and B immunizations of individuals infected with human immunodeficiency virus.* *Am J Med.* 2005; 118(Suppl 10A):75S–83S.
- Le Roux DM, le Roux SM, Nuttall JJ, Eley BS. *South African measles outbreak 2009 - 2010 as experienced by a paediatric hospital.* *S Afr Med J.* 2012 Aug 22;102 (9):760-4.
- Lehman DA and Farquhar C. *Biological mechanisms of vertical human immunodeficiency virus (HIV-1) transmission.* *Rev Med Virol.* 2007 Nov-Dec;17 (6):381-403.

## Références bibliographiques

---

- *Leonardi M, Spina L, Spicuzza L, Rotolo N, La Rosa M. Hepatitis B vaccination failure in celiac disease: is there a need to reassess current immunization strategies? Vaccine 2009; 27(43): 6030–6033.*
- *Liaw Y. F, Chu C. M. Hepatitis B virus infection. Lancet. 2009; 373:582–592.*
- *Lin CL and Kao JH. The clinical implications of hepatitis B virus genotype: Recent advances. J Gastroenterol Hepatol. 2011 Jan; 26 Suppl 1:123-30.*
- *Lindsay B. Nicholson, The immune system Cellular and Molecular Medicine, Essays in Biochemistry (2016) 60 275–301.*
- *Lohman BL, Slyker JA, Richardson BA, Farquhar C, Mabuka JM, Crudder C, Dong T, Obimbo E, Mbori-Ngacha D, Overbaugh J, Rowland-Jones S, John-Stewart G. Longitudinal assessment of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-specific gamma interferon responses during the first year of life in HIV-1-infected infants. J Virol. 2005; 79:8121–8130.*
- *Lozano R, Naghavi M, Foreman K et al (2012). Global and Regional Mortality from 235 Causes of Death for 20 Age Groups in 1990 and 2010: A Systematic Analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. Lancet, 380, 2095-2128.*
- *Luzuriaga K, McManus M, Catalina M, Mayack S, Sharkey M, Stevenson M, Sullivan J L. Early therapy of vertical human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) infection: control of viral replication and absence of persistent HIV-1-specific immune responses. J Virol. 2000; 74:6984–6991.*
- *Markowitz LE, Sepulveda J, Diaz-Ortega JL, Valdespino JL, Albrecht P, Elizabeth RZ, Stewart J, Zarate ML, Bernier RH. Immunization of six-month-old infants with different doses of Edmonston-Zagreb and Schwarz measles vaccines. N Engl J Med. 1990; 322:580-587.*
- *Maruyama T, McLachlan A, Iino S, Koike K, Kurokawa K, Milich DR. The serology of chronic hepatitis B infection revisited. J Clin Invest. 1993; 91:2586–2595.*
- *Mayaphi SH, Roussow TM, Masemola DP, Olorunju SA, Mphahlele MJ, Martin DJ. HBV/HIV co-infection: the dynamics of HBV in South African patients with AIDS. S Afr Med J. 2012; 102:157–162.*
- *Mayaux MJ, Burgard M, Teglas JP, Cottalorda J, Krivine A, Simon F, Puel J, Tamalet C, Dormont D, Masquelier B, Doussin A, Rouzioux C, Blanche S. Neonatal characteristics in rapidly progressive perinatally acquired HIV-1 disease. The French Pediatric HIV Infection Study Group. JAMA. 1996 Feb 28; 275(8):606-10.*

## Références bibliographiques

---

- Mbori-Ngacha D, Nduati R, John G, Reilly M, Richardson B, Mwatha A, Ndinya-Achola J, Bwayo J, Kreiss J. Morbidity and mortality in breastfed and formula-fed infants of HIV-1-infected women. *JAMA* 2001; 286:2413–2420.
- McAleer WJ, Buynak EB, Maigetter RZ, Wampler DE, Miller WJ, Hilleman MR. Human hepatitis B vaccine from recombinant yeast. *Nature*. 1984; 307:178–180.
- McCombs CC and Michalski JP. HLA and immune response. *JAMA* 1989; 262(6): 774.
- McIntosh K, Shevitz A, Zaknun D, Kornegay J, Chatis P, Karthas N, Burchett S K. Age- and time-related changes in extracellular viral load in children vertically infected by human immunodeficiency virus. *Ped Infect Dis J*. 1996; 15:1087–1091.
- McIntyre J. Strategies to prevent mother-to-child transmission of HIV. *Curr Opin Infect Dis*. 2006 Feb; 19(1):33-8.
- McLaughlin M, Thomas P, Onorato I, Rubinstein A, Oleske J, Nicholas S, Krasinski K, Guigli P, Orenstein W. Live virus vaccines in human immunodeficiency virus-infected children: a retrospective survey. *Pediatrics*. 1988; 82:229–33.
- McMahon BJ, Alward WL, Hall DB, Heyward WL, Bender TR, Francis DP, Maynard JE. Acute hepatitis B virus infection: relation of age to the clinical expression of disease and subsequent development of the carrier state. *J Infect Dis*. 1985 Apr; 151(4):599-603.
- Measles, World Health Organization Fact sheet N°286. Retrieved June 28, 2012; Updated February 2014
- Melvin AJ, Mohan KM. Response to immunization with measles, tetanus, and *Haemophilus influenzae* type b vaccines in children who have human immunodeficiency virus type 1 infection and are treated with highly active antiretroviral therapy. *Pediatrics*. 2003 Jun; 111 (6 Pt 1):e641-4.
- Menson EN, MJ Mellado, A Bamford, G Castelli, D Duiculescu, M Marczyńska, ML Navarro, HJ Scherpbier and PT Heath on behalf of the Paediatric European Network for Treatment of AIDS (PENTA) Vaccines Group, PENTA Steering Committee and Children's HIV Association (CHIVA). Guidance on vaccination of HIV-infected children in Europe. *HIV Medicine* (2012), 13, 333–336.
- Migliani René. L'épidémiologie de la rougeole dans le monde en avril 2019. <https://www.mesvaccins.net/web/news/13735-l-epidemiologie-de-la-rougeole-dans-le-monde-en-avril-2019>.
- Milich D and Liang TJ. Exploring the biological basis of hepatitis B e antigen in hepatitis B virus infection. *Hepatology*. 2003;38:1075–1086.

## Références bibliographiques

---

- Miller C. *Live measles vaccine: a 21 year follow up.* *BrMed J (Clin Res Ed)* 1987; 295:22-4; PMID : 3113599.
- Ministère de la santé Marocaine. *Rapport national 2014 : mise en œuvre de la déclaration politique sur le VIH/SIDA.* [files.unaids.org/http://www.unaids.org/fr](http://www.unaids.org/fr/files.unaids.org/http://www.unaids.org/fr)
- Moeness M. Al-Shishtawy. *Children and Human Immunodeficiency Virus Infection Opportunities and challenges.* *Sultan Qaboos Univ Med J.* 2014 Nov; 14(4): e428–e431.
- Mofenson LM, Oleske J, Serchuck L, Van Dyke R, Wilfert C. *Treating opportunistic infections among HIV-exposed and infected children: Recommendations from CDC, the National Institutes of Health, and the Infectious Diseases Society of America.* *Clin Infect Dis.* 2005; 40:S1–84.
- MoH-Morocco *Système de surveillance de la rougeole phase d'élimination-Manuel de procédures* 2009.
- MoH-Morocco/WHO. *Politique de santé de l'enfant au Maroc : Analyse de situation.* 2005. Available:[http://applications.emro.who.int/dsaf/libcat/EMRDOC\\_6\\_FR.pdf](http://applications.emro.who.int/dsaf/libcat/EMRDOC_6_FR.pdf)
- Moir S, Buckner CM, Ho J, Wang W, Chen J, Waldner AJ, Posada JG, Kardava L, O'Shea MA, Kottlil S, Chun TW, Proschan MA, Fauci AS. *B cells in early and chronic HIV infection: evidence for preservation of immune function associated with early initiation of antiretroviral therapy.* *Blood* 2010; 116:5571-9.
- Moir S, Fauci AS. *B cells in HIV infection and disease.* *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 235–45.
- Moir S, Malaspina A, Ho J, Wang W, Dipoto AC, O'Shea MA, Roby G, Mican JM, Kottlil S, Chun TW, Proschan MA, Fauci AS. *Normalization of B cell counts and subpopulations after antiretroviral therapy in chronic HIV disease.* *J Infect Dis* 2008; 197:572-9.
- Morens DM, Holmes EC, Davis AS, Taubenberger JK. *Global Rinderpest eradication: lessons learned and why humans should celebrate too.* *J Infect Dis.* 2011; 204:502–505.
- Morlat Philippe. *Prise en charge médicale des Personnes vivant avec le vih, recommandations du groupe d'experts, rapport 2013 sous la direction du Pr Morlat Philippe et sous l'égide du cns et de l'anrs.*
- Moss WJ and Griffin DE. *Global measles elimination.* *Nat Rev Microbiol* 2006 Dec; 4(12):900-8.
- Moss WJ, Clements CJ, Halsey NA. *Immunization of children at risk of infection with human immunodeficiency virus.* *Bull WHO* 2003; 81:61-70.
- Moss WJ, Scott S, Mugala N, Ndhlovu Z, Beeler JA, Audet SA, Ngala M, Mwangala S, Nkonga-Mwangilwa C, Ryon JJ, Monze M, Kasolo F, Quinn TC, Cousens S, Griffin



## Références bibliographiques

---

- DE, Cutts FT. Immunogenicity of standard-titer measles vaccine in HIV-1-infected and uninfected Zambian children: an observational study. *J Infect Dis.* 2007; 196:347–355.
- Moss WJ, Fisher C, Scott S, Monze M, Ryon JJ, Quinn TC, Griffin DE, Cutts FT. HIV type 1 infection is a risk factor for mortality in hospitalized Zambian children with measles. *Clinical Infectious Diseases, Volume 46, Issue 4, 15 February 2008, Pages 523–527.*
  - Moutsinger A, Haas DW, Stanic AK, Kaer LV, Joyce S, Unutmaz D. CD1d-restricted human natural killer T cells are highly susceptible to human immunodeficiency virus 1 infection. *J Exp Med.* 2002; 195:869–879.
  - Murphy K. *Janeway's Immunobiology.* London: Garland Science; 2012.
  - Mutwa PR, Boer KR, Rusine JB, Muganga N, Tuyishimire D, Reiss P, Lange JM, Geelen Sibyl PM. Hepatitis B virus prevalence and vaccine response in HIV-infected children and adolescents on combination antiretroviral therapy in Kigali, Rwanda. *Pediatr Infect Dis J.* 2013; 32:246–51.
  - Naim Hussein Y. Measles virus: A pathogen vaccine and a vector. *Human Vaccines & Immunotherapeutics 11:1, 21–26; January 2015.*
  - Nandy R, Handzel T, Zaneidou M, Biey J, Cuddy RZ, Perry R, Strebel P, Cairns L. Case-fatality rate during a measles outbreak in eastern Niger in 2003. *Clin Infect Dis.* 2006; 42:322–328.
  - Newell ML, Coovadia H, Cortina-Borja M, Rollins N, Gaillard P, Dabis F, Ghent International AIDS Society (IAS) Working Group on HIV Infection in Women and Children. Mortality of infected and uninfected infants born to HIV-infected mothers in Africa: a pooled analysis. *Lancet.* 2004; 364:1236–1243.
  - Newell ML. Mechanisms and timing of mother-to-child transmission of HIV-1. *AIDS, 1998, 12:831–837.*
  - Newman LP, Njoroge A, Margaret A, Chohan BH, Gitomea VW, Wald A, Gorstein J, Overbaugh J, Wamalwa D, Maleche-Obimbo E, Nduati R, Farquhar C. Sustained Responses to Measles Revaccination at 24 Months in HIV-Infected Children on Antiretroviral Therapy in Kenya. *Pediatr Infect Dis J.* 2017.
  - Ni JD, Xiong YZ, Wang XJ, Xiu LC. Does increased hepatitis B vaccination dose lead to a better immune response in HIV-infected patients than standard dose vaccination: a meta-analysis? *Int J STD AIDS.* 2013 Feb; 24(2):117-22.
  - Nicole H. Tobin and Grace M. Aldrovandi. *Immunology of Pediatric HIV Infection. Immunol Rev.* 2013 Jul; 254(1): 143–169.

## Références bibliographiques

---

- Nikolopoulos GK, Paraskevis D, Hatzitheodorou E, Moschidis Z, Sypsa V, Zavitsanos X, Kalapothaki V, Hatzakis A. *Impact of hepatitis B virus infection on the progression of AIDS and mortality in HIV-infected individuals: a cohort study and meta-analysis.* *Clin Infect Dis.* 2009 Jun 15;48 (12):1763-71.
- Nishaki Mehta, Coleen K. Cunningham, Patricia Flynn, Joyce Pepe, Stephen Obaro, Bill G. Kapogiannis, James Bethel, and Katherine Luzuriaga. *Impaired Generation of Hepatitis B Virus-specific Memory B Cells in HIV Infected Individuals Following Vaccination.* *Vaccine.* 2010 May 7; 28(21): 3672–3678.
- Njom Nlend Anne Esther, Philippe Salomon Nguwoh, Christian Taheu Ngounouh, Hyppolite Kuekou Tchidjou, Constant Anatole Pieme, Jean Mbede Otélé, Véronique Penlap, Vittorio Colizzi, Roger Somo Moyou, and Joseph Fokam. *HIV-Infected or -Exposed Children Exhibit Lower Immunogenicity to Hepatitis B Vaccine in Yaoundé, Cameroon: An Appeal for Revised Policies in Tropical Settings?* *PLoS One.* 2016; 11(9): e0161714.
- Obaro SK, Pugatch D, Luzuriaga K. *Immunogenicity and efficacy of childhood vaccines in HIV-1-infected children.* *Lancet Infect Dis.* 2004; 4:510–8.
- Obimbo E, Mbori-Ngacha DA, Ochieng J. *Predictors of early mortality in a cohort of Human Immunodeficiency Virus Type-1 infected African children.* *Pediatr Infect Dis J.* 2004; 23:536–543.
- Ogbuanu IU, Zeko S, Chu SY, Muroua C, Gerber S, De Wee R, Kretsinger K, Wannemuehler K, Gerndt K, Allies M, Sandhu HS, Goodson JL. *Maternal, fetal, and neonatal outcomes associated with measles during pregnancy: Namibia, 2009-2010.* *Clin Infect Dis.* 2014 Apr; 58(8):1086-92.
- OMS. *Couverture vaccinale.* 2018. <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/immunization-coverage>.
- OMS. *Nouvelles données de surveillance de la rougeole pour 2019.* Genève 15 avril 2019. <https://www.who.int/immunization/newsroom/measles-data-2019/fr/>
- OMS. *VIH/sida, Aide-mémoire, Actualisé en novembre 2017.* <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs360/fr/>
- OMS. *Weekly epidemiological record Relevé épidémiologique hebdomadaire. Mise en œuvre de la vaccination contre l'hépatite B par une dose à la naissance à l'échelle mondiale, 2016.16 February 2018, 93th Year, No 7, 2018, 93, 61–72* <http://www.who.int/wer>
- OMS. *Global Hepatitis Report 2017.* Geneva: World Health Organization; 2017:1-83. <http://www.who.int/hepatitis/publications/global-hepatitis-report2017/en/>

## Références bibliographiques

---

- OMS. *Global progress towards regional measles elimination, worldwide, 2000–2013*. *Wkly Epidemiol Rec.* 2014; 89:509–516.
- OMS. *Slides WHO (July 2017): 2016 HIV estimates and status of uptake of WHO HIV policies*. <http://www.who.int/hiv/data/en/>
- Onorato IM, Markowitz LE, Oxtoby MJ. *Childhood immunization, vaccine-preventable diseases and infection with human immunodeficiency virus*. *Pediatr Infect Dis J* 1988 ; 7 : 588-95.
- Otieno RO, Ouma C, Ong'echa JM, Keller CC, Were T, Waindi EN, Michaels MG, Day RD, Vulule JM, Perkins DJ. *Increased severe anemia in HIV-1-exposed and HIV-1-positive infants and children during acute malaria*. *AIDS*. 2006 Jan 9; 20(2):275-80.
- Overton ET, Sungkanuparph S, Powderly WG, Seyfried W, Groger RK, Aberg JA. *Undetectable plasma HIV RNA load predicts success after hepatitis B vaccination in HIV-infected persons*. *ClinInfectDis*.2005; 41:1045–8.
- Pal G. *Effects of ribavirin on measles*. *J Indian Med Assoc* 2011; 109:666–7.
- Pasricha N, Datta U, Chawla Y, Singh S, Arora SK, Sud A, Minz RW, Saikia B, Singh H, James I, Sehgal S. *Immune responses in patients with HIV infection after vaccination with recombinant hepatitis B vaccine*. *BMC Infect Dis*. 2006; 6:65.
- Pauline Trémeaux, Christine Rouzioux, Véronique Avettand-Fènoël. *Cell and tissue reservoirs of HIV-1: dynamics during infection*. *Virologie* 2019, 23(4):211-228.
- Pelletier L, Chung P, Duclos P, Manga P, Scott J. *A benefit-cost analysis of two-dose measles immunization in Canada*. *Vaccine*, 1998, 16:989–996.
- Penazzato Martina, Cadi Irvine, Marissa Vicari, Shaffiq M. Essajee, Aditi Sharma, Thanyawee Puthanakit, Elaine J. Abrams, and Meg Doherty. *A Global Research Agenda for Pediatric HIV*. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2018 Aug 15; 78(1): S10–S15.
- Pensieroso S, Cagigi A, Palma P, Nilsson A, Capponi C, Freda E, Bernardi S, Thorstensson R, Chiodi F, Rossi P. *Timing of HAART defines the integrity of memory B cells and the longevity of humoral responses in HIV-1 vertically-infected children*. *Proc NatlAcadSci UUSA*2009; 106: 7939–7944.
- Permar SR, Klumpp SA, Mansfield KG, Kim WK, Gorgone DA, Lifton MA, Williams KC, Schmitz JE, Reimann KA, Axthelm MK, Polack FP, Griffin DE, Letvin NL. *Role of CD8+ lymphocytes in control and clearance of measles virus infection of rhesus monkeys*. *J Virol*. 2003; 77:4396–4400.
- Perry RT, Halsey NA. *The clinical significance of measles: a review*. *J Infect Dis* 2004; 189(suppl 1):S4–16.

## Références bibliographiques

---

- Perry RT, Murray JS, Gacic-Dobo M, Dabbagh A, Mulders MN, Strebel PM, Okwo-Bele JM, Rota PA, Goodson JL. Progress toward regional measles elimination - worldwide, 2000-2014. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2015 Nov 13; 64(44):1246-51.
- Pinzone MR, Di Rosa M, Cacopardo B, Nunnari G. HIV RNA suppression and immune restoration: can we do better? *Clin Dev Immunol.* 2012; 2012:515962.
- Pippi F, Bracciale L, Stolzuoli L, Giaccherini R, Montomoli E, Gentile C, Filetti S, De Luca A, Cellesi C. Serological response to hepatitis B virus vaccine in HIV-infected children in Tanzania. *HIV Med.* 2008; 9:519–25.
- Polack F.P; Auwaerter P.G; Lee S.H; Nousari H.C; Valsamakis A; Leiferman K.M; Diwan A; production of atypical measles in rhesus macaques: evidence for disease mediated by immune complex formation and eosinophils in the presence of fusion-inhibiting antibody. *Nat Med* 1999;5(6):629-634.
- Prendergast A, Tudor-Williams G, Jeena P, Burchett S, Goulder P. (2007). "International perspectives, progress, and future challenges of paediatric HIV infection." *Lancet* 370(9581): 68-80.
- Rafat C, Klouche K, Ricard JD, Messika J, Roch A, Machado S, Sonnevile R, Guisset O, Pujol W, Guérin C, Teboul JL, Mrozek N, Darmon M, Chemouni F, Schmidt M, Mercier E, Dreyfuss D, Gaudry S. Severe Measles Infection: The Spectrum of Disease in 36 Critically Ill Adult Patients. *Medicine (Baltimore).* 2013 Sep; 92(5):257-272.
- Rainwater-Lovett K, Nkamba HC, Mubiana-Mbewe M, Bolton-Moore C, Moss WJ. Changes in measles serostatus among HIV-infected Zambian children initiating antiretroviral therapy before and after the 2010 measles outbreak and supplemental immunization activities. *J Infect Dis.* 2013; 208:1747–1755.
- Rajbhandari R, Jun T, Khalili H, Chung RT, Ananthakrishnan AN. HBV/HIV co-infection is associated with poorer outcomes in hospitalized patients with HBV or HIV. *J Viral Hepat.* 2016; 23:820-9.
- Ramduth D, Thobakgale CF, Mkhwanazi NP, De Pierres C, Reddy S, van der Stok M, Mncube Z, Mphatswe W, Blanckenberg N, Cengimbo A, Prendergast A, Tudor-Williams G, Dong K, Jeena P, Coovadia HM, Day CL, Kiepiela P, Goulder PJR, Walker BD. Detection of HIV type 1 gag-specific CD4(+) T cell responses in acutely infected infants. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2008;24:265–270.
- Reyes MA, de Borrero MF, Roa J, Bergonzoli G, Saravia NG. Measles vaccine failure after documented seroconversion. *Pediatr Infect Dis J* 1987; 6 :848-51;

## Références bibliographiques

---

- Reza Rezaee ; Bahman Aghcheli; Vahdat Poortahmasebi; Mostafa Qorbani; Seyed Moayed Alavian; Seyed Mohammad Jazayeri. *Prevalence of National Responsiveness to HBV Vaccine After 22 Years of Iranian Expanded Program on Immunization (EPI): A Systematic Review and Meta-Analysis Study. Hepat Mon. 2015 May; 15(5): e23618.*
- Riley EC, Murphy G, Riley RL. *Airborne spread of measles in a suburban elementary school. Am J Epidemiol. 1978 May;107(5):421–432.*
- Roberts ER, Carnathan DG, Li H, Shaw GM, Silvestri G, Betts MR. *Collapse of cytolytic potential in SIV-specific CD8+ T cells following acute siv infection in rhesus macaques. PLoS Pathog. (2016).*
- Rock C, de Barra E, Sadlier C, Kelly S, Dowling C, McNally C, Bergin C. *Impact of a new vaccine clinic on hepatitis B vaccine completion and immunological response rates in an HIV-positive cohort. J Infect Public Health 2013; 6:173-8; PMID:23668461;*
- Rogerson SR, Gladstone M, Callaghan M, Erhart L, Rogerson SJ, Borgstein E, Broadhead RL. *HIV infection among paediatric in-patients in Blantyre, Malawi. Trans R Soc Trop Med Hyg. 2004 Sep;98(9):544-52.*
- Rosen JB, Rota JS, Hickman CJ, Sowers SB, Mercader S, Rota PA, Bellini WJ, Huang AJ, Doll MK, Zucker JR, Zimmerman CM. *Outbreak of measles among persons with prior evidence of immunity, New York City, 2011. Clin Infect Dis. 2014 May;58(9):1205-10.*
- Rosenthal E, Pialoux G, Bernard N, Pradier C, Rey D, Bentata M, Michelet C, Pol S, Perronne C, Cacoub P; GERMIVIC Joint Study Group. *Liver-related mortality in human-immunodeficiency-virus-infected patients between 1995 and 2003 in the French GERMIVIC Joint Study Group Network (MORTAVIC 2003 Study). J Viral Hepat. 2007 Mar;14(3):183-8.*
- Rota J.S; Wang Z.D; Rota P.A; Bellini W.J. *Comparison of sequences of the H, F, and N coding genes of measles virus vaccine strains. Virus Res. 1994, 31, 317–330.*
- Rota P.A; Moss W.J; Takeda M; de Swart R.L; Thompson K.M; Goodson J.L. *Measles. Nat. Rev. Dis. Primers 2016, 2.*
- Rebbani K, Ouladlahsen A, Bensghir A, Akil A, Lamdini H, Issouf H, Brahim I, Kitab B, Fakhir FZ, Wakrim L, Marhoum El Filali K, Himmich H, Ezzikouri S, Benjelloun S. *Co-infections with hepatitis B and C viruses in human immunodeficiency virus-infected patients in Morocco. Clin Microbiol Infect. 2013 Oct;19(10):E454-7.*
- Rouzioux C, Costagliola D, Burgard M, Blanche S, Mayaux MJ, Griscelli C, Valleron AJ, Ruane V, Barnabas, Connie Celum. *Closing the gaps in the HIV care continuum. PLOS Medicine 2017: 1-4. Estimated timing of mother-to-child human immunodeficiency virus*

## Références bibliographiques

---

- type 1 (HIV-1) transmission by use of a Markov model. The HIV Infection in Newborns French Collaborative Study Group. Am J Epidemiol. 1995 Dec 15;142(12):1330-7.*
- Rubin LG, Levin MJ, Ljungman P, Davies EG, Avery R, Tomblyn M, Bousvaros A, Dhanireddy S, Sung L, Keyserling H, Kang I, Infectious Diseases Society of America. 2013 IDSA clinical practice guideline for vaccination of the immunocompromised host. *Clin Infect Dis.* 2014; 58:309–318.
  - RUCKLE G, ROGERS KD. *Studies with measles virus. II. Isolation of virus and immunologic studies in persons who have had the natural disease. J Immunol.* 1957 May;78(5):341-55.
  - Rudy BJ, Rutstein RM, Pinto-Martin J. *Responses to measles immunization in children infected with human immunodeficiency virus. J Pediatr.* 1994;125:72–4.
  - Rutstein RM, Rudy B, Codispoti C, Watson B. *Response to hepatitis B immunization by infants exposed to HIV. AIDS.* 1994;8:1281–1284.
  - Sahana H. V, N. Sarala, and S. R. Prasad. *Decrease in Anti-HBs Antibodies over Time in Medical Students and Healthcare Workers after Hepatitis B Vaccination. Biomed Res Int.* 2017; 2017: 1327492.
  - SAGE. *Rapport d'évaluation du plan d'action mondial pour les vaccins.* 2015.
  - Sallusto Federica, Antonio Lanzavecchia, Koichi Araki, and Rafi Ahmed. *From Vaccines to Memory and Back. Immunity* 33, 2010, 451-463.
  - Samia M. Sami, Iman I. Salama, Ghada A. Abdel-Latif, Lobna A. El Etreby, Ahmed I. Metwally, and Naglaa F. Abd El haliem. *Hepatitis B Seroprotection and the Response to a Challenging Dose among Vaccinated Children in Red Sea Governorate. Open Access Maced J Med Sci.* 2016 Jun 15; 4(2):219-225.
  - Samuel A. Sakyi, Sylvester Dassah, Margaret T. Frempong, Arnold T. Luuse, Richard K. D. Ephraim, Enoch O. Anto, and Abraham Oduro. *Seroconversion of Hepatitis B Vaccine in Young Children in the Kassena Nankana District of Ghana: A Cross-Sectional Study. PLoS One.* 2015; 10(12): e0145209.
  - Sandberg JK, Fast NM, Jordan KA, Furlan SN, Barbour JD, Fennelly G, Dobroszycki J, Spiegel HML, Wiznia A, Rosenberg MG, Nixon DF. *HIV-specific CD8+ T cell function in children with vertically acquired HIV-1 infection is critically influenced by age and the state of the CD4+ T cell compartment. J Immunol.* 2003;170:4403–4410.
  - Sandberg JK, Fast NM, Palacios EH, Fennelly G, Dobroszycki J, Palumbo P, Wiznia A, Grant RM, Bhardwaj N, Rosenberg MG, Nixon DF. *Selective loss of innate CD4(+) V*

## Références bibliographiques

---

- alpha 24 natural killer T cells in human immunodeficiency virus infection. J Virol.* 2002; 76:7528–7534.
- *Sbai A, Baha W, Ougabrai H, Allalia T, Dersi N, Lazaar F, Ennaji MM, Benjouad A, El Malki A, Hassar M, Benani A. Hepatitis B prevalence and risk factors in Morocco. Pathol Biol (Paris) 2012; 60(5):e65–e69.*
  - *Scarlatti G. Paediatric HIV infection (comments). Lancet.*1996; 348:863–868.
  - *Scott S, Moss WJ, Cousens S, Beeler JA, Audet SA, Mugala N, Quinn TC, Griffin DE, Cutts FT. The influence of HIV-1 exposure and infection on levels of passively acquired antibodies to measles virus in Zambian infants. Clin Infect Dis.* 2007; 45:1417–1424.
  - *Semprini AE, Castagna C, Ravizza M, Fiore S, Savasi V, Muggiasca ML, Grossi E, Guerra B, Tibaldi C, Scaravelli G. The incidence of complications after caesarean section in 156 HIV-positive women. Aids.* 1995; 9(8):913–917.
  - *Shanks GD, Lee S-H, Howard A, Brunden KR. Extreme mortality after first introduction of measles virus to the Polynesian Island of Rotuma, 1911. Am J Epidemiol.* 2011;173:1211–1222.
  - *Shaw GM and Hunter E. HIV transmission. Cold Spring Harb Perspect Med.* 2012 Nov 1;2(11).
  - *Sherman FE, Ruckle G. In vivo and in vitro cellular changes specific for measles. AMA Arch Pathol.* 1958 Jun; 65(6):587-99.
  - *Siberry George K, Kunjal Patel, William J. Bellini, Brad Karalius, Murli U. Purswani, Sandra K. Burchett, William A. Meyer III; for the Pediatric HIV AIDS Cohort Study (PHACS) Sun Bae Sowers, Angela Ellis, and Russell B. Van Dyke. Immunity to Measles, Mumps, and Rubella in US Children With Perinatal HIV Infection or Perinatal HIV Exposure Without Infection. HIV/AIDS • CID 2015;61 (15 September) • 988-995.*
  - *Siberry George K., MD, MPH, Executive Secretary, Mark J. Abzug, MD, Co-Chair, Sharon Nachman, MD, Co-Chair, Michael T. Brady, MD, Kenneth L. Dominguez, MD, MPH, Edward Handelsman, MD, Lynne M. Mofenson, MD, Steve Nesheim, MD, and the Panel on Opportunistic Infections in HIV-Exposed and HIV-Infected Children. Guidelines for the Prevention and Treatment of Opportunistic Infections in HIV-Exposed and HIV-Infected Children. Recommendations from the National Institutes of Health, Centers for Disease Control and Prevention, the HIV Medicine Association of the Infectious Diseases Society of America, the Pediatric Infectious Diseases Society, and the American Academy of Pediatrics. Pediatr Infect Dis J.* 2013 Nov; 32(0 2): i–KK4.

## Références bibliographiques

---

- Simani OE, Izu A, Nunes MC, Violari A, Cotton MF, Van Niekerk N, Adrian PV, Madhi SA. *Effect of HIV exposure and timing of antiretroviral therapy initiation on immune memory responses to diphtheria, tetanus, whole cell pertussis and hepatitis B vaccines. Expert Rev Vaccines. 2019 Jan;18(1):95-104.*
- Simani OE, Izu A, Violari A, Cotton MF, Niekerk NV, Adrian PV, Madhi SA. *Effect of HIV-1 exposure and antiretroviral treatment strategies in HIV-infected children on immunogenicity of vaccines during infancy. AIDS 2014; 28:531–41.*
- Smith K, Kuhn L, Coovadia A, Meyers T, Hu CC, Reitz C, Barry G, Strehlau R, Sherman G, Abrams EJ. *Immune reconstitution inflammatory syndrome among HIV-infected South African infants initiating antiretroviral therapy. AIDS. 2009 Jun 1;23(9):1097-107.*
- Soriano V, Puoti M, Bonacini M, Brook G, Cargnel A, Rockstroh J, Thio C, Benhamou Y. *Care of patients with chronic hepatitis B and HIV co-infection: recommendations from an HIV-HBV international panel. AIDS. 2005; 19:221–40.*
- Spira R, Lepage P, Msellati P, Van De Perre P, Leroy V, Simonon A, Karita E, Dabis F. *Natural history of human immunodeficiency virus type 1 infection in children: a five-year prospective study in Rwanda. Mother-to-Child HIV-1 Transmission Study Group. Pediatrics. 1999 Nov;104(5):e56.*
- Stephenne J. *Development and production aspects of a recombinant yeast-derived hepatitis B vaccine. Vaccine. 1990;8 Suppl:S69–S73; discussion S79-S80.*
- Sulachni Chandwani, Judy Beeler, Hong Li, Susette Audet, Betsy Smith, John Moye, David Nalin, and Keith Krasinski<sup>1</sup>, for The PACTG 225 Study Team. *Safety and Immunogenicity of Early Measles Vaccination in Children Born to HIV-Infected Mothers in the United States: Results of Pediatric AIDS Clinical Trials Group (PACTG) Protocol 225. J Infect Dis. 2011 Jul 1; 204(Suppl 1): S179–S189.*
- Sutcliffe CG, Moss WJ. *Do children infected with HIV receiving HAART need to be revaccinated. Lancet Infect Dis. 2010; 10:630–42.*
- Sutcliffe CG, Searle K, Matakala HK, Greenman MP, Rainwater-Lovett K, Thuma PE, Moss WJ. *Measles and Rubella Seroprevalence Among HIV-infected and Uninfected Zambian Youth. Pediatr Infect Dis J. 2017;36:301–306.*
- Szmuness W, Stevens CE, Zang EA, Harley EJ, Kellner A. *A controlled clinical trial of the efficacy of the hepatitis B vaccine (Heptavax B): a final report. Hepatology. 1981;1:377–385.*



## Références bibliographiques

---

- Tamashiro VG, Perez HH, Griffin DE. *Prospective study of the magnitude and duration of changes in tuberculin reactivity during complicated and uncomplicated measles. Ped Infect Dis J.* 1987;6:451–454.
- Tang N, Huang S, Salituro J, Mak WB, Cloherty G, Johanson J, Li YH, Schneider G, Robinson J, Hackett J Jr, Swanson P, Abravaya K. *A RealTime HIV-1 viral load assay for automated quantitation of HIV-1 RNA in genetically diverse group M subtypes A-H, group O and group N samples. J Virol Methods.* 2007 Dec;146(1-2):236-45.
- Tejiokem MC, Josiane Warszawski, Anfumbom Kfutwah, et al. *Faisabilité des multithérapies antirétrovirales précoces systématiques chez les nourrissons âgés de moins de 7 mois infectés par le VIH dans un pays à ressources limitées: ANRS 12140 - PEDIACAM". 5e Conférence VIH Francophone, Casablanca, Mars 2010.*
- Thimme Robert , Stefan Wieland, Carola Steiger, John Ghrayeb, Keith A. Reimann, Robert H. Purcell, and Francis V. Chisari. *CD8+ T Cells Mediate Viral Clearance and Disease Pathogenesis during Acute Hepatitis B Virus Infection. J Virol.* 2003 Jan; 77(1): 68–76.
- Thio CL (2009). *Hepatitis B and human immunodeficiency virus coinfection. Hepatology* 49: S138–145.
- Thio CL, Seaberg EC, Skolasky R Jr, Phair J, Visscher B, Muñoz A, Thomas DL; Multicenter AIDS Cohort Study. *HIV-1, hepatitis B virus, and risk of liver-related mortality in the Multicenter Cohort Study (MACS). Lancet.* 2002 Dec 14;360(9349):19216.
- Thobakgale CF, Ramduth D, Reddy S, Mkhwanazi N, de Pierres C, Moodley E, Mphatswe W, Blanckenberg N, Cengimbo A, Prendergast A, Tudor-Williams G, Dong K, Jeena P, Kindra G, Bobat R, Coovadia H, Kiepiela P, Walker BD, Goulder PJR. *Human immunodeficiency virus-specific CD8+ T-cell activity is detectable from birth in the majority of in utero-infected infants. J Virol.* 2007;81:12775–12784.
- Tron E. *Future vaccines. Rev Prat* 1995b, 45: 1514-1519.
- UNAIDS. *Global HIV & AIDS statistics—2018 fact sheet 2018 [cited 2019 Jan 2]. Available from: <http://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet>.*
- UNAIDS. *90±90±90. An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. UNAIDS, 2017 (a).*
- UNAIDS. *Ending AIDS. Progress towards the 90-90-90 targets. UNAIDS, 2017 (b).*
- Van Der Meeren Olivier, Priya Crasta, Brigitte Cheuvert, and Marc De Ridder. *Characterization of an age-response relationship to GSK's recombinant hepatitis B vaccine in healthy adults: An integrated analysis. Hum Vaccin Immunother.* 2015 Jul; 11(7): 1726–1729.

## Références bibliographiques

---

- van der Vliet HJ, von Blomberg BM, Hazenberg MD, Nishi N, Otto SA, van Benthem BH, Prins M, Claessen FA, Eertwegh van den AJM, Giaccone G, Miedema F, Scheper RJ, Pinedo HM. Selective decrease in circulating V alpha 24+V beta 11+ NKT cells during HIV type 1 infection. *J Immunol.* 2002;168:1490–1495.
- Von Reyn CF, Clemens CJ, Mann JM. Human immunodeficiency virus infection and routine childhood immunisation. *Lancet* 1987; ii : 669-72.
- Vreeman RC, Wiehe SE, Pearce EC, Nyandiko WM. A systematic review of pediatric adherence to antiretroviral therapy in low- and middle-income countries. *Pediatr Infect Dis J.* 2008 Aug;27(8):686-91.
- Walkiewicz-Jedrzejczak Dorota, Matthew Egberg, Catherine Nelson and Jens Eickoff. Evaluation of the response to vaccination with hepatitis B vaccine in pediatric patients diagnosed with celiac disease. *SAGE Open Medicine.* 2014 ; (2-5).
- Wanyeki I, Cole D, Sills G, Bass P, editors. Five year survival probabilities after ART start at 3 hospitals in Guyana. *Proceedings of the Caribbean HIV Conference; November 2011; Nassau, The Bahamas.*
- Weber B, Orazi B, Raineri A, Thorstensson R, Bürgisser P, Mühlbacher A, Areal C, Eiras A, Villaescusa R, Camacho R, Diogo I, Roth HJ, Zahn I, Bartel J, Bossi V, Piro F, Atamasirikul K, Permpikul P, Webber L, Singh S. Multicenter evaluation of a new 4th generation HIV screening assay Elecsys HIV combi. *Clin Lab.* 2006;52(9-10):463-73.
- Weber R, Ruppik M, Rickenbach M, Spoerri A, Furrer H, Battegay M, Cavassini M, Calmy A, Bernasconi E, Schmid P, Flepp M, Kowalska J, Ledergerber B; Swiss HIV Cohort Study (SHCS). Decreasing mortality and changing patterns of causes of death in the Swiss HIV Cohort Study. *HIV Med.* 2013 Apr;14(4):195-207.
- Whitaker JA, Poland GA. Measles and mumps outbreaks in the United States: think globally, vaccinate locally. *Vaccine* 2014; 32:4703-4.
- Whitaker JA, Rouphael NG, Edupuganti S, Lai L, Mulligan MJ. Strategies to increase responsiveness to hepatitis B vaccination in adults with. *Lancet Infect Dis.* 2012;12:966–76.
- WHO 2006. “Manual for the laboratory diagnosis of measles and rubella infection” World Health Organization. Genova.
- WHO, author. *Weekly epidemiological record. Rotavirus vaccines: an update.* 2009. pp. 553–537.
- WHO, author. *Weekly epidemiological record. Rotavirus vaccines WHO position paper.* 2013. pp. 49–64.
- WHO. *Global Immunization Data.*2014;

## Références bibliographiques

---

- WHO. *Hepatitis B surface antigen assays: operational characteristics (phase I) blood safety and clinical technology (report 2) 2001.*
- WHO. *Special programme on AIDS and expanded programme on immunization, joint statement. Consultation on HIV and routine childhood immunization. Wkly Epidemiol Rec 1987 ; 62 : 297-9.*
- WHO/Morocco. *Campagne National de vaccination contre la rougeole et la rubéole. 2008.*
- WHO: *Guideline on when to start antiretroviral therapy and on pre-exposure prophylaxis for HIV. (2015). Accessed: December 28, 2015.*
- Williams AJ, Duong T, McNally LM, Tookey PA, Masters J, Miller R, Lyall EG, Gibb DM. *Pneumocystis carinii pneumonia and cytomegalovirus infection in children with vertically acquired HIV infection. AIDS 2001;15:335–9.*
- Wolfson LJ, Grais RF, Luquero FJ, Birmingham ME, Strebel PM. *Estimates of measles case fatality ratios: a comprehensive review of community-based studies. Int J Epidemiol. 2009 Feb;38(1):192-205.*
- World Health Organization Measles Surveillance Data. Available online: [http://www.who.int/immunization/monitoring\\_surveillance/burden/vpd/surveillance\\_type/active/measles\\_monthlydata/en/index1.html](http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/vpd/surveillance_type/active/measles_monthlydata/en/index1.html) (accessed on 8 November 2015).
- World Health Organization Regional Office for Europe. *4th Meeting of the European Regional Verification Commission for Measles and Rubella Elimination (RVC); World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2016.*
- World Health Organization *States of the world's vaccines and Immunization 2003: revised edition. Geneva : World Health Organization, 2003 : 96 p. ISBN 92-4-154623-9.*
- World Health Organization, *Immunization, Vaccines and Biologicals. WHO recommendations for routine immunization—summary tables; September 2016.*
- World Health Organization. *Measles vaccines: WHO position paper—April 2017. Wkly Epidemiol Rec. 2017: 205–227, 92.*
- World Health Organization. *Measles, World Health Organization Fact Sheet No. 286. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs286/en/>*
- World Health Organization. *WHO/UNICEF coverage estimates for 1980-2014. Geneva: WHO/UNICEF. Available at: [http://www.who.int/immunization/monitoring\\_surveillance/routine/coverage/en/index4.html](http://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/routine/coverage/en/index4.html)*
- World Health Organization. *States of the world's vaccines and Immunization 2003: revised edition. Geneva : World Health Organization, 2003 : 96 p.*

## Références bibliographiques

---

- World Health Organization. Vaccine position papers. <http://www.who.int/immunization/documents/positionpapers/en/>. Accessed 30 Mar 2017.
- World Health Organization Western Pacific Region. *Fourth Annual Meeting of the Regional Verification Commission for Measles Elimination in the Western Pacific*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2015.
- Xiang JZ, Chen ZH. Measles vaccine in the People's Republic of China. *Rev Infect Dis* 1983; 5:50610.
- Yonas Bekele, Sylvie Amu, Kidist Bobosha, Rebecka Lantto, Anna Nilsson, Birtukan Endale, Meseret Gebre, Abraham Aseffa, Bence Rethi, Rawleigh Howe, and Francesca Chiodi. *Impaired Phenotype and Function of T Follicular Helper Cells in HIV-1-Infected Children Receiving ART. Medicine (Baltimore)*. 2015 Jul; 94(27).
- Zanetti AR, Van Damme P, Shouval D. The global impact of vaccination against hepatitis B: a historical overview. *Vaccine* 2008 ; 26: 6266-6273.
- Zarski Jean-Pierre. *La vaccination contre le virus de l'hépatite B : réalité, inquiétudes et perspectives. Hépatogastro*, vol. 13, n° 1, 2006.
- Zhang GH, Wang Q, Chen JJ, Zhang XM, Tam SC, Zheng YT. The anti-HIV-1 effect of scutellarin. *Biochem Biophys Res Commun*. 2005 Sep 2; 334(3):812-6.
- Zhou F, Reef S, Massoudi M, Hussain RY, Bardenheier B, Zimmerman L. An economic analysis of the current universal 2-dose measles-mumps-rubella vaccination program in the United States. *International Journal of Infectious Diseases*, 2004, 189 Suppl 1:S131–145.
- Zhou K., Terrault N. Management of hepatitis B in special populations. *Best Pr. Res. Clin. Gastroenterol*. 2017; 31:311–320.
- Zuin G, Principi N, Tornaghi R, Paccagnini S, Re M, Massironi E, Ragni M C. Impaired response to hepatitis B vaccine in HIV infected children. *Vaccine*. 1992; 10:857–860.
- Zwang Julien. [Measles in the world in the year 2000: estimation of morbidity and mortality levels]. *Chronique Du Ceped*, 2001.

### Calendrier vaccinal du Programme de vaccination de routine des enfants au Maroc

Vaccin/Âge	Naissance	1 mois	2 mois	3 mois	4 mois	9 mois	12 mois	18 mois	5 ans
Hépatite B		si pas administré en 24h de la naissance							
BCG									
Polio oral									
Pneumocoque									
Rotavirus									
DTC/HIB/Hép B									
Polio inactivé									
RR									
DTC								Rappel 1	Rappel 2

- *BCG*: Bacillus-Calmette–Guérin. Contre indiqué pour les enfants infectés par le VIH
- *DTP*: Diphtérie-Tétanos-Coqueluche
- *Hib* : *Hémophilus influenza type B*.
- *RR*: Rougeole-Rubéole.