UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2011 ***THESE N°: 89***

DIVERSITE GENETIQUE DU VIH : LES SOUCHES DU VIH-1 CIRCULANTES AU MAROC.

THESE

Présentée et soutenue publiquement le ***: 14 Novembre 2011***

PAR

M. Boureima KONATE
Né le 27 mars 1983 à Dira (Burkina Faso)

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : VIH-1 - Diversité génétique - Soustypes – Epidémiologie moléculaire

JURY

M.M. ZOUHDI Professeur de Microbiologie	**PRESIDENT**
M. S. MRANI Professeur Agrégé de Virologie	**RAPPORTEUR**
M. A.BELMEKKI Professeur d'Hématologie	**JUGES**
M.M. RABHI Professeur Agrégé de Médecine interne	
M. A. AGADR Professeur Agrégé de Pédiatrie	

UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI

FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

DOYENS HONORAIRES :

1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :
Doyen : Professeur Najia HAJJAJ
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines
Professeur Mohammed JIDDANE
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération
Professeur Ali BENOMAR
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie
Professeur Yahia CHERRAH
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb	Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed	Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam	Neurochirurgie
4. Pr. MESBAHI Redouane	Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid	Cardiologie
6. Pr. EL MANOUAR Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
7. Pr. HAMANI Ahmed*	Cardiologie
8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
9. Pr. SBIHI Ahmed	Anesthésie –Réanimation
10. Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

11. Mai et Novembre 1982

12. Pr. ABROUQ Ali*	Oto-Rhino-Laryngologie
13. Pr. BENOMAR M'hammed	Chirurgie-Cardio-Vasculaire
14. Pr. BENSOUDA Mohamed	Anatomie
15. Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
16. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma	Physiologie

Novembre 1983

17. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*	Pneumo-phtisiologie
18. Pr. BALAFREJ Amina	Pédiatrie
19. Pr. BELLAKHDAR Fouad	Neurochirurgie
20. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia	Rhumatologie
21. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine	Cardiologie

Décembre 1984

22. Pr. BOUCETTA Mohamed*	Neurochirurgie
23. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil	Radiothérapie
24. Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne
25. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
26. Pr. NAJI M'Barek *	Immuno-Hématologie
27. Pr. SETTAF Abdellatif	Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

28. Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
29. Pr. BENSAID Younes	athologie Chirurgicale
30. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie
31. Pr. IHRAI Hssain *	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
32. Pr. IRAQI Ghali	Pneumo-phtisiologie
33. Pr. KZADRI Mohamed	Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

34. Pr. AJANA Ali	Radiologie
35. Pr. AMMAR Fanid	Pathologie Chirurgicale
36. Pr. CHAHED OUAZZANI Houria ép.TAOBANE	Gastro-Entérologie
37. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq	Pneumo-phtisiologie
38. Pr. EL HAITEM Naïma	Cardiologie
39. Pr. EL MANSOURI Abdellah*	Chimie-Toxicologie Expertise
40. Pr. EL YAACOUBI Moradh	Traumatologie Orthopédie
41. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah	Gastro-Entérologie
42. Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
43. Pr. OHAYON Victor*	Médecine Interne
44. Pr. YAHYAOUI Mohamed	Neurologie

Décembre 1988

45. Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
46. Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie
47. Pr. FAIK Mohamed	Urologie

48. Pr. HERMAS Mohamed	Traumatologie Orthopédie
49. Pr. TOLOUNE Farida*	Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

50. Pr. ADNAOUI Mohamed	Médecine Interne
51. Pr. AOUNI Mohamed	Médecine Interne
52. Pr. BENAMEUR Mohamed*	Radiologie
53. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali	Cardiologie
54. Pr. CHAD Bouziane	Pathologie Chirurgicale
55. Pr. CHKOFF Rachid	Urologie
56. Pr. KHARBACH Aîcha	Gynécologie -Obstétrique
57. Pr. MANSOURI Fatima	Anatomie-Pathologique
58. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda	Neurologie
59. Pr. SEDRATI Omar*	Dermatologie
60. Pr. TAZI Saoud Anas	Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

61. Pr. AL HAMANY Zaîtounia	Anatomie-Pathologique
62. Pr. ATMANI Mohamed*	Anesthésie Réanimation
63. Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie Réanimation
64. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM	Néphrologie
65. Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
66. Pr. BENABDELLAH Chahrazad	Hématologie
67. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif	Chirurgie Générale
68. Pr. BENSOUDA Yahia	Pharmacie galénique
69. Pr. BERRAHO Amina	Ophtalmologie
70. Pr. BEZZAD Rachid	Gynécologie Obstétrique
71. Pr. CHABRAOUI Layachi	Biochimie et Chimie
72. Pr. CHANA El Houssaine*	Ophtalmologie
73. Pr. CHERRAH Yahia	Pharmacologie
74. Pr. CHOKAIRI Omar	Histologie Embryologie
75. Pr. FAJRI Ahmed*	Psychiatrie
76. Pr. JANATI Idrissi Mohamed*	Chirurgie Générale
77. Pr. KHATTAB Mohamed	Pédiatrie
78. Pr. NEJMI Maati	Anesthésie-Réanimation
79. Pr. OUAALINE Mohammed*	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
80. Pr. SOULAYMANI Rachida ép.BENCHEIKH	Pharmacologie
81. Pr. TAOUFIK Jamal	Chimie thérapeutique

82. Décembre 1992

83. Pr. AHALLAT Mohamed	Chirurgie Générale
84. Pr. BENOUDA Amina	Microbiologie
85. Pr. BENSOUDA Adil	Anesthésie Réanimation
86. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib	Radiologie
87. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza	Gastro-Entérologie
88. Pr. CHRAIBI Chafiq	Gynécologie Obstétrique
89. Pr. DAOUDI Rajae	Ophtalmologie
90. Pr. DEHAYNI Mohamed*	Gynécologie Obstétrique
91. Pr. EL HADDOURY Mohamed	Anesthésie Réanimation
92. Pr. EL OUAHABI Abdessamad	Neurochirurgie
93. Pr. FELLAT Rokaya	Cardiologie

94. Pr. GHAFIR Driss*	Médecine Interne
95. Pr. JIDDANE Mohamed	Anatomie
96. Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine	Gynécologie Obstétrique
97. Pr. TAGHY Ahmed	Chirurgie Générale
98. Pr. ZOUHDI Mimoun	Microbiologie

Mars 1994

99. Pr. AGNAOU Lahcen	Ophtalmologie
100. Pr. AL BAROUDI Saad	Chirurgie Générale
101. Pr. BENCHERIFA Fatiha	Ophtalmologie
102. Pr. BENJAAFAR Noureddine	Radiothérapie
103. Pr. BENJELLOUN Samir	Chirurgie Générale
104. Pr. BEN RAIS Nozha	Biophysique
105. Pr. CAOUI Malika	Biophysique
106. Pr. CHRAIBI Abdelmjid	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
107. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT	Gynécologie Obstétrique
108. Pr. EL AOUAD Rajae	Immunologie
109. Pr. EL BARDOUNI Ahmed	Traumato-Orthopédie
110. Pr. EL HASSANI My Rachid	Radiologie
111. Pr. EL IDRISSI LAMGHARI Abdennaceur	Médecine Interne
112. Pr. EL KIRAT Abdelmajid*	Chirurgie Cardio- Vasculaire
113. Pr. ERROUGANI Abdelkader	Chirurgie Générale
114. Pr. ESSAKALI Malika	Immunologie
115. Pr. ETTAYEBI Fouad	Chirurgie Pédiatrique
116. Pr. HADRI Larbi*	Médecine Interne
117. Pr. HASSAM Badredine	Dermatologie
118. Pr. IFRINE Lahssan	Chirurgie Générale
119. Pr. JELTHI Ahmed	Anatomie Pathologique
120. Pr. MAHFOUD Mustapha	Traumatologie – Orthopédie
121. Pr. MOUDENE Ahmed*	Traumatologie- Orthopédie
122. Pr. OULBACHA Said	Chirurgie Générale
123. Pr. RHRAB Brahim	Gynécologie –Obstétrique
124. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR	Dermatologie
125. Pr. SLAOUI Anas	Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

126. Pr. ABBAR Mohamed*	Urologie
127. Pr. ABDELHAK M'barek	Chirurgie – Pédiatrique
128. Pr. BELAIDI Halima	Neurologie
129. Pr. BRAHMI Rida Slimane	Gynécologie Obstétrique
130. Pr. BENTAHILA Abdelali	Pédiatrie
131. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali	Gynécologie – Obstétrique
132. Pr. BERRADA Mohamed Saleh	Traumatologie – Orthopédie
133. Pr. CHAMI Ilham	Radiologie
134. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae	Ophtalmologie
135. Pr. EL ABBADI Najia	Neurochirurgie
136. Pr. HANINE Ahmed*	Radiologie
137. Pr. JALIL Abdelouahed	Chirurgie Générale
138. Pr. LAKHDAR Amina	Gynécologie Obstétrique
139. Pr. MOUANE Nezha	Pédiatrie

Mars 1995

140. Pr. ABOUQUAL Redouane	Réanimation Médicale
141. Pr. AMRAOUI Mohamed	Chirurgie Générale
142. Pr. BAIDADA Abdelaziz	Gynécologie Obstétrique
143. Pr. BARGACH Samir	Gynécologie Obstétrique
144. Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*	Urologie
145. Pr. BENAZZOUZ Mustapha	Gastro-Entérologie
146. Pr. CHAARI Jilali*	Médecine Interne
147. Pr. DIMOU M'barek*	Anesthésie Réanimation
148. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*	Anesthésie Réanimation

149. Pr. EL MESNAOUI Abbes	Chirurgie Générale
150. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila	Oto-Rhino-Laryngologie
151. Pr. FERHATI Driss	Gynécologie Obstétrique
152. Pr. HASSOUNI Fadil	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
153. Pr. HDA Abdelhamid*	Cardiologie
154. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed	Urologie
155. Pr. IBRAHIMY Wafaa	Ophtalmologie
156. Pr. MANSOURI Aziz	Radiothérapie
157. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia	Ophtalmologie
158. Pr. RZIN Abdelkader*	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
159. Pr. SEFIANI Abdelaziz	Génétique
160. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali	Réanimation Médicale

Décembre 1996

161. Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
162. Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
163. Pr. BELMAHI Amin	Chirurgie réparatrice et plastique
164. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim	Ophtalmologie
165. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
166. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
167. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
168. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
169. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
170. Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
171. Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
172. Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
173. Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
174. Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

175. Novembre 1997

176. Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
177. Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
178. Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
179. Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
180. Pr. BOULAICH Mohamed	O.RL.
181. Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
182. Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
183. Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
184. Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
185. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
186. Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
187. Pr. KANOUNI NAWAL	Physiologie
188. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
189. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
190. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
191. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
192. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
193. Pr. SAFI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
194. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie
195. Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

196. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
197. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
198. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
199. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
200. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
201. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
202. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
203. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
204. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

205. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
206. Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
207. Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique

Janvier 2000

208. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
209. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
210. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
211. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
212. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-phtisiologie
213. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
214. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
215. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
216. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-phtisiologie

217. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
218. Pr. EL OTMANYAzzedine	Chirurgie Générale
219. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
220. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
221. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
222. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
223. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
224. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
225. Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
226. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

227. Pr. AIDI Saadia	Neurologie
228. Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
229. Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
230. Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
231. Pr. BENCHEKROUN Nabiha	Ophtalmologie
232. Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
233. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	Anesthésie-Réanimation
234. Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
235. Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
236. Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
237. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
238. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
239. Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
240. Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
241. Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
242. Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie
243. Pr. MAHASSINI Najat	Anatomie Pathologique
244. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae	Pédiatrie
245. Pr. NASSIH Mohamed*	Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
246. Pr. ROUIMI Abdelhadi	Neurologie

Décembre 2001

247. Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
248. Pr. AOUAD Aicha	Cardiologie
249. Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation
250. Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophtalmologie
251. Pr. BENABDELJLIL Maria	Neurologie
252. Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
253. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
254. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
255. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
256. Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
257. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
258. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
259. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
260. Pr. BOUCHIKHI IDRISSI Med Larbi	Anatomie
261. Pr. BOUHOUCH Rachida	Cardiologie
262. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie

263. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
264. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
265. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
266. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
267. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
268. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
269. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
270. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
271. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophtalmologie
272. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
273. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
274. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
275. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
276. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
277. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
278. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
279. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
280. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
281. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
282. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
283. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
284. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
285. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
286. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
287. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
288. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
289. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
290. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
291. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie
292. Pr. TAZI MOUKHA Karim	Urologie

293. <u>Décembre 2002</u>

294. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
295. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
296. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
297. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
298. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
299. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
300. Pr. BENBOUAZZA Karima	Rhumatologie
301. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
302. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
303. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
304. Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
305. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
306. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
307. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
308. Pr. EL ALJ Haj Ahmed	Urologie
309. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
310. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie

311. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
312. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
313. Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
314. Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
315. Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
316. Pr. IKEN Ali	Urologie
317. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
318. Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
319. Pr. KRIOULE Yamina	Pédiatrie
320. Pr. LAGHMARI Mina	Ophtalmologie
321. Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
322. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
323. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
324. Pr. MOUSTAINE My Rachid	Traumatologie Orthopédie
325. Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
326. Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie
327. Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
328. Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
329. Pr. RGUIBI IDRISSI Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie
330. Pr. RHOU Hakima	Néphrologie
331. Pr. SIAH Samir *	Anesthésie Réanimation
332. Pr. THIMOU Amal	Pédiatrie
333. Pr. ZENTAR Aziz*	Chirurgie Générale
334. Pr. ZRARA Ibtisam*	Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

335. Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophtalmologie
336. Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
337. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
338. Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
339. Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
340. Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
341. Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
342. Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
343. Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
344. Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
345. Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
346. Pr. EL HANCHI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
347. Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
348. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
349. Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
350. Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
351. Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophtalmologie
352. Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
353. Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
354. Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
355. Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
356. Pr. NAOUMI Asmae*	Ophtalmologie
357. Pr. SAADI Nozha	Gynécologie Obstétrique
358. Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
359. Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
360. Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale

361. Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie

362. **Janvier 2005**

363. Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
364. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
365. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
366. Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
367. Pr. AMAR Yamama	Néphrologie
368. Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
369. Pr. AZIZ Noureddine*	Radiologie
370. Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
371. Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
372. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
373. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
374. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
375. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
376. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
377. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
378. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
379. Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
380. Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
381. Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
382. Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
383. Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
384. Pr. KENDOUSSI Mohamed*	Cardiologie
385. Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
386. Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
387. Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
388. Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
389. Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
390. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam	Ophtalmologie
391. Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
424. Pr. AFIFI Yasser	Dermatologie
425. Pr. AKJOUJ Said*	Radiologie
426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra	Dermatologie
427 Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
429 Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio – Vasculaire
432. Pr. CHEIKHAOUI Younes	Chirurgie Cardio – Vasculaire
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT Ibtissam	Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation

438. Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne
440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*	Anesthésie Réanimation
441 Pr. IDRISS LAHLOU Amine	Microbiologie
442. Pr. JROUNDI Laila	Radiologie
443. Pr. KARMOUNI Tariq	Urologie
444. Pr. KILI Amina	Pédiatrie
445. Pr. KISRA Hassan	Psychiatrie
446. Pr. KISRA Mounir	Chirurgie – Pédiatrique
447. Pr. KHARCHAFI Aziz*	Médecine Interne
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*	Pharmacie Galénique
449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*	Parasitologie
450. Pr. MANSOURI Hamid*	Radiothérapie
451. Pr. NAZIH Naoual	O.R.L
452. Pr. OUANASS Abderrazzak	Psychiatrie
453. Pr. SAFI Soumaya*	Endocrinologie
454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra	Psychiatrie
455. Pr. SEFIANI Sana	Anatomie Pathologique
456. Pr. SOUALHI Mouna	Pneumo – Phtisiologie
457. Pr. TELLAL Saida*	Biochimie
458. Pr. ZAHRAOUI Rachida	Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila	Anatomie pathologique
459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid	Anesthésie réanimation
460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid	Anesthésier réanimation
461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *	Anesthésie réanimation
462. Pr. BAITE Abdelouahed *	Anesthésie réanimation
463. Pr. TOUATI Zakia	Cardiologie
464. Pr. OUZZIF Ez zohra *	Biochimie
465. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Noureddine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie
480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhoussain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie

484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie
487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUFI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim *	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne
Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
Pr. L'kassimi Hachemi*	Microbiologie
Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie

Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
Pr. CHERRADI Ghizlan	Cardiologie
Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
Pr. KANOUNI Lamya	Radiothérapie
Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérotique
Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
Pr. RAISSOUNI Zakaria*	Traumatologie orthopédie
Pr. BOUAITY Brahim*	ORL
Pr. LEZREK Mounir	Ophtalmologie
Pr. NAZIH Mouna*	Hématologie
Pr. LAMALMI Najat	Anatomie pathologique
Pr. ZOUAIDIA Fouad	Anatomie pathologique
Pr. BELAGUID Abdelaziz	Physiologie
Pr. DAMI Abdellah*	Biochimie chimie
Pr. CHADLI Mariama*	Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES
PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3. Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5. Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUAZZANI Lalla Chadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootechnie
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbes	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHI Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSI Med	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

** Enseignants Militaires*

Dédicaces

A

Ma Maman

Fanta Kéita

Qu'Allah t'ait en sa Miséricorde.

A

Mon Papa

Yaya Konaté

A

Ma Marâtre

Sali Konaté

A Mes petits frères

Abdoulaye Konaté

Bakary Konaté

A Ma petite sœur

Absita Konaté

A Mes demi-frères et sœurs

Soumana, Abi, Moussa, Balquissa , Karim.

A mes Tuteurs

Christophe Sama

Et la Famille Sama à Ouagadougou

Christophe Compaoré à Ouagadougou

Albert Koné à Dédougou

Brahima Konaté à Nouna

Zakaria Cissé à Nouna et à Dira

Yira Bakary

Et la Grande Famille Yira à Solenzo

Aux souvenirs de mes Maitres

Mes instituteurs à Dira: *Ferdinand Dembélé, Désiré Coulibaly, Adama Dao*

Mes Professeurs du lycée provincial de Solenzo :

Yacouba Traoré (j'aime pas ça), Philippe Ki, Jean Zan , J-B Boéma, Drissa Traoré,

Mes Professeurs du lycée provincial de Nouna : *Yacouba Traoré, Firmin Traoré, Golbert Traoré, Drissa Sanou (ken), Sidiké Cissé, Abdoulaye Barry, Robert (l'américain)*

Mes Professeurs du lycée municipal de Dédougou : *Siaka Coulibaly, Dofini Télémassé, Jocelin Compaoré, Kadéba, Gnoumou…*

Mes Professeurs de la Faculté des Sciences de Rabat : *S. Amzazi, H.Zaid, Tagzoutti, Bakri, Mlle Yassine, Zniber, Lefdil , Jirari…*

Mes Professeurs de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat : *Y. Cherrah, Y.Bensouda, J.Taoufiq, A. Laatiris, Chabraoui , Y.Bamou, Zoudhi, A.Agoumi, S.Mrani , Tellal, Ouzzif , Etaib, Mme Zellou, J. Lamsaouri, Benana, Masrar , Amimouni, P.Boiron (Monpellier) , R.Moulis (Toulouse)*

Mes Maitres de Stage :

Dr. Fadila Housseîni Laraqui (Pharmacie Michlifen)

Dr. Salim El Guermai (Laboratoires Pharmaceutiques Galenica)

Pr. Saad Mrani (Laboratoire de Virologie Hmim V-Rabat)

A mes Amis et mes Meilleures Connaissances :

Edouard Nikièma, Mohammed El Morhit, Amal Basma Mya Chikar, Salahudéen Aboubacar, Salvador Djiguemdé, Jean Luc Kaboré, Tahar Ouédraogo, Corine Foro, Walama Coulibaly, Rude Duarte , Alexis Nyomwungere, N.Zémané, Dr.S.Koalga , Dr . C .Malbila, Dr. I .Dindané , Dr. Y. Sandrine (marraine), G. Yé , A .Sawadogo ….

A Mes Promotionnaires : *Corine, Wana-ang Emmanuel, Jean Luc , Annah Razoariniarina, Elloit Lamptey, Alexis, Letitia, Noelle, Max , Josiane, Vitalis, Stéphane Teni, Fabrice , Ngozi, Betina.*

A la 22ème promotion des pharmaciens Lauréats de la fmpr 2008 « Promotion d'Exception «

Mes Sincères

Remerciements

A

Mon Maitre et Président de Jury

Monsieur **Mimoun ZOUHDI**

Professeur de Microbiologie

En acceptant de présider mon Jury de Thèse, vous me donnez une ultime chance et un grand honneur de bénéficier de vos expériences professionnelles qui ont constitué des pierres à l'édification de ma formation en Microbiologie pour un pharmacien bien fait. C'est une aubaine qui m'est offerte de vous témoigner mes reconnaissances les plus distinguées pour l'enseignement universitaire que j'ai reçu de votre part.

Merci, Cher Maitre.

A

Mon Maitre et Rapporteur de Thèse

Le Lt- Colonel **Saad MRANI**

Médecin Biologiste

Professeur Agrégé de Virologie, PhD

Je ne saurai vous remercier à la hauteur de vos actions très humaines, magnifiquement hors du commun à mon endroit. Ce fut une chance, aujourd'hui un grand honneur de vous avoir eu triplement comme Professeur, Maitre de Stage et Directeur de Thèse. J'apprends de vous et retiens pour toujours vôtre humanisme qui couronne en tout vos qualités professionnelles qui m'ont sans doute séduit. En voici le fruit : cette thèse qui à l'évidence me dépasse. En suivant vos directives si pédagogiques, je suis arrivé à la cerner et à la traiter. J'en suis heureux. Enfin d'un séjour au Maroc, j'aime dire fièrement que ma famille au Maroc ne serait nulle autre que le Laboratoire de Virologie du Pr Mrani. Vous avez érigé une grande famille autour de moi que je saurai oublier pour toujours.

Qu'Allah vous gratifie au centuple de bonnes actions.

Merci, Cher Maître.

A

Mon Maître et Juge de Thèse

Le Lt- Colonel **Abdelkader BELMEKKI**

Médecin Biologiste

Professeur d'Hématologie

En acceptant de siéger dans mon Jury de Thèse, c'est une nouvelle aubaine pour moi de bénéficier de vos connaissances et expériences professionnelles. J'en suis très honoré. Reconnaissez en ces mots l'expression de ma profonde considération.

Merci, Cher Maitre

A

Mon Maitre et Juge de Thèse

Le Lt- Colonel **Moncef RABHI**

Médecin Interniste

Professeur Agrégé de Médecine interne

Vous m'accordez un immense honneur en acceptant de siéger dans le Jury de ma soutenance de thèse. Je profite aussi de l'occasion pour vous remercier d'avoir grandement contribué par votre enseignement de la Médecine interne, à la formation de mes collègues médecins. Veuillez agréer mon plus profond respect et ma sincère reconnaissance.

Merci, Cher Maitre.

A

Mon Maitre et Juge de Thèse

Le Lt-Colonel **Aomar AGADR**

Médecin Pédiatre

Professeur Agrégé de Pédiatrie

Je vous suis très reconnaissant en acceptant de siéger dans mon jury de Thèse. Tout l'honneur me revient. Par cette note très laconique, veuillez agréer Cher Maitre l'expression de ma profonde admiration et surtout merci de consacrer votre professionnalisme à la formation des mes frères Médecins.

Merci, Cher Maitre.

Au

Dr. Hicham EL ANNAZ

Médecin Commandant Biologiste

En appuyant sur la dernière ponctuation de ce document, je n'en revenais pas, car en des moments où je sentais que tout s'écroulait autour de moi et sur moi, je puis parachever cette thèse qui constituera le sacre d'un parcours de 20 ans d'étude scolaire. Vous avez su me conduire avec subtilité et beaucoup de tendresse à travailler, ce sans le moindre sentiment de peine. Ce travail est le votre. C'est avec nostalgies qu'ici, fini mon bref safari avec vous dans le firmament du Vih. J'ai beaucoup appris avec vous sur le Vih et bien au-delà pour prendre des leçons de vertus et de civilité. Je vous souhaite de meilleures inspirations pour le colossal travail que vous battez. Vous avez l'assurance de mes meilleures reconnaissances, et pour toujours.

Merci pour Tout.

A

Mon Maitre et Professeur

Le Dr Sanae MAKRAM

Professeur Assistant en Pharmacologie

Je remercie d'avoir : participé activement à la réalisation de cette étude, objet de ma thèse de Pharmacie. Puissiez reconnaitre en ces mots l'expression de ma considération distinguée.

A

Mon Maitre et Professeur, le

Dr. Taoufiq DOBLALI

Pharmacien Capitaine Biologiste

Professeur Assistant en Microbiologie

Après m'avoir Enseigné les techniques de Virologie à ma 2ème année de Pharmacie, j'ai eu une seconde chance de pourvoir pratiqué ces théories avec vous au Laboratoire de Virologie de l'Hmim-V de Rabat. Le Savoir faire sans le Savoir être ne pouvant bénéficier nullement à un entourage humain, j'ai compris avec vous que par-dessus tout la considération humaine est essentielle. Il est vrai que l'Ampli Link® 3.2.2 m'a montré du rouge, mais aussitôt après c'est du vert que j'ai vu ; ce grâce à os entreprises et soutien moral sans relâche.

Merci pour tout ce que vous vous êtes fait pour moi.

Au

Dr. Bouchra BELEFQUIH,

Médecin Capitaine Biologiste

De la « petite sérologie » aux automates en passant par les fiches de virologie, j'ai découvert avec vous des virus qui ne m'auraient pas été enseignés, et pouvoir m'acquitter avec beaucoup de précision de l'ensemble des virus et des techniques que nous avons traité ensemble. Mais……..

Rien ne vous obligeait à passer pour une « assistante sociale » à mon égard. Ce mot n'est pas un diminutif, c'est une grandeur humaine qui ne s'enseigne pas et ne peut être achetée. Vous m'avez forgé à espérer, à garder la tête haute quoi qu'il advienne. Mais le mythique, c'est que j'en suis arrivé non pas par des mots convainquant mais par vos entreprises. Hélas, la solution n'est pas toujours au bout du chemin qu'on emprunte, elle peut nous y trouver à condition d'y aller. Vous m'y aviez conduit. Voilà ça y est. Les honneurs vous appartiennent, à moi le jus. Envers vous, une énorme dette morale ; je m'en souviendrai pour l'éternité.

Merci !

Au

Personnel du laboratoire de Virologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat, sans oublier l'infirmier Major M. Boussouga, Hicham, Ikram, Hind , Amina, Eddahmany, Mustapha, Najat, Zakia, Rabha, Rabia, Mounia, Naima …

Vous m'avez fait bénéficier de vos expériences professionnelles avec enthousiasme et sans fléchissement.

Vous m'avez donné toutes les conditions familiales.

Puisse le tout Puissant nous redonner de nouveaux retrouvailles.

Qu'Allah vous récompense.

A l'Ambassade du Burkina Faso au Maroc

A L'Agence Marocaine de Coopération Internationale

LISTE DES ABREVIATIONS, TABLEAUX ET FIGURES

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN: acide désoxyribonucléique

ADNc: ADN complémentaire

ANRS : agence nationale de recherches sur le SIDA et les hépatites virales

AP-1: activiting protein-1

APOBEC 3G: apolipoprotein mRNA editing enzyme catalytic polypeptide-like 3G

ARN: acide ribonucléique

ARNm: ARN messager

ARN Pol: ARN Polymérase

ARNsb+: ARN simple brin de polarité positive

ARNt: ARN de transfert

ARV: antirétroviraux

AZT: azidothymidine

BAF: barier to auto-integration factor

BHE: barrier hémato-encephalique

CA: capside

cART: combinaison antiretroviral

CCR2b: chemokine (C-C motif) Receptor 2

CCR5: chemokine (C-C motif) Receptor 5

CD: cluster of differentiation

CMH: complexe majeur d'histocompatibilité

cpz : chimpanzé

cpx: complex

CRF: recombinant circulating form

CXCR4: Chemokine (X-C motif) Receptor 4

DC-DESIGN: récepteur des lectines de type C

env: enveloppe

ESCRT: endosomal sorting complexes requiered for transport

gag: group-specific antigen

gp : glycoprotéine

gor: gorille

gsn : cercopithèque hocheur

HAART: higly active antiretroviral therapy

HMIMV: Hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Ranbat.

HPBP: human phosphate binding protein

HP68: ATP binding cellular protein 68

hRIP: human Rev Interacting Protein

ICAM: Inter-Cellular Adhesion Molecular

INNTI : inhibiteur non nucléotidique de la transcriptase inverse

INTI: inhibiteur nucléotide ou nucléosidique de la transcriptase inverse

IN : intégrase

IP : inhibiteur de la protéase

HTLV: Human T-Lymphotropic Virus

LAV: Lymphadenopathy Associated Virus

LEDF: lens epithelium derived growth factor

LNTP: long term non progressor

LT: Lymphocyte T

LTR: Long Terminal Repeat

MA: matrice

NC: Nucléocapside

Nef: negative factor

NES: Nuclear Export Signal

NF-kB: Nuclear Factor- kappa B

NLS: Nuclear Localisation Sequence

OMS: Organisation Mondiale de la Santé

ONU : Organisation des Nations Unies

ONUSIDA : programme commun des nations unies sur le VIH/SIDA

p: peptide

PBMC: Peripheral Blood Mononuclear Cell

PBS: Primer Binding Site

PCR: Polymerase Chain Reaction

Pol: Polymerase

PTT: Polypurine tract

PPTc: Polypurine Tact central

PR: protéase

PIC: Pre-Integration Complex

PR: protéase

P-TEFb : Positive-Transcription Elongation Factor b

Ptt: Pan troglodytes troglodytes

rcm: mangabey à tête rousse

Région R: Région Répétée

Région U3 : Région Unique en 3’

Région U5 : Région Unique en 5’

Rev: regulator of expression virion

RT/TI: Reverse Transcriptase/ Transcriptase Inverse

SAM: S-Adenosyl-Methionine

SIV: Simian Immunodeficiency Virus

SIVcpzPts: SIVcpz Pan troglodytes schweinfurthii

SIVcpzPtt: SIVcpz Pan troglodytes troglodytes

SIVmac: SIV du macaque

SIVgor: SIV du gorille

Skp1: S-phase kinase associated protein 1

smm : sooty mangabey

SNC: Système Nerveux Central

Sp1: Specific protein 1

TAR: Transactivation Responses element

Tat: Transactivator of transcription

Tsg101: Tumor susceptibility gene 101

TM: Trans Membranaire

TME: transmission mère-enfant

TNF: Tumor Necro Factor

Vif: Viral infectivity factor

VIH: Virus de l'Immunodéficience Humaine

Vpr: Viral protein r

Vpu : Viral protein u

Vpx : Viral protein x

URF : unique recombinant form

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : classification des lentivirus……...6

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Structure 3D du VIH……...…...5

Figure 2 : Structure schématique du VIH-1……8

Figure 3 : Organisation du génome du VIH-1……..10

Figure 4 : Les différentes hypothèses de l'évolution du SIV au VIH-1……...16

Figure 5 : Arbre phylogénétique des différents SIV et VIH…..…….……..18

Figure 6 : Pan troglodytes troglodytes (g)- Gorilla gorilla gorilla (dr) ……19

Figure 7: Habitat des chimpanzés et arbre phylogénétique du VIH-1……..19

Figure 8 : Habitat du mangabey enfumé et arbre phylogénétique du VIH-2……...20

Figure 9 : Mangabey enfumé (Cercocebus torquatus) et mangabey sooty ……..21

Figure 10: Adult and children estimated to be living with HIV in 2009……..24

Figure 11 : Schéma du cycle viral du VIH-1……30

Figure 12 : Mécanisme d'entrée du VIH-1 dans les cellules CD4…….……...31

Figure 13 : Etapes de la rétrotranscription…….....32

Figure 14 : Processus de l'intégration de l'ADN proviral……....34

Figure 15 : Arbre phylogénétique du VIH-1 et du VIH-2 – leur origine VIS……..40

Figure 16 : Représentation schématique de la diversité génomique du VIH-1……41

Figure 17: Représentation schématique de la diversité génomique du VIH-2 ……41

Figure 18 : Répartition dans le monde des principaux sous-types et CRF du VIH-1……...43

Figure 19 : Répartition en Afrique des principaux sous-types et CRF du VIH-1…….45

Figure 20: Position géographique du Maroc……54

Figure 21: Principe ELISA du dépistage du VIH ……...……...……...……...56

Figure 22 : Différents profils Western blot…….....57

Figure 23 : Schéma du principe de la PCR en temps réel…….59

Figure 24 : Interface du logiciel AMPLILINK®3.2.2. COBAC TaqMan®48…….60

Figure 25: Principales étapes de réalisation du génotypage du VIH-1……62

Figure 26 : Analyse du produit PCR Niché sur gel d'agarose…….....65

Figure 27 : séquenceur CEQ 2000 XL BECKMAN Coulter ……...69

Figure 28 : interface graphique du logiciel CEQ 8000 Investigator ……69

Figure 29 : Répartition des patients selon le sexe …….……...71

Figure 30 : Répartition des patients selon les tranches d'âge …….....71

Figure 31 : Répartition des patients selon l'état matrimonial …….……72

Figure 32 : Répartition des patients selon l'origine géographique …….. ……...72

Figure 33 : Répartition des patients selon leur stade clinique……..…….73

Figure 34 : Répartition des patients selon qu'ils soient sous ARV ou naïfs ……74

Figure 35 : Répartition des patients selon le taux de CD4+ ……75

Figure 36 : Répartition des patients selon la charge virale ……..75

Figure 37 : Arbre phylogénique à partir des séquences du gène de la RT ……...78

Figure 38 : Arbre phylogénique à partir des séquences du gène de la protéase ……....79

Figure 39 : Répartition des souches révélées par les séquences du gène de la RT ……..80

Figure 40 : Répartition des souches révélées par les séquences du gène de la PR ……..80

Figure 41 : Répartition des génotypes révélés par les séquences des gènes RT et PR ……81

Figure 42 : Répartition des souches VIH-1 chez les patients naïfs ……82

Figure 43 : Répartition des souches du VIH-1 chez les patients en échec thérapeutique …….....82

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION **1**

PARTIE THEORIQUE **3**

I. GENERALITES SUR LE VIH / SIDA **4**

1. Eléments de Taxonomie 5
2. Caractères virologiques du VIH 8
3. Découverte du VIH : circonstances et chronologie 14
4. Origines du VIH 16
5. Origines de l'épidémie du VIH/SIDA dans le monde 22
6. Le VIH/SIDA dans le monde et au Maroc 24
7. Physiopathologie du VIH 26

II.VARIABILITE ET DIVERSITE GENETIQUE DU VIH **36**

1. Mécanismes de la variabilité 37
2. Diversité génétique du VIH 40

III. EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DU VIH-1 ..... **42**

1. Epidémiologie moléculaire du VIH-1 dans le monde 43
2. Epidémiologie moléculaire du VIH-1 en Afrique. 44

IV.IMPACTS DE LA DIVERSITE GENETIQUE DU VIH **46**

1. Impact clinique : 47
2. Impact diagnostique 48
3. Impact thérapeutique 48
4. Impact épidémiologique 50
5. Impact vaccinal 50

PARTIE PRATIQUE **51**

I. PATIENTS ET METHODES **53**

1. PATIENTS 55
2. METHODES 56

2. 1. Sérologie virale 56

2. 2. Taux des LT CD4+ par cytométrie en flux 57

2.3. Charge virale par RT PCR en temps réel 58

2.4. Génotypage 61

II. RESULTATS **70**

1. Caractéristiques des patients 71

1.1. Caractéristiques anthropométriques 71
1.2. Caractéristiques cliniques et thérapeutiques 73
1. 3. Caractéristiques immunologiques et virologiques 75
2. Résultats du génotypage 76
III. DISCUSSION 83
1. Caractéristiques des patients 84
2. Diversité génétique du VIH-1 au Maroc 85
3. Emergence des sous-types non B du VIH-1 au Maroc 86
4. Origine des souches non-B du VIH-1 au Maroc 87
5. Origine du soustype B du VIH-1 au Maroc 88
6. Un nouvel inter-recombinant au Maroc : A1/CRF22_cpx 88
7. Conséquences de la variabilité génétique du VIH-1 au Maroc 89
8. Forces et limites de notre étude. 90
9. Perspectives : 91
CONCLUSION 92
RESUMES 92
ANNEXES 92
REFERENCES 92

INTRODUCTION

La diversité génétique et l'évolution du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) sont des facteurs importants influençant les aspects épidémiologiques de l'infection à VIH dans le monde, avec un impact certain sur les techniques de diagnostic, la thérapie antirétrovirale et la recherche de vaccin anti-VIH [1,2, 18, 33].

Le VIH-1 connait une variabilité génétique et une diversité génomique assorties de quatre groupes M, N, O et P, de neuf sous-types de A à K, de plus de 45 formes recombinantes circulantes (CRF), de plus de 200 uniques formes recombinantes (URF) et d'innombrables inter-recombinants.

L'épidémiologie moléculaire du VIH-1 de par le monde, révèle que toutes les souches se trouvent en Afrique Subsaharienne en général, l'Afrique Centrale en particulier avec une écrasante majorité de souches non-B, tandis que l'Europe Occidentale, l'Amérique du Nord , l'Australie et la Nouvelle Zélande sont dominés par le sous-type B ; l'Asie du Sud par le CRF01_AE, l'Inde par le sous-type C , la Chine par le B, C et B/C, l'Europe Orientale par le CRF03_AB et l'Amérique du Sud par le B et B/F et un foyer de sous-type C au Brésil [7,8,18, 36].

La répartition géographique des souches de VIH-1 est différente d'un continent à l'autre, d'une région continentale à l'autre. Au regard des mouvements de population dont l'immigration, le tourisme et les voyages internationaux, la carte moléculaire du VIH-1 n'est pas statique, elle est évolutive par l'intrusion de souches d'importation dans les régions où les mouvements de population transcontinentaux et inter-régionaux sont dynamiques [58, 59, 60 ,75].

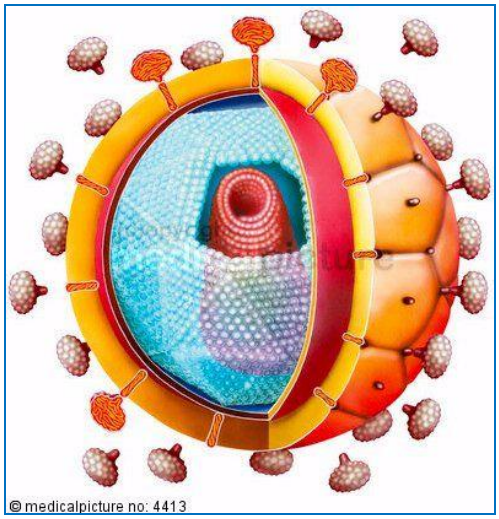
En l'occurrence, le Maroc présente une particularité : il entretien des relations séculaires avec le reste du monde, en particulier avec l'Afrique Subsaharienne (zone de forte endémicité du VIH) pour laquelle il sert de transit au flux migratoire clandestin des subsahariens à destination de l'Europe, il y a de cela plus d'une décennie.

Dans l'optique de contribuer à la connaissance de l'épidémiologie moléculaire des souches du VIH-1 au Maroc, nous entreprenons la présente étude réalisée chez des patients infectés par le VIH, diagnostiqués et suivis à l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V de Rabat. A travers notre cohorte et en comparaison avec des études similaires, nous espérons identifier les souches circulantes au Maroc, et discuter de leurs origines.

PARTIE THEORIQUE

I. GENERALITES SUR LE VIH / SIDA

1. Eléments de Taxonomie



Nom commun : Virus du SIDA

Nom taxonomique: Human Immunodeficiency Virus (HIV)

Types : HIV-1 et HIV-2

Famille : Retroviridae

Sous-famille : Orthoretrovirinae

Genre : Lentivirus

Figure 1 : Structure 3D du VIH.[70]

Le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) appartient à la Famille des Retroviridae et au genre lentivirus.

Les rétrovirus sont caractérisés par leur mode de réplication médiée par la présence de la rétrotranscriptase virale (RT) et de l'intégrase virale (IN) [1, 2,7] : la RT procède à la transcription inverse des deux brins d'ARN en ADN proviral et l'IN insère l'ADN proviral dans l'ADN de la cellule hôte. Les rétrovirus se subdivisent en trois (03) familles suivant leurs différences morphologiques et pathogéniques [1, 2,7].

- Les spumavirus : isolés chez un bon nombre de mammifères, ils ne sont associés à aucune pathologie connue à ce jour.
- Les oncovirus : ce sont les plus anciennement caractérisés. Ils comprennent cinq (05) groupes en fonctions des espèces infectées et de l'existence ou non d'oncogène dans leur séquence génomique. Appartiennent à cette sous-famille, les human T-Lymphotropic virus de type 1 (HTLV-1) et de type 2 (HTLV-2) qui furent identifiés chez l'homme en 1980.
- Les lentivirus : c'est la sous-famille à laquelle appartient le VIH.

Ce sont des rétrovirus non oncogéniques. Ils présentent un effet cytopathique (ECP) en culture cellulaire sur les cellules permissives dont les cellules mononuclées sanguines (PMBC : peripheral blood mononuclear cell) stimulées par la phytohémagglutinine [1,20], et un cycle productif lytique (ou létal) in vivo sur les lymphocytes T CD4+ principalement.

Les lentivirus infectent l'homme, les primates, les ongulés et les félidés. (Cf. **tableau I**). Le prototype des lentivirus reste le Visna maedivirus du mouton.

Tableau I : Classification des lentivirus .[1] (modifié)

Espèce de lentivirus	Espèce de hôte	Hôte	Pathologie
Visna maedivirus	**Ongulés**	Mouton	Pneumonie, Encéphalite
Caprine arthritis encephalitis virus (CAEV)		Chèvre	Arthrites, Encéphalites
Equine infectious anemia virus (EAV)		Cheval	Anémie
Bovine imunodeficiency virus(BIV)		Bœuf	Immunodéficience
Feline imunodeficiency virus (FIV)	**Félins**	Chat	Immunodéficience
Simian immunodeficiency virus Macacus rhesus (SIVmac)	**Primates**	Singe Macaque	SIDA
SIVagm (African green monkey)		Singe vert	Aucune
SIVsmm (sooty mangabey)		Mangabey	Aucune
SIVmnd (mandrill)		Mandrille	Aucune
SIVcpz (chimpanzé)		Chimpanzé	Aucune
VIH-1, HIV-2		Homme	SIDA

Les lentivirus humains VIH-1 et VIH-2 dérivent des Virus de l'Immunodéficience Simiens (VIS) des primates: le VIH-1 du groupe M et N est très proche du SIVcpz du chimpanzé, le VIH-1 du groupe O du SIVgor des gorilles et le VIH-2 quant à lui se rapproche davantage du SIVsmm du Mangabey [3, 7, 37].

D'après le tableau I, les singes à l'exception du macaque, ne développent pas le SIDA. Chez le singe vert, cette énigme s'explique par la tolérance acquise à l'infection VIH à la suite d'une longue période d'adaptions [19, 44]. Cependant en 2009, Pandrea and al affirment avoir

observé l'occurrence du SIDA chez le Chimpanzé, le Babouin et le Mangabey noir dans le parc national de Gombe, en Tanzanie [70]. Ils rapportent qu'au moins un cas d'immunodéficience avait été observé auparavant chez le Singe vert, le Mangabey enfumé et le Mandrille en captivité. Ils reconnaissent la rareté des cas du SIDA chez les singes et évoquent en cause la tolérance de l'infection VIH suggérée chez le singe vert par une réponse immunitaire précoce et brève, laissant croire que c'est plutôt la réponse immune chronique qui conduit à terme au SIDA [19, 70].

2. Caractères virologiques du VIH

Les virus de l'immunodéficience humaine VIH-1 et VIH-2 ont une taille de 80 à 120 nm de diamètre et présentent un corps excentré tronculaire et enveloppé. Des éléments les plus internes aux externes, le VIH est constitué comme suit :

- Deux ARN simples brins de polarité positive (ARNsb+) individualisés
- Deux nucléocapsides (NC) : p7/9 individualisant chacune un ARNsb+
- Une capside (CA) : p24 pour VIH-1, p26 pour VIH-2 ; contenant les deux nucléocapsides, l'intégrase (IN : p32) et la transcriptase inverse (TI : p66 ou p51)
- La matrice (MA) : p17 pour VIH-1, p16 pour VIH-2 ; contient la capside et la protéase virale (PR : p12).
- L'enveloppe virale ou péplos est une double couche de phospholipide
- Les glycoprotéines d'enveloppes (gp) :

La gp transmembranaire (TM) (gp41 pour VIH-1 et gp36 pour VIH-2) est ancrée sur la matrice (MA) et fixe à l'extérieur la gp120 pour VIH-1, ou la gp105 pour VIH-2. Voir la figure 1 ci-dessous.

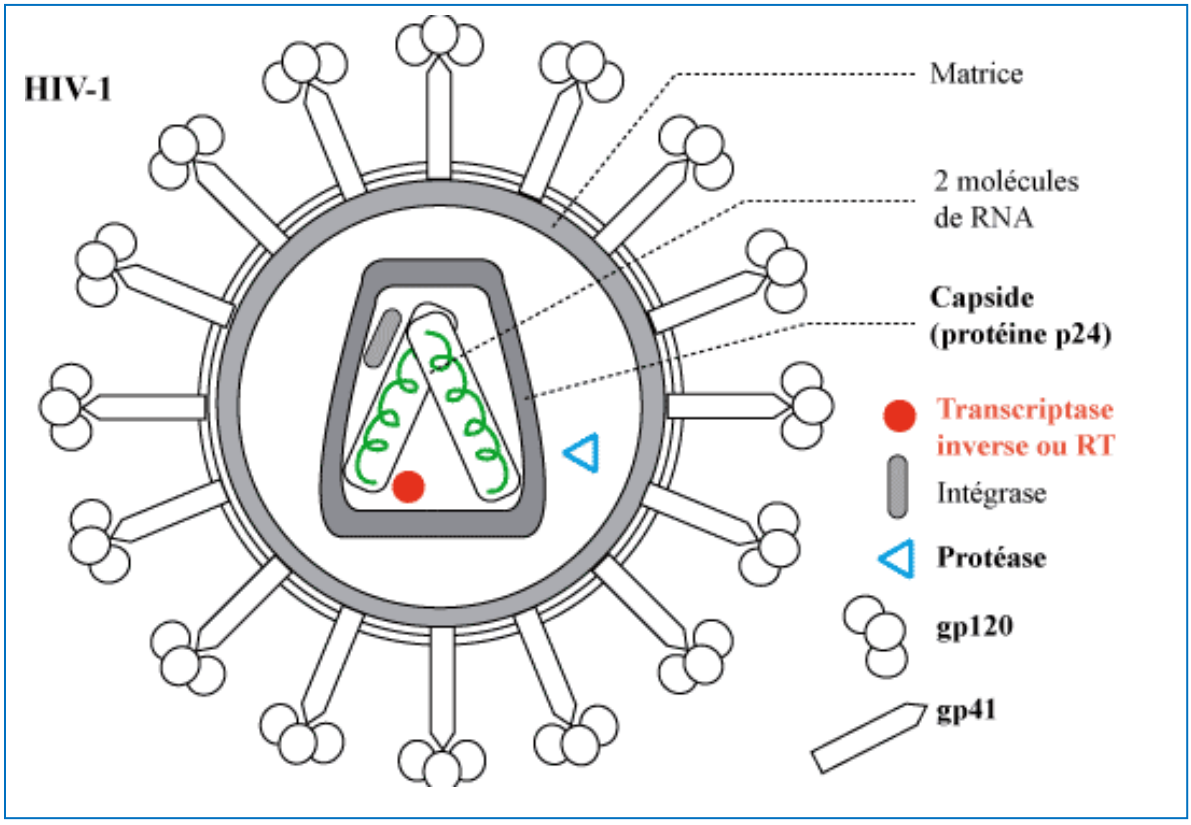


Figure 2: Structure schématique du VIH-1 (J-M. Huraux, Virologie, 2007)

2.1. L'enveloppe virale

Il dérive par bourgeonnement de la membrane cytoplasmique des cellules hôtes. Par conséquent, c'est une bicouche phospholipidique. Elle porte le complexe glycoprotéique transmembranaire (TM : gp41ou gp36) et la boucle V3 portée par la gp120. La V3 sert à l'attachement simultané du virus au récepteur CD4+ et à ses corécepteurs CCR5 ou CXR4. La gp 41 quant à elle induit la fusion-lyse de l'enveloppe virale à la membrane cellulaire permettant ainsi l'entrée du contenu virale dans le cytoplasme cellulaire. En l'absence de l'enveloppe, les VIH ne sont plus infectieux. La recherche d'anticorps neutralisant la V3 est une approche convoitée en la conception de futurs vaccins anti-HIV. Elle semble être peu variable d'une souche VIH à l'autre [19].

2.2. La matrice

Faite de protéines oligomérisées p17 ou p16, elle tapisse le feuillet interne de l'enveloppe virale. Structuralement, la matrice sert à l'ancrage du complexe gp 41 /gp120 dans l'enveloppe des virions en maturation. Par ailleurs son rôle est associé à l'import nucléaire (Haffar et al, 2000), donc étroitement associé à l'infectivité du VIH.

2.3. La capside

Sa forme conique est relative aux lentivirus. C'est un antigène d'intérêt (antigénémie p24/p26) dans le diagnostic des infections à VIH.

2.4. Les nucléocapsides (p8 ou p7)

Au nombre de deux (02), chacune contient un ARNsb+ et le protège des enzymes virales. Aussi, elle est essentielle dans l'assemblage des particules virales en fin de cycle.

2.5. Les protéines encapsulées

Elles interviennent dans le cycle viral où leurs rôles seront décrits. Entre autres on peut citer :

- Les protéines virales : la Transcriptase inverse (p66 ou p51), l'intégrase (p32), la protéase (p11ou p12), la protéine (p6), les peptides p1 et p2, les protéines régulatrices Vpr, Vif, Nef, Vpu pour VIH-1 et Vpx pour VIH-2.
- Les protéines d'origine cellulaire : ARNt synthétase, ARNt3lys, cyclophiline A, ibuquitine…

2.6. Le génome du VIH

D'une longueur d'environ 10 kilobases, l'ARNsb+ des VIH est flanqué aux extrémités 5' et 3' par des séquences redondantes non codantes appelées LTR (Long Terminal Repeat). Les LTR après rétrotranscription servent à l'intégration et à la transcription de l'ADN proviral. Le génome du VIH est constitué de neuf (09) gènes seulement : [19]

- Trois (0 3) gènes codent pour les protéines internes, les enzymes virales et les glycoprotéines d'enveloppe. Ils sont désignés env, gag, pol
- Six (06) gènes régulatrices tat, rev, vpr, vif, nef, vpu (VIH-1) ou vpx (VIH-2) voir la **figure 3** ci-dessous.

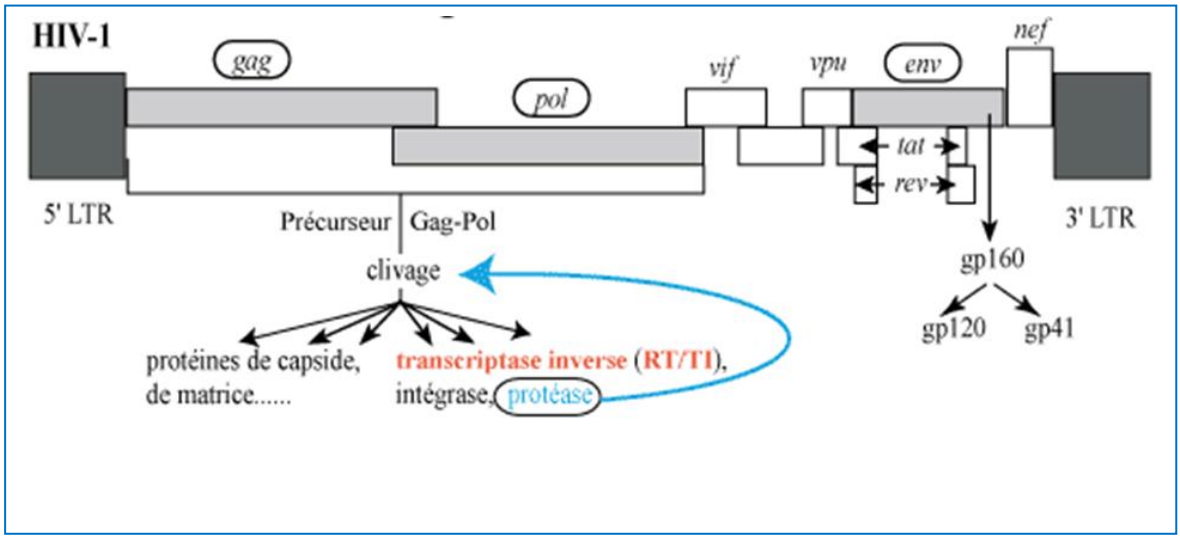


Figure 3 : Organisation du génome du VIH-1 (J-M Huraux, Virologie, 2007)

En dépit de la petite taille du génome du VIH-1, on remarque qu'il est d'une complexité édifiante marquée par son extrême variabilité génétique et sa grande diversité génomique (Cf. chapitre Variabilité et diversité génétique du VIH).

2.6.1. Les régions non codantes du génome VIH

Ces sont les LTR situés aux extrémités 5' et 3'.

2.6.1.1. 5'LTR

C'est une coiffe indispensable à l'intégrité de l'ARN VIH. Elle le protège des exonucléases cellulaires. Elle est subdivisée en trois domaines U3, R et U5.

- U3 : constitue la coiffe et protège les ARN des exonucléases cellulaires.

- R : pour repeat, d'une centaine de nucléotides, il contient une séquence TAR (Transactivation Reponse) qui fixe la protéine transactivatrice Tat (freng and Holland ,1988).

- U5 contient une séquence PBS (Primer Binding Site) de 18 nucléotides qui sert d'amorce à la fixation de l'ARNt3 lys cellulaire (Isel et al ,1993).

2.6.1.2. 3'LTR

Il contient les domaines suivants :

- U3 : contient un signal de polyadénylation AAUAAA permettant de stabiliser l'ARN du VIH (Valsmakis et al 1992).U3 après rétrotranscription sert d'amorce à des facteurs de transcription notamment AP-1, NF-kB, NF-AT, Sp1 (Van Lint et al 1997)
- R : domaine identique à celui de 5'LTR

2 .6.2. Les régions codantes du génome VIH

Ce sont les gènes env, gag, pol. Ils sont communs à tous les rétrovirus, tandis que les gènes régulateurs tat, rev, vpr, vif, nef et vpu ou vpx sont inconstants.

2.6.2.1. Le gène gag

Il code pour la synthèse d'un précurseur protéique Gag (p55), lequel sera autoclivé par la protéase virale (PR) en protéines structurales MA (p17 ou 16), CA (p24 ou 26), NC (p7 ou p9) (Henderson et al, 1990).

2.6.2.2. Le gène pol

Ce gène code à la suite du gène gag, la synthèse finale de la géante précurseuse protéine Gag-Pol (p180) dont l'autoclivage par la protéase virale libère les enzymes virales : IN (p32) PR (p12) et la RT (p66 ou 51) (Oroszland and Luftig, 1990). La transcriptase inverse procède aussi à une activité supplémentaire qu'est l'hydrolyse des matrices d'ARN ou activité RNAse H. Par ailleurs elle opère des transferts d'ADN afin de produire les deux (02) LTR. La RT est « une enzyme volage et incorrigiblement infidèle » [19]. Elle est pour beaucoup dans la diversité et la variabilité génétique du VIH.

2.6.2.3. Le gène env

Le gène env est rétrotranscrit, transcrit et traduit en précurseur protéine : gp160. Contrairement au Gag-Pol, le gp160 sera clivé par des protéases cellulaires en protéine

transmembranaire gp 41 ou gp 36 et gp 120 ou gp105. Ces glycoprotéines d'enveloppe sont essentielles à l'infectivité du VIH.

2.6.2.4. Le gène tat :

Ce gène code pour la protéine Tat (transactivator of transcription). Tat (p14) en se fixant sur TAR du 5'LTR induit le recrutement d'un complexe enzymatique dont les acétyles transférases conduisant à la modification de la chromatine au niveau du site d'intégration du provirus, le rendant ainsi accessible à la transcription. Tat régule de plus la polymérase II en recrutant P-TEFb (Transcription Elongation Factor-b) (Bres et al 2002), induit la production des cytokines, des effets neurotoxiques (Neri et al 2007), déclenche des messages d'apoptose (Poggi et Zocchi, 2006) à l'origine d'une des hypothèse de lyse des LT CD4 infectés. Le Tat, son cofacteur ainsi que son ligand TAR sont aujourd'hui des cibles pharmacologiques [11].

2.6.2.5. Le gène vpr :

Le gène vpr représente la séquence de la synthèse de la protéine Vpr (viral protein r p15). Celle-ci intervient à différentes étapes de la réplication virale : la rétrotranscription, le transport nucléaire de l'ADNc proviral, la transcription ainsi que la traduction chez les cellules infectées (Le Rouzic et Benichou, 2005) permissives représentées à 99% par les LT CD4.[20]

2.6.2.6. Le gène rev:

Représente la séquence génique de la protéine virale Rev (Regulator of expression virion). Cette protéine possède trois séquences fonctionnelles particulières en acides aminés : une séquence riche en Arginine(Arg.) qui reconnait les ARNm non épissés ou partiellement épissés appelée RRE (Rev-responsive element), une séquence riche en Leucine(Leu) qui n'est autre qu'un signal d'export nucléaire(NES) et enfin une séquence d'import nucléaire(NLS). Des cofacteurs cellulaires tels hRIP (human Rev interacting protein) (Sanchez-Vélar et al, 2004), CRM1 (Fukuda et al ,1997) sont indispensables à l'action du Rev.

Des modèles pharmacologiques anti-Rev, anti-Hrip et anti-CRM1 sont en cours d'essais [15, 19].

2.6.2.7. Le gène nef :

La protéinée Nef (Negative factor, p27) codée par le gène nef, intervient dans la propagation du virus et l'évolution de l'infection VIH vers le stade SIDA. Pour ce faire, Nef module la transduction des messages cellulaires activant la présentation des récepteurs CD4+ (Gracia and Miller, 1994), les molécules de CMHI et II (Schindler et al, 2003), les récepteurs des chimiokines (Michel et al, 2007). De plus, la protéine Nef induit des modifications lipidiques de la membrane des virions et les microdomaines de la cellule hôte à l'origine d'une augmentation éventuelle de l'infectivité des virions (Brugger et al. 2007).

2.6.2.8. Le Gène vif :

Il induit une production massive de protéine Vif (Viral infectivity factor) dans les cellules infectées. Le Vif assure la maturation efficace des virions, réduisant la production de virions défectueux. Il inhibe particulièrement l'APOBEC3 cellulaire, une famille de déaminases qui induisent une hypermutation de l'ADNc et qui brouillent l'ADN viral de mutations illisibles [19]. Vif intervient dans la démérisation de l'ARN VIH au cours des étapes précoces de la transcription inverse (Henriet et al. 2007).

2.6.2.9. Le gène vpu :

Le gène vpu code la synthèse de la protéine Vpu (Viral protein u) du VIH-1. Il est l'homologue du vpx chez le VIH-2. Le Vpu (p19) est un antagoniste de la tetherine, un facteur cellulaire qui agglutine les virions sur la membrane cellulaire et les empêche de se détacher **.[19]** Le Vpu stimule la dégradation des CD4 (Binette et al. 2007), déprime l'expression du CMH II (Hussain, 2007) et empêche le transfert de la gp160. Ceci aboutit à l'échappement immunitaire. Contrairement à la Vpu, la Vpx du VIH-2 activerait une réponse immune efficace, expliquant sa lente évolution pathologique **[19]**.

La protéine cellulaire TRIM5α de l'immunité innée est en évaluation (INSERM) dans l'optique qu'elle puisse contribuer à la résistance naturelle à l'infection VIH **[19].**

3. Découverte du VIH : circonstances et chronologie

Le 5 juin 1981, aux États-Unis, le CDC (Centers for Disease Control and Prevention) décrivait ce qui allait être les cinq premiers cas de SIDA chez des homosexuels [40]. Qualifié de « gay syndrome» à l'époque, la maladie se traduisait par une immunodéficience sévère accompagnée d'une pneumonie rare à Pneumocystis carinii (aujourd'hui Pneumocystis jiroveci). En France, le même symptôme est observé chez les patients hémophiles en 1982. Souleymane Mboup, médecin colonel de l'armée sénégalaise et son équipe de l'hôpital, le Dantec de Dakar ont été les premiers à décrire en 1985 des infections à VIH-2, une forme de VIH touchant essentiellement la population de l'Afrique de l'Ouest.

Le LAV-1 (Lymphadenopathy associated virus), renommé VIH-1 en 1986, est le premier virus isolé chez une française, observé au microscope électronique et associé au SIDA le 4 février 1983 par l'équipe du Professeur Luc MONTAGNIER, Françoise BARRE-SINOUSSI, Jean-Claude CHERMANN (Institut Pasteur de Paris) **[40]**. Les deux premiers chercheurs furent lauréats du Prix Nobel de Médecine et de Physiologie en Octobre 2008. Le seconde virus associé au SIDA a été isolé par l'équipe de Virologie de l'Hôpital Claude BERNARD de Paris sous la direction de Françoise BRUN-VEZINET et caractérisé par François CLAVEL de l'institut Pasteur comme VIH-2 en 1986. Le patient source du VIH-1 est français tandis que celui du VIH-2 est originaire des îles du Cap Vert **[38]**.

Le séquençage de LAV-1 a été achevé en 1985 (Wain Hobson et al, 1985), celui de HIV-2 en 1987 (Franchini et al, 1987).

Les premiers cas de VIH séropositifs avant l'ère du VIH/SIDA ont été diagnostiqués rétrospectivement sur des prélèvements conservés. Le plus ancien séropositif est un congolais diagnostiqué dans une cohorte de 2000 sérums prélevés en 1959 au Congo Belge (aujourd'hui République Démocratique du Congo) par le Dr J.Vandepitte aux temps forts de l'expérimentation du vaccin antipoliomyélitique CHAT® d'Hilary Koprowski **[45].** Les premiers cas de séropositifs au VIH-2 ont été diagnostiqués rétrospectivement en 1978 chez plusieurs patients portugais probablement exposés au virus dans les années 1960 **[39].**

En 1989, découverte du SIV40 (SIVcpzPtt) chez des chimpanzés, chose qui suscita l'origine simienne du VIH **[45,93].** En 1998 mis en évidence d'un premiers cas de SIVcpz ancêtre direct du VIH-1_N.**[8]** En Novembre 2006, fut découvert par Martine Peeters et Eric Delaporte le SIVgor, l'ancêtre du VIH-1 du groupe O (Outlier) chez les gorilles sauvages (Van

Heuverswyn et al. 2006). Le SIVmac (du macaque) qui n'est autre que le SIVsmm (du mangabey) fut isolé en 1985. Cette découverte conforta l'origine simienne du VIH-2 à sa découverte en 1986 [7, 8].

Selon les calculs complexes d'horloge moléculaire, Korber puis Wertheim ont estimé que l'ancêtre commun le plus récent (most recent comon ancestor ou MRCA) pour le VIH-1 groupe M serait entré dans la population humaine entre 1884 et 1924 [92], le MRCA du VIH du groupe O entre 1891-1940,[42] tandis que celui du VIH-1 groupe N aurait son origine dans la seconde moitié du XXe siècle [8]. Le VIH-2_A aurait apparu en 1940 avec un intervalle de confiance de 16 ans et le VIH-2_B en 1945 avec un intervalle de confiance de 14 ans [8, 41].

4. Origines du VIH

Grâce aux avancées techniques en sérologie, en génomique, le séquençage et l'analyse phylogénétique, l'origine du VIH n'est plus un mystère. Aujourd'hui les chercheurs s'accordent à dire que les virus de l'immunodéficience humaine VIH-1 et VIH-2, sont le résultat d'une myriade de transmissions inter-espèces des virus d'immunodéficience simienne (SIV) à l'Homme [7, 8, 19,20]. (cf. figure 4)

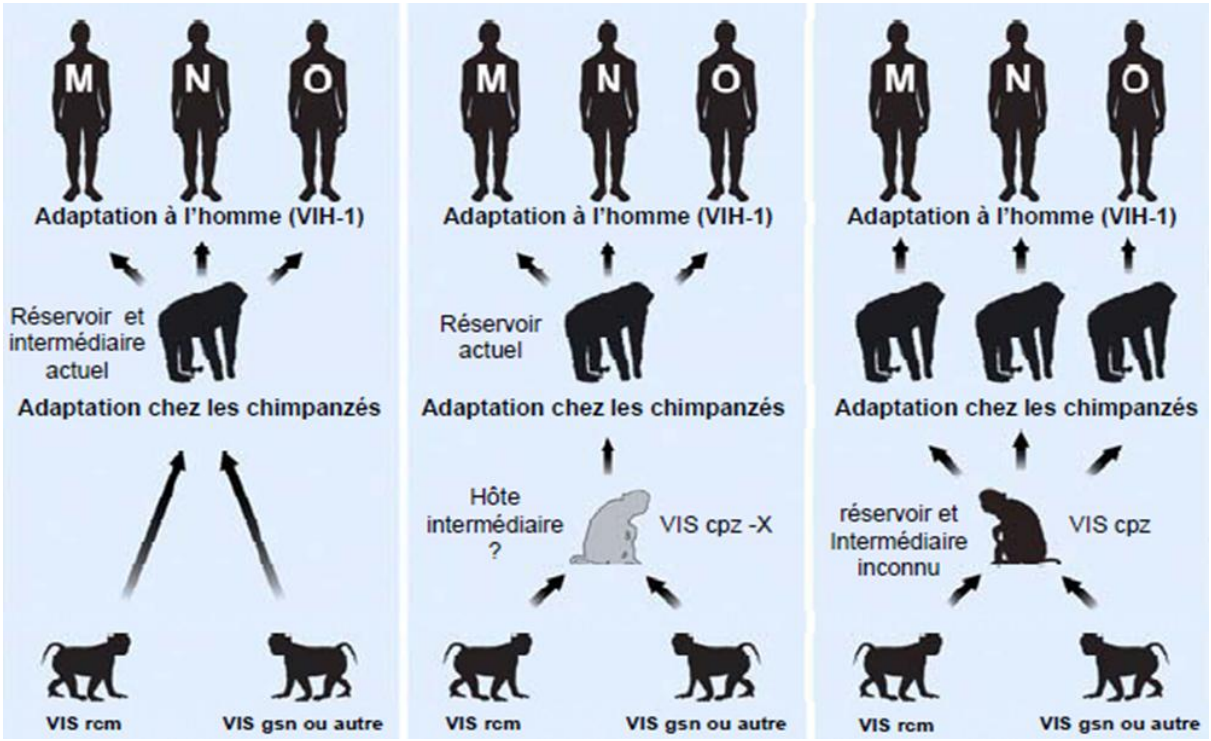


Figure 4: Les différentes hypothèses de l'évolution du SIV au VIH-1. Les singes constituent des réservoirs et des intermédiaires qui ont permis au virus d'évoluer jusqu'à devenir pathogène pour l'homme. rcm : mangabey à tête rousse ; gsn : cercopithèque hocheur ; cpz : chimpanzé (en captivité) [15].

Les preuves des transmissions inter-espèces des SIV à l'homme sont confortées par les similarités organisationnelles de leur génome aux VIH , les parentés phylogénétiques (cf. figure 5), la superposition géographique entre l'épicentre du VIH-1(Afrique équatoriale Ouest) et l'aire de répartition du chimpanzés (SIVcpz) et du gorille (SIVgor); le recouvrement du biotope du mangabey enfumé (SIVsmm) par l'aire originel du VIH-2 (Ouest Afrique) (Cf. figure 7 et figure 8) , la prévalence des SIV chez leurs hôtes naturels pouvant atteindre 50% et les hypothèses plausibles quant au mode de transmission [8,45].

4.1. **Les Virus de l'Immunodéficience Simien (SIV)**

Depuis l'isolement du VIH-1, du VIH-2 et du SIV40 (1er SIVcpz), la recherche génomique révèle de plus en plus une diversité génétique extrême des lentivirus des primates non-humains. La recherche sérologique des anti-SIV est positive chez 39 espèces de primates étudiés sur les 69 connues. Une confirmation moléculaire est disponible chez seulement 32 espèces. En 2008, seuls 19 SIV ont été séquencés laissant suggérer qu'il existerait des SIV à découvrir, surtout quand on sait qu'habituellement, chaque espèce de singe est infectée par un SIV qui lui est spécifique [50].

Dans la nomenclature génomique (figure 5) des VIS on distingue 06 grandes lignées génétiquement homogènes dont la lignée VIScpz (chimpanzés), VISsmm (mangabeys), VISagm (singes verts), VISsyk (singes sykes) [99], VISlhoest (cercopithèque de l'Hoest) et VIScol (colobe guéréza). Il est rapporté des VIS recombinants complexes comme VISagmSab, VISrcm, VISgsn, VISmnd-2 qui traduisent l'existence de flux de VIS entre les différentes espèces de singes. La présence ou non de vpu ou de vpx permet également de définir trois classes de VIS en fonction de leur organisation génomique [8] :

- VIS sans vpx ni vpu : VISagm, VISsyk, VISmnd-1, VISlhoest, VIScol, VIStal…
- VIS avec vpu : VIScpz, VISgsn, VISmon, VISden et VISmus
- VIS avec vpx : VISsm, VISrcm, VISdrl, VISmnd-2, VISagi, VISmac

En 2010, au moins 40 VIS étaient connues [7, 8]. SIVcpz est retrouvé chez deux des quatre sous-espèces de chimpanzé, chacune portant alors un sous-type SIVcpz : SIVcpzPtt chez la sous-espèce de chimpanzé Pan troglodytes troglodytes de l'Afrique centrale-Ouest et SIVcpzPts chez Pan troglodytes schweinfurthii de l'Afrique centrale-Est. Les sous-espèces Pt verus de l'Afrique de l'Ouest et le Pt vellerosus entre la rivière sanaga du Cameroun et la rivière cross du Nigeria ne portent aucun SIVcpz [7].

Les structures génomiques de ces VIS sont proches de celles du VIH [7, 8]. Il ne fait plus de doute que SIVcpzPtt soit l'ancêtre du VIH-1 du groupe M et N ; SIVgor (gorilles et chimpanzés) celui du VIH-1du groupe O et SIVsmm (mangabeys), le précurseur immédiat du VIH-2 [47]. Ces SIV après un long processus d'adaptation et de mutations successives au cours des multiples contaminations inter-espèces des centaines d'années durant ont finalement trouvé en l'Homme des cellules permissives (LT, macrophages, cellules dendritiques). La recombinaison génétique entre souches de SIV en co-infection chez les primates est un autre mécanisme de genèse de SIV capables d'infecter l'Homme. Le SIVcpz en est

l'exemple. La région 5' (gag, pol, vif, vpr) de son génome est très proche du SIVrcm (mangabey en captivité) alors que la région 3' (vpu, env, nef) est similaire au SIVgsn du hocheur [46]. Les trois groupes M, N, O du VIH-1 reflètent trois transmissions inter-espèces indépendantes des SIV à l'Homme [47].

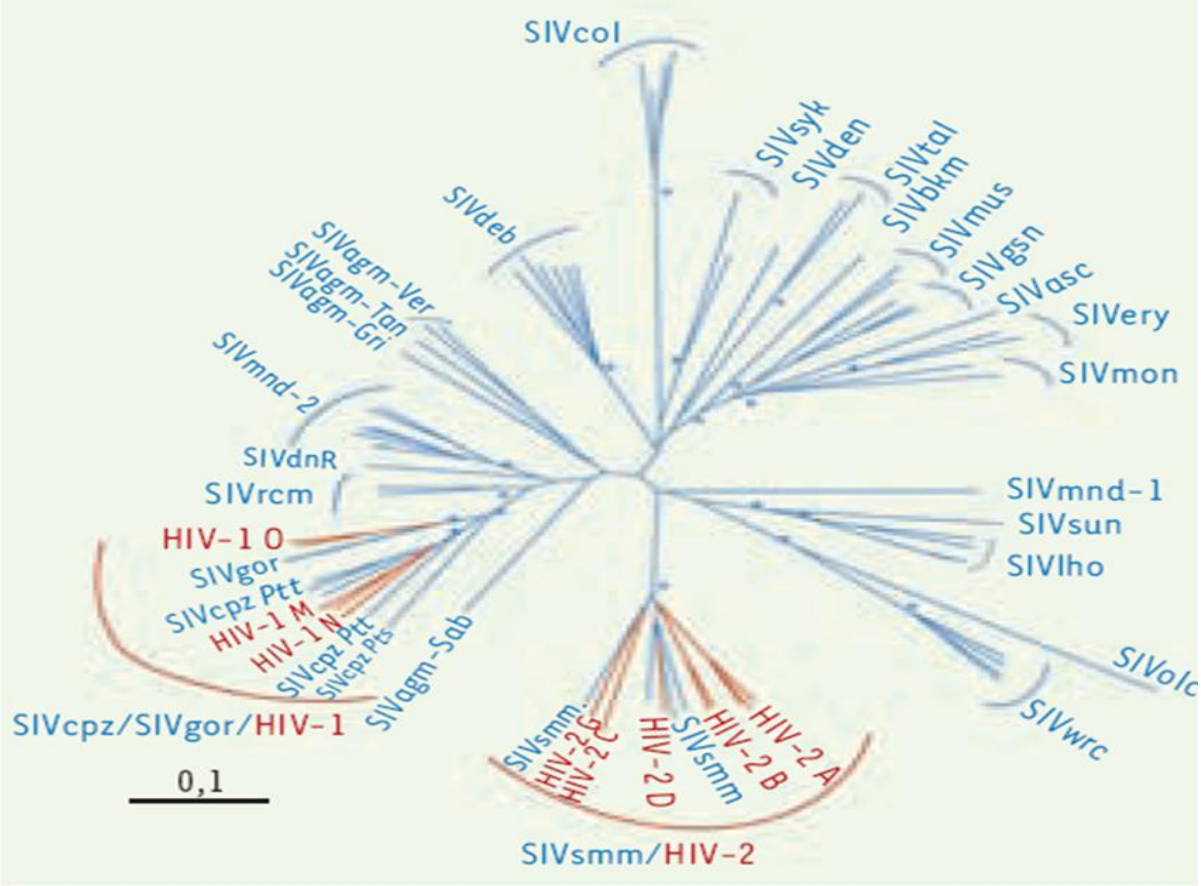


Figure 5: Arbre phylogénétique des différents SIV et VIH fondé sur les séquences du gène pol. L'arbre phylogénétique inclut 26 des 32 SIV infectant des primates non-humains et pour lesquels des séquences pol sont disponibles. Les isolats de HIV résultant de transmissions inter-espèces à partir de SIV sont indiqués en rouge sur l'arbre. Les astérisques (*) correspondent à des valeurs de bootstraps > 80% [7].

4.2. Origines du VIH-1_M et du VIH-1_N

La découverte des rares cas de VIH-1 du groupe N en 1994 a été la première preuve d'une transmission inter-espèce des VIS des chimpanzés à l'homme et de l'importance des mécanismes de recombinaison entre les diverses souches de lentivirus des primates [8]. C'est le SIVcpzPtt (Pan troglodytes troglodytes) qui a donné naissance au VIH-1 groupe M et N. SIVcpz et VIH-1 partagent 80 à 90% d'homologie de séquence nucléotique [1, 7,16]. De plus, l'épicentre du VIH-1_M et N est superposé à l'aire de répartition du chimpanzé de l'Ouest (figure 7).

4.3. Origines du VIH-1 O

L'ancêtre du VIH-1 du groupe O est le SIVgor. Il est retrouvé chez des gorilles de l'Ouest du Cameroun (Gorilla gorilla gorilla) (figure 6) et appartient à la même lignée que celui identifié chez les chimpanzés, le SIVcpz [13]. Il est admis que le chimpanzé soit le plus susceptible d'être le réservoir du SIVgor et qu'il l'aurait transmis au gorille. Mais le mystère persiste : les gorilles étant des herbivores, alors comment ont-ils été contaminés [49] ? Il reste tout de même à établir si le VIH-1_O a été transmis à l'homme par le chimpanzé et/ou par le gorille [2, 7,8].

Figure 6 : Pan troglodytes troglodytes (gauche) et Gorilla gorilla gorilla (droite)

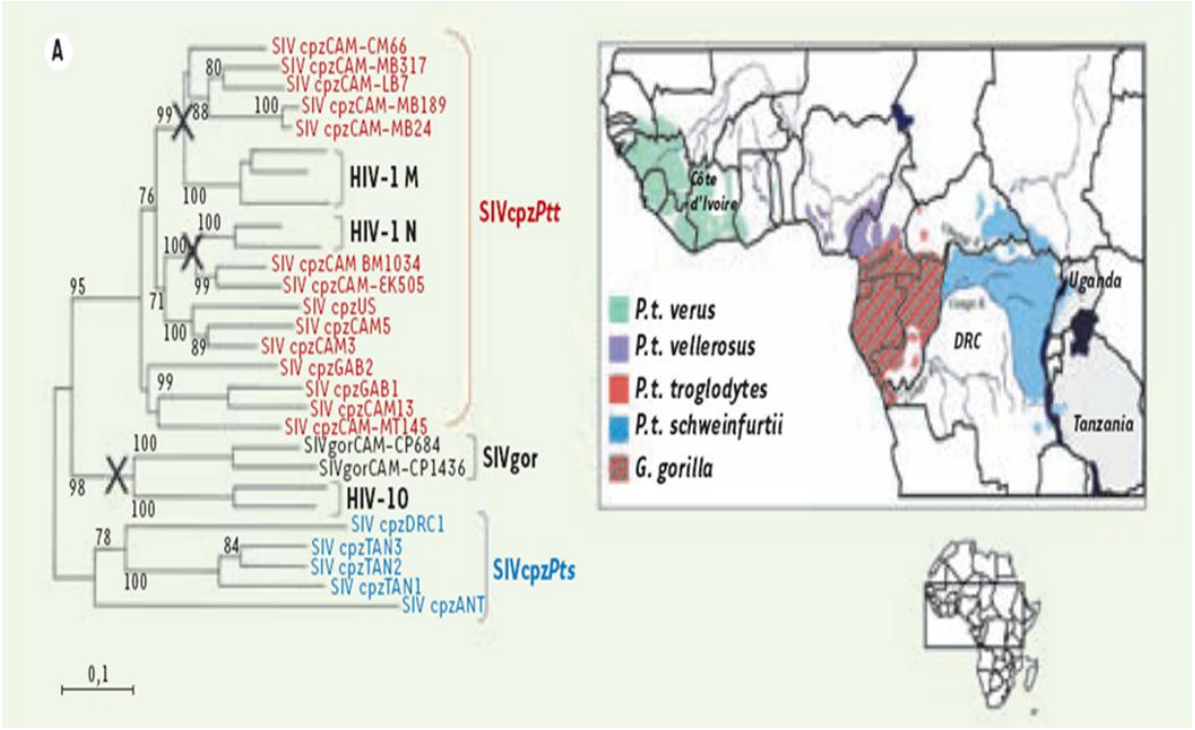


Figure 7: Habitat des singes. La carte géographique représente l'habitat des différentes sous-espèces de

chimpanzés ainsi que des gorilles. L'arbre phylogénétique illustre la proximité phylogénétique des séquences de VIH-1 groupe M et N avec les séquences de SIVcpzPtt ainsi que la proximité des séquences de SIVgor avec les séquences de VIH-1 groupe O. Les X représentent les 3 transmissions inter-espèces de virus SIV à l'homme [7].

4.4. Origine de VIH-1_P

Le VIH-1 du groupe P est le quatrième groupe de VIH-1 depuis Août 2009. D'après les chercheurs de l'institut pasteur du Cameroun qui l'on découvert chez une patiente camerounaise résidente en France depuis 2004, ce nouveau virus est étroitement lié au SIVgor et ne montre aucune preuve de recombinaison avec d'autres lignées du VIH-1 **[8, 12].**

4.5. Origines du VIH-2

SIVsmm reste l'ancêtre commun du SIVmac (macaque) et du VIH-2 avec lesquels ils partagent 80% d'homologie génomique **[1,7, 8]**. Les analyses phylogénétiques ont conduit à la conclusion que le VIH-2 est composé de huit groupes notés de A à H qui sont le reflet d'au moins huit transmissions inter-espèces des SIVsmm entre le mangabey enfumé (Sooty mangabey, figure 9) et l'Homme en Afrique de l'Ouest. SIVsmm possède le vpx spécifique au VIH-2 **[7, 8].** Il existe également une superposition totale des zones d'épidémies humaines à VIH-2 et simiennes à SIVsmm (figure 7). L'infection par VIH-2 étant endémique là où vivent les mangabeys et où ils sont chassés et pris comme animaux de compagnie **[7, 16].**

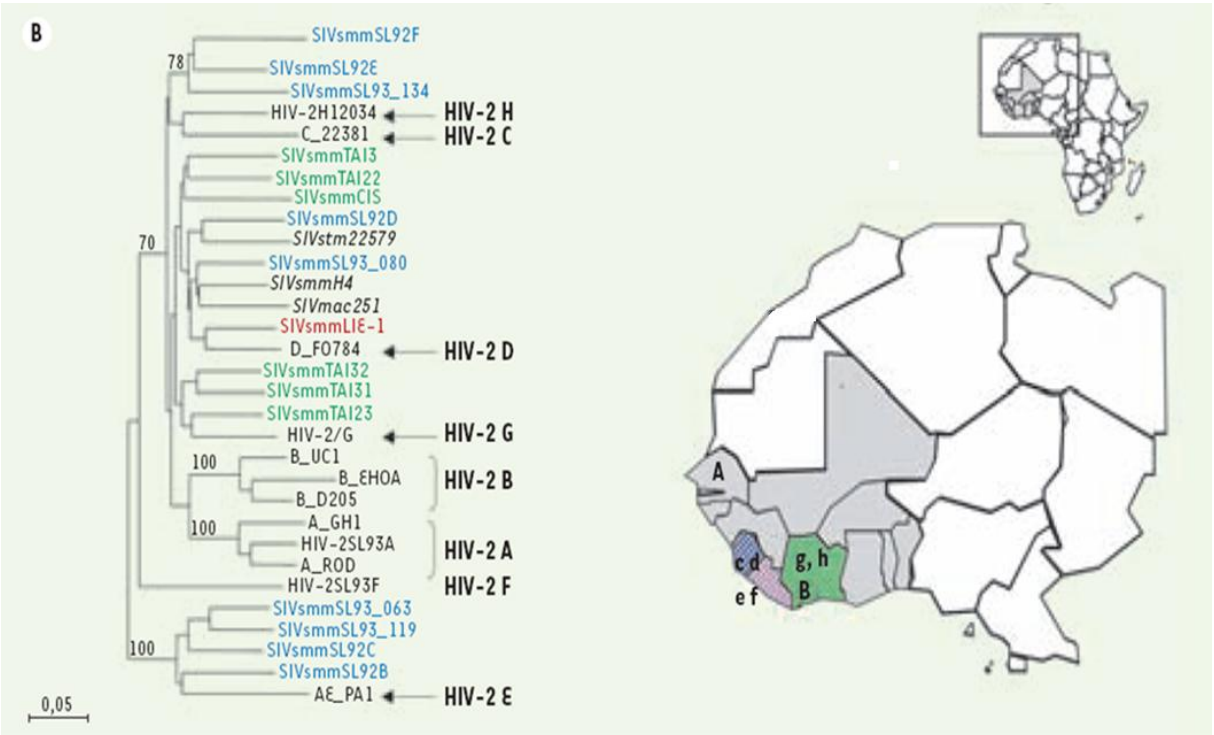


Figure 8 : La carte géographique représente l'habitat des singes mangabey enfumé (Cercocebus Atys). L'arbre

phylogénétique illustre la proximité phylogénétique des différents groupes de VIH-2 avec les séquences de SIVsmm [7].

Il est à noter que le VIH-2 est aussi confiné en Asie du Sud **[40].**

Figure 9 : Cercocebus torquatus et Sooty mangabey (enfumé)

4.6. Origines géographiques :

L'Afrique centrale en général, précisément le Nord-Est de la RDC et l'Ouganda pour le VIH-1 **[45],** l'Afrique de l'Ouest pour le VIH-2.

Aucun SIV n'est encore rencontré chez les primates asiatiques et du nouveau monde. C'est sur cet état de connaissance que la communauté scientifique se fonde à affirmer que l'Afrique sub-saharienne reste le berceau des SIV et des VIH et dont l'épicentre reste l'Ouest de l'Afrique Centrale précisément le Nord de la RDC et l'Ouganda pour le VIH-1 et l'Afrique de l'Ouest pour le VIH-2. Selon l'arbre phylogénétique établi par comparaison de plusieurs centaines de virus issus de différentes souches et l'horloge moléculaire, les scientifiques estiment que l'ancêtre commun du VIH-1 a dû apparaître en Afrique entre 1920 et 1930 **[1, 7, 45].**

Alors que la communauté scientifique s'accorde sur l'origine du VIH en dépit de l'inexactitude du mode de transmission du SIV à l'homme, le mystère persiste sur l'origine de la pandémie du SIDA, c'est-à-dire sa diffusion cosmopolite en si peu de temps **[7, 45].**

5. Origines de l'épidémie du VIH/SIDA dans le monde

Bien que le mode exact de transmission des SIV (SIVcpz, SIVgor, SIVsmm) à l'homme ne soit pas connu, l'exposition au sang ou aux secrétions des singes infectés et les morsures des primates captifs sont plus vraisemblables. Mais ces éventualités à l'origine de l'occurrence du VIH chez sont à distinguer de celles qui ont favorisé sa diffusion pandémique. Elles sont multifactorielles (comportementales, sociales, démographiques, environnementales).

Le scénario de la diffusion épidémique du VIH se défend comme suit : l'exode rural et le développement des villes devenues des mégalopoles, le déplacement des populations sous fond guerres tribales en Afrique ont permis une exposition grandissante de la population à la contamination interhumaine du VIH. La colonisation, relayée par la mondialisation avec son corollaire de mouvement massif des populations Sud-Sud, Nord-Sud tels les migrations clandestines ou légales , les voyages scolaires, le tourisme, les missions diplomatiques et militaire etc., sont autant de facteurs démographiques qui concourent à la diffusion de l'épidémie du VIH/SIDA à travers la planète. L'introduction des dispositifs médicaux invasifs, la transfusion sanguine, la vaccination, n'est pas en reste. Ces faits sont amplifiés par le plus vieux métier de l'humanité à savoir la prostitution, la délinquance sexuel, le viol, le commerce Sud-Nord du sexe, le tourisme sexuelle etc. La transmission sanguine s'est aussi effectuée par les objets tranchants souillés dans les pratiques coutumières telles la circoncision des jeunes garçons, l'excision des jeunes filles. Les lames de rasoir longtemps réutilisés à plusieurs fins par plus d'une tierce personne. La transmission mère-enfant (TME) aux heures où les traitements préventifs n'étaient encore recommandés.

De l'avis de certains chercheurs, cet argumentaire n'explique pas pourquoi le VIH serait apparu au XXème siècle vu que les africains chassent les chimpanzés depuis la nuit des temps, ce d'une part, d'autre part pourquoi le VIH a provoqué une telle pandémie en si peu de temps [45] **?**

On en revient au scandale des vaccins antipoliomyélitiques, affaire déjà classée par l'OMS en 2000. Un documentaire intitulé « Les origines du SIDA » sorti en 2003 relance le débat. On note avant toute chose que les quatre vaccins expérimentés à savoir l'injectable SALK® de Jonas Salk, les oraux TN® et CHAT® d'Hilary Koprowski et l'oral SABIN® d'Albert Sabin sont les premiers vaccins produits sur culture cellulaire de reins de singes (chimpanzés, singes verts et macaques). Jusqu'où ces vaccins peuvent-ils être blanchis de risque infectieux SIV?

SALK® est homologué le 27 février 1950 aux Etats Unis où 90 millions d'Américains seront vaccinés. Le 23 avril 1955, 260 enfants ayant reçu le vaccin injectable SALK® tombent malades, 11 d'entre eux meurent. Des lots de SALK® produits sur les reins de macaques étaient défectueux et contenaient encore du virus vivant. Est-ce les seuls virus polio?

TN® expérimenté aux USA sur une vingtaine d'enfant en 1950, ne sera pas homologué. Il lui sera préféré l'injectable SALK®.

CHAT® est le vaccin qui a le plus déchainé la polémique. D'abord en 1992 suite à une publication de Tom Curtis (Journaliste d'investigation) aux USA qui récuse Koprowski d'avoir cultivé son vaccin sur le singe vert d'Afrique qui était connu juste que là non porteur du SIV. En 1999, suite à la publication de « The River, A Journey to The Sources of HIV and Aids » où l'auteur Edward Hooper, ayant effectué 17 ans de recherche en Afrique, établit que le vaccin CHAT® serait à l'origine de la transmission des SIV à l'homme. Le CHAT® a servi à immuniser 2 millions d'enfants au Congo Belge, Rwanda, Burundi et en Ouganda entre 1958 et 1960.

SABIN® sera testé sur plus de 6 millions d'enfants en ex-URSS entre 1958 et 1960 et homologué au printemps 1960 pour le monde entier. Le vaccin SABIN® est aussi produit sur les reins de macaque.

N'est-il pas légitime d'émettre des soupçons sur la responsabilité sur ces vaccins, somme toute développés sur des reins de singes reconnus porteurs du SIV ? Cette thèse explique pourquoi le VIH est apparu dans les années 50 du XXème siècle, et pourquoi le monde entier est-il passé sous la pandémie en si peu de temps si le risque infectieux SIV était réel. Mais l'organisation mondiale de la santé (OMS) a fait paraître le 12 septembre 2000 une déclaration rejetant l'hypothèse selon laquelle un vaccin antipoliomyélitique expérimental a été à l'origine de la diffusion du VIH.

L'hypothèse la plus vraisemblable est que le VIH a existé dans la nature depuis très longtemps et que seule la large diffusion sous forme d'épidémie est nouvelle (Pr Luc Montagnier). Les facteurs de l'hôte, associés aux facteurs environnementaux, sociaux, démographiques, sont les principaux à jouer un rôle dans la diffusion d'un tel virus [51], les pratiques médicales (dispositifs médicaux, la transfusion sanguine surtout avant que le VIH en soit associé, chirurgie) ont été surement vectrices de la diffusion du VIH.

6. Le VIH/SIDA dans le monde et au Maroc

La pandémie à VIH a atteint ses chiffres historiques en 2008 avec 34 millions de séropositifs dans le monde.

Dans le rapport 2010 de l'ONUSIDA (figure 10), en 2009, 33.3 millions de personnes vivent avec le VIH dans le monde dont 22.5 millions en Afrique Subsaharienne. Au moins un quart des séropositifs du monde est Sud Africain.

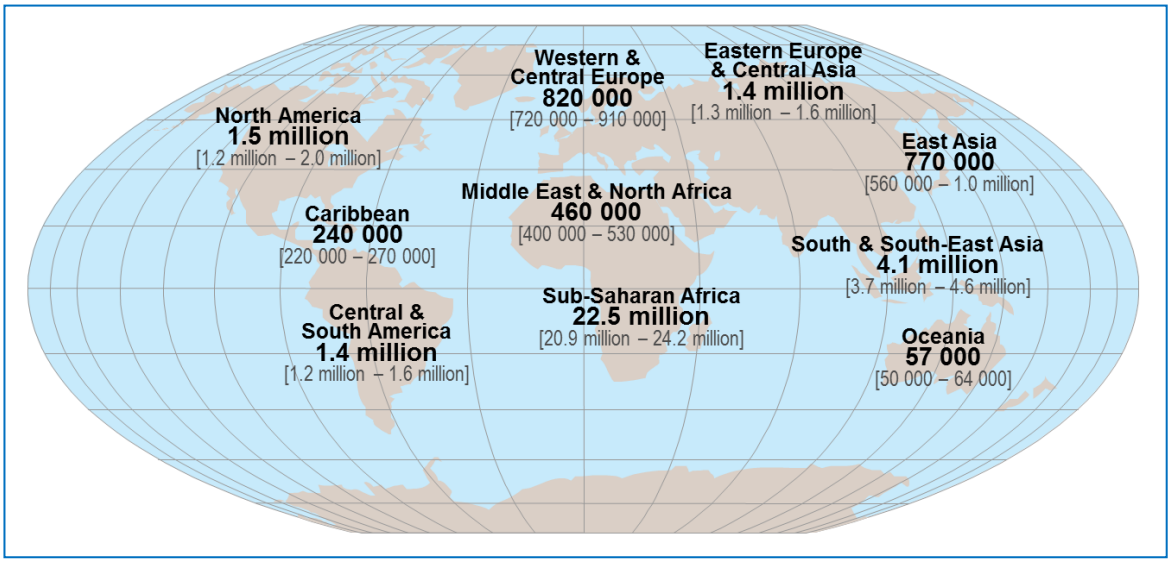


Figure 10: Adult and children estimated to be living with HIV in 2009: Total: 33.3 million [31.4 million – 35.3 millions] [73].

Au Maroc, selon le haut commissariat au plan, le nombre de personnes vivant avec le VIH a été estimé à près de 25.500 en 2009 et la prévalence du VIH dans la population à 0,11%. Selon les projections établies, cette prévalence restera très faible autour de 0,12% et relativement stable au cours des prochaines années.

Dans le monde, 7000 nouvelles infections sont enregistrées quotidiennement dont 97% dans les pays à ressources limitées, 1000 enfants âgés de moins de 15 ans. Des 6000 infections quotidiennes d'adultes, 51% sont des femmes [73].

Le SIDA, maladie infectieuse la plus mortelle du monde, a fait à ce jour plus de 27 millions de morts. On estime que chaque année 2 millions de personnes en meurent.

En 2008, la prévalence chez l'adulte est en dessous de 1% dans seulement six pays (Comores, Gambie, Madagascar, Mauritanie, Niger, Somalie), entre 1 et 5% dans 21 pays, entre 5 et 15% dans sept pays, et supérieure à 15% dans sept autres pays. Ces derniers sont tous en Afrique

australe (Namibie 15%, Zimbabwe 15%, Zambie 15%, Afrique du Sud 18%, Lesotho 23%, Botswana 24%, Swaziland 26%). Hors Afrique sub-saharienne, la prévalence moyenne ne dépasse 1% de la population adulte dans aucune autre région du monde, à l'exception des Caraïbes (1,1%) [74].

A la faveur des récents progrès en l'accès aux combinaisons de thérapie antirétrovirale (cART), le VIH n'est plus synonyme de condamnation à mort. En 2009, environ 5.2 millions de séropositifs ont eu accès à un traitement antirétroviral dans les pays à revenu faible et intermédiaire. Cela représente douze fois plus qu'en 2003. Malgré ces progrès, le taux de couverture par le traitement antirétroviral reste bas. Selon les nouvelles lignes directrices de l'OMS parues en 2010, le nombre de personnes nécessitant un traitement est passé de 10 à 15 millions.

Par ailleurs, l'échec thérapeutique demeure une autre préoccupation majeure. Il est à l'actif de la toxicité des ARV, les difficultés d'observance à long terme et l'émergence de VIH résistants aux ARV.

Si la prévalence semble stagner ou baisser légèrement depuis 2008, force est de constater que le nombre absolu de personnes vivant avec le VIH/SIDA augmente incessamment.

7. Physiopathologie du VIH

7.1. Voies d'entrée et modes de transmission du VIH

Trois modes de transmissions sont actuellement documentés :

7.1.1. Transmission sexuelle

Elle représente environ 70 à 80% des cas d'infections. Elle concerne aussi bien la voie hétérosexuelle qu'homosexuelle. Elle fait suite à l'effraction de la muqueuse vaginale chez la femme, anale chez les homosexuels, et à la lésion de la verge chez l'homme au cours des rapports sexuels. En 2010, l'équipe de Morgane Bromsel (ANRS), a mis évidence le rôle du prépuce dans l'acquisition de l'infection VIH, et que la circoncision la prévient dans une proportion de 60% [30]. En 2011, l'urètre est soupçonné d'être une nouvelle porte d'entrée du VIH-1 par l'équipe deY.Ganor (ANRS).Est indexée, une zone urétrale située à 2-3 cm du gland de fiable épaisseur et très richesse en macrophages [30].

7.1.2. La transmission par le sang

Elle advient en cas d'accident professionnel d'exposition au sang (AES 0.3%) de patient séropositif, la toxicomanie, l'usage multiple des objets tranchants souillés et la transfusion sanguine (avec un risque résiduel de 1/500 000) [15].

7.1.3. La transmission mère-enfant (TME)

Elle représente 90% des infections pédiatriques au VIH [24].

- In utéro **:** elle fait suite à des microlésions ou à l'amincissement du placenta et passage des trophoblastes infectés, ou relargage des virions dans le sang fœtal (Vidricaire and al. 2004).
- Pendant l'accouchement **:** le fœtus entre en contact avec les secrétions vaginales chargés de VIH. Cette TME est de 40% [24]. Ce risque est diminué de 50% par la césarienne avant le début du travail (Jamie et al. ,2007).
- Durant l'allaitement **:** le lait maternel est responsable de 40% de la TME [24]. Le VIH peut pénétrer les lésions intestinales ou être pris en transcytose par les entérocytes ou les cellules M des plaques de Peyer ou les amygdales (John Stewart et al. 2004).

7.2. Tropisme et cellules cibles

Après l'affranchissement des barrières naturelles, le VIH est pris et disséminés dans l'organisme par des cellules spécifiques. Les cellules du système immunitaire et du système nerveux central sont les cibles du VIH.

7.2.1. Tropisme cellulaire

Il se définie par la présence sur les cellules infectables des corécepteurs CXCR4 (récepteur α-chimiokines : SDF1), CCR5 (récepteurs de β-chimiokines : RANTES, MIP-1α, MIP-1β). Selon le tropisme receptoriel CCR5 ou CXCR4, on classe le VIH en souches X4 (ou souches lymphotropes), R5 (ou souches monocytotropes) et en souches X4/R5 (double tropisme, cas du sous-type D du VIH-1) [22]. Il existe d'autres corécepteurs de chimiokines CCR1, CCR2b, CCR3, Bonzo reconnus par des souches VIH [1]. Il est à noter que le VIH-1 est R5 (M-tropes) en primo-infection et deviennent X4 (L-tropes) en phase chronique. Des récepteurs alternatifs ont été décrits : les récepteurs de Mannose, DC-SIGN, Héparanes Sulfates, les Galactosylcéramide, les sulfatides. Par ailleurs, une délétion de 32 paires de base du gène codant le CCR5 conduit à un corécepteur non fonctionnel. Les individus homozygotes sont résistants en majorité à l'infection VIH, les hétérozygotes ont une évolution lente vers le SIDA [1, 15]. Des mutations dans le gène du CCR2 et du promoteur du gène CCR5 auraient des influences sur la pathologie à VIH [1]. Dans la population caucasienne, 1% sont homozygotes et 10 à 20% sont hétérozygotes [1]. Les corécepteurs sont une approche pharmacologique dont le deuxième antagoniste du CCR5 le Cénicriviroc est en phase clinique.

7.2.2. Les cellules cibles

Après l'affranchissement des barrières organiques, les virus sont capturés par les cellules cibles dont celles du système immunitaire(SI) et du système nerveux central (SNC).

7.2.2.1. Les cellules du système immunitaire

- **Les cellules dendritiques**

Elles portent le DC-SIGN (Wu and al. 2006). Elles sont incrustées dans les muqueuses et constituent par ailleurs l'élément architectural des follicules lymphoïdes. Après avoir internalisé le VIH, elles migrent vers les ganglions et autres organes lymphoïdes et trans-infectent les cellules lymphoïdes (Turville and al. 2004). Elles sont capables de répliquer

abondamment les virions. Dans l'amorçage du stade SIDA, les follicules dendritiques sont détruits induisant l'atrophie des formations lymphoïdes.

- **Lymphocytes T CD4+ :**

C'est la principale cible du VIH. Ils assurant 90% de la réplication virale. La chute du taux des T CD4+ sous 200/mm^3 (normale : 1000/mm^3) marque l'atteinte du SIDA **[20].** En 2009, Il est établi que l'infection par le VIH-1 détruit rapidement la majorité des lymphocytes T mémoires CD4/CXR4 et spécialement ceux résidant au niveau des muqueuses **[21].**

- **Lymphocytes T CD8+ :**

Les CD8+ augmentent parallèlement à la baisse des CD4+ durant la primo-infection. Ils sont porteurs du CXCR4, mais sont très peu infectés par le VIH. Ils détruisent les cellules infectés grâce aux perforines ou par apoptose induit par Fas-Fasligand (Zerhouni et al. 2004).

- **Lymphocytes B**

Ils ne portent aucun CD4. Ils expriment peu de CXCR4. L'ADN viral n'est pas intégré dans leur génome cellulaire (Moir et al. 2000).

- **Les monocytes et macrophages**

Le système monocyte-macrophage constitue un énorme réservoir de virus très supérieur à la faible virémie de la période de latence clinique de l'infection VIH **[20].** Les monocytes et les macrophages sont porteurs des CD4/CCR5, CXR4, Gal-Cer, Héparanes sulfates, DC-SIGN. En plus du rôle réservoir, les monocytes et macrophages assurent la dissémination virale dans le SNC où ils libèrent le glutamate, des substances neurotoxiques, Ntox, Tat, Vpr conduisant à la mort neuronale (Sabbah et Roques. 2005).

7.2.2.2. Les cellules du système nerveux central

Deuxième grande cible des VIH, le SNC est infecté précocement au cours de la séroconversion, il est inaccessible au HAART (Barber et al. 2006). Les cellules infectées sont celles de la microglie, les astrocytes et les oligodendrocytes et non les neurones.

- **Les cellules macrogliales**

Ce sont les macrophages résidants du SNC. Ils constituent les principales cibles du VIH. Ils sont porteurs des CD4/CCR5, CCR2b, CX3CR1…Suite à leur infection, les macrogliales produisent des cytokines, neurotoxines, Tat, gp120, gp41 etc.

- **Astrocytes**

Ils assurent l'étanchéité de la BHE. Dépourvu de CD4, mais porteurs des CCR5, DC-SIGN. Leur faible teneur en Sam68, un cofacteur du Rev indispensable à l'entrée cellulaire du VIH fait que leur infection reste faible (Li and al. 2002). Stimulés, ils produisent excessivement le glutamate, l'acide aminé excitateur des neurones.

- **Oligodendrocytes**

Leur infection bien que rare, conduit à une déplétion de la production de la myéline. Ils sont porteurs de Galactosylcéramides et de protéoglycanes comme récepteur du VIH.

- **Neurones**

Dépourvus de CD4, seuls les corécepteurs ont été mis en évidence. L'infection ou non des neurones par le VIH est controversée en dépit de la mise en évidence l'ADN virale intra-neuronal par Canto-Nogues en 2005 [15]. Il demeure que l'infection neuronale est improductive. Les neurones meurent suite à une excitoxicité induite par la surexcitation du glutamate massivement libérée par les astrocytes infectés, étiologie de la « démence du SIDA ».

7.3. Cycle viral

La réplication du VIH se résume en deux étapes principales : la phase pré-intégrative allant de la fixation du virus à l'intégration de l'ADN viral et la phase post-intégration qui va de la transcription de l'ADN proviral au bourgeonnement des virions et à leur maturation.

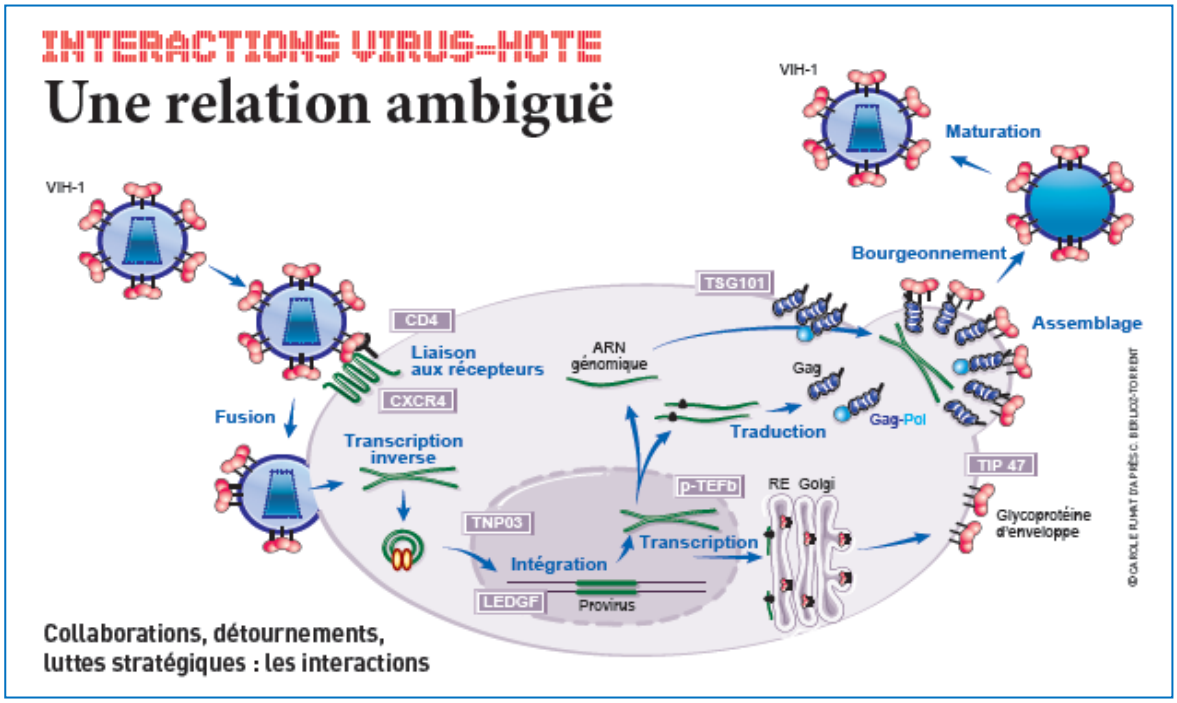


Figure 11 : Schéma du cycle viral du VIH-1[19].

7.2.1. La phase pré-intégrative

- **L'attachement du virus**

Il se fait par le gp 120 pour le VIH-1 et le gp105 pour le VIH-2 au CD4 ou aux récepteurs alternatifs. Il s'ensuit une modification de la conformation de la sous unité (SU) avec déplacement du site de fixation vers les corécepteurs CCR5 ou CXCR4. Des facteurs cellulaires d'attachement interviennent pour favoriser la fixation et ultérieurement la fusion : Cyclophiline, Héparanes sulfates, les molécules d'adhésion I-CAM, LFA.

- **La fusion**

A la suite de la formation du complexe de fixation, des réactions chimiques complexes font rétracter la gp41 ou gp38 sur la membrane cellulaire, son insertion dans la membrane

cellulaire, suivie de la formation d'un port transmembranaire, fusion des membranes cellulaire et virale et entrée de la capside virale dans le cytoplasme cellulaire.

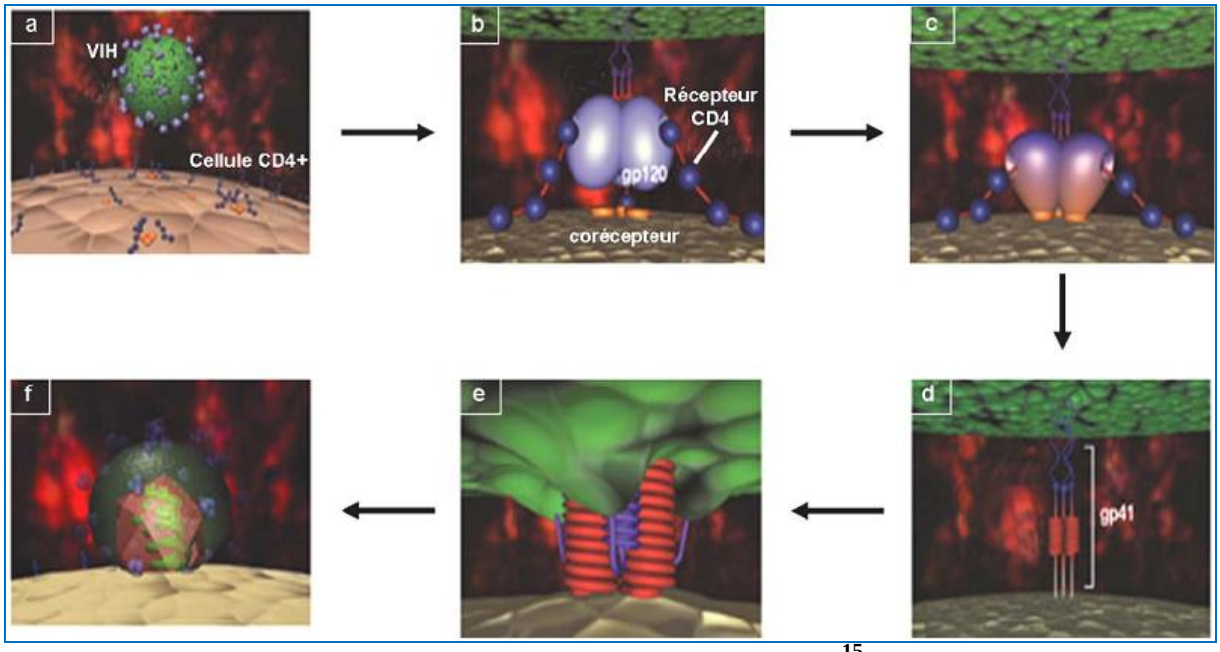


Figure 12 : Mécanisme d'entrée du VIH-1 dans les cellules CD4/Corécepteur [15].

- **Rétrotranscription**

Elle a désormais lieu dans la capside virale (Mc Donald et al. 2002). En 2007, Warrilow a montré que la décapsidation n'est pas nécessaire à la rétrotranscription et Archel a mis évidence la même année, la rétrotranscription dans la capside virale [15].

La rétrotranscription débute par la fixation de l'ARNt3lys viral sur le PBS du 5'LTR de l'ARN viral, l'adjonction de la RT et la synthèse du brin complémentaire du U5-R LTR5'. On obtient un brin ARNt3lys-u5-r appelé ADN 5(-) Strong Stop. Celui-ci va se détacher et se fixer sur R-LTR3' et synthétise le brin complémentaire de l'ARN dépourvue de U5R-LTR hydrolysé par la RT. Il se forme ARNt3lys-u5-r-u3-ppt-pptc-pbs. La RNAse H dégrade le bin ARN matrice libérant les amorces PPTc et PPt. Ces amorces se fixent complémentairement sur ARNt3lys-u5-r-u3-ppt-pptc-pbs. PPTc sert à la synthèse de D+ tandis que PPt sert à la polymérisation de l'U+. L'hydrolyse de l'ARNt3lys entraine la cyclisation de la matrice d'ADN sur laquelle est fixé D+ et U+. La polymérisation de D+ et d'U+ se poursuit parallèlement. Il se forme un fragment ADN de recouvrement appelé ADN Flap (Cf.figure13).

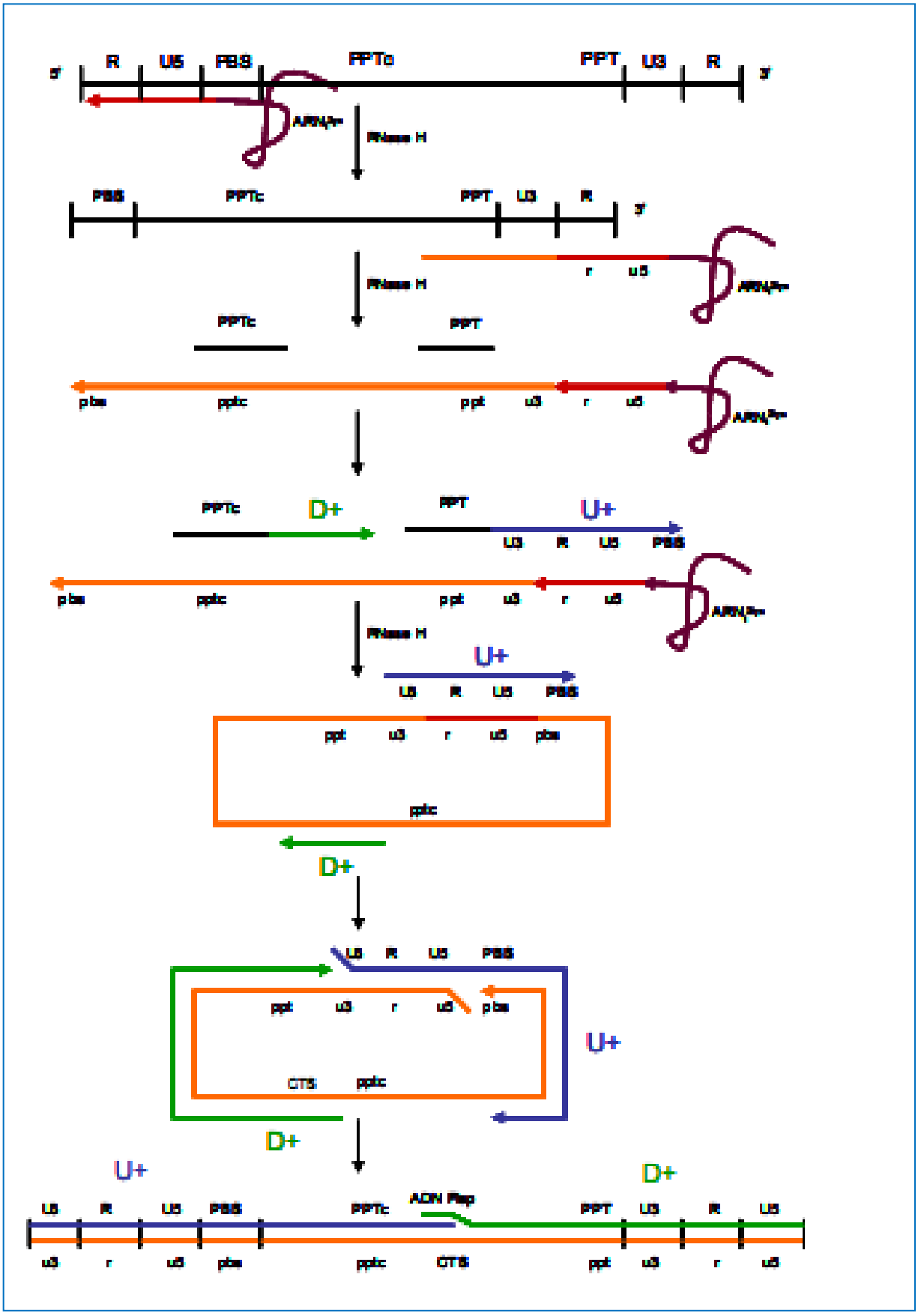


Figure 13 : Etapes de la rétrotranscription [15].

Une latence pré-intégrative est observée dans certains lymphocytes CD4 en cas de déficit de nucléotides dans la capside virale ou si celle-ci contient l'APOBEC3**.**

- **Décapsidation**

Après la formation de l'ADN Flap, ou l'arrêt de la RT, le réarrangement du complexe de transcriptase inverse induit la destruction de la capside virale, et libération de l'ADN viral. (Arhel et al.2007).

- **L'import nucléaire de l'ADN viral**

Il nécessite la formation du complexe pré-intégrative composé de l'ADN –Flap, des protéines de la matrice, de la nucléocapside, de l'intégrase, Vpr qui interagissent avec des pores nucléaires actifs (importine). Le Vpr (Nitahara et al .2007), le p17 (Haffar et al.2000) se lie à l'importine α et l'importine-β dirige le PIC vers le noyau. En 2010 il a été mis évidence la protéine TNP03 qui participe à l'import nucléaire de l'ADN viral [19]**.**

- **L'intégration nucléaire de l'ADN viral**

Dans un premier temps l'intégrase détache de l'ADN-Flap, un dinucléotide GT sur 3'LTR des deux brins d'ADN libérant 3'OH-LTR. Ceci a lieu dans le cytoplasme. En deuxième lieu, il s'ensuit une trans-estérification des 3'OH-LTR, suivie d'une attaque nucléophile de l'ADN cellulaire, incision d'une séquence double brin de l'ADN cellulaire et insertion de l'ADN proviral. Une dernière étape consiste en la réparation du site d'intégration avec insertion des nucléotides manquants. En 2009, le rôle du LEDGF/p75 (Lens epithelium derived growth factor /p75) a été déterminé. Ce dimère cofacteur interagit avec l'intégrase virale et l'ADN viral pour déterminer le meilleur site d'intégration dans l'ADN cellulaire [19,29]**,** sur 524 sites possibles transcriptionnellement actifs. Il arrive aussi qu'elle se fasse dans l'hétérochromatine (Jordan and al. 2003). Le rôle des facteurs cellulaires de l'intégration HMG-I et BAF (barrier to auto-intégration factor) reste à préciser.

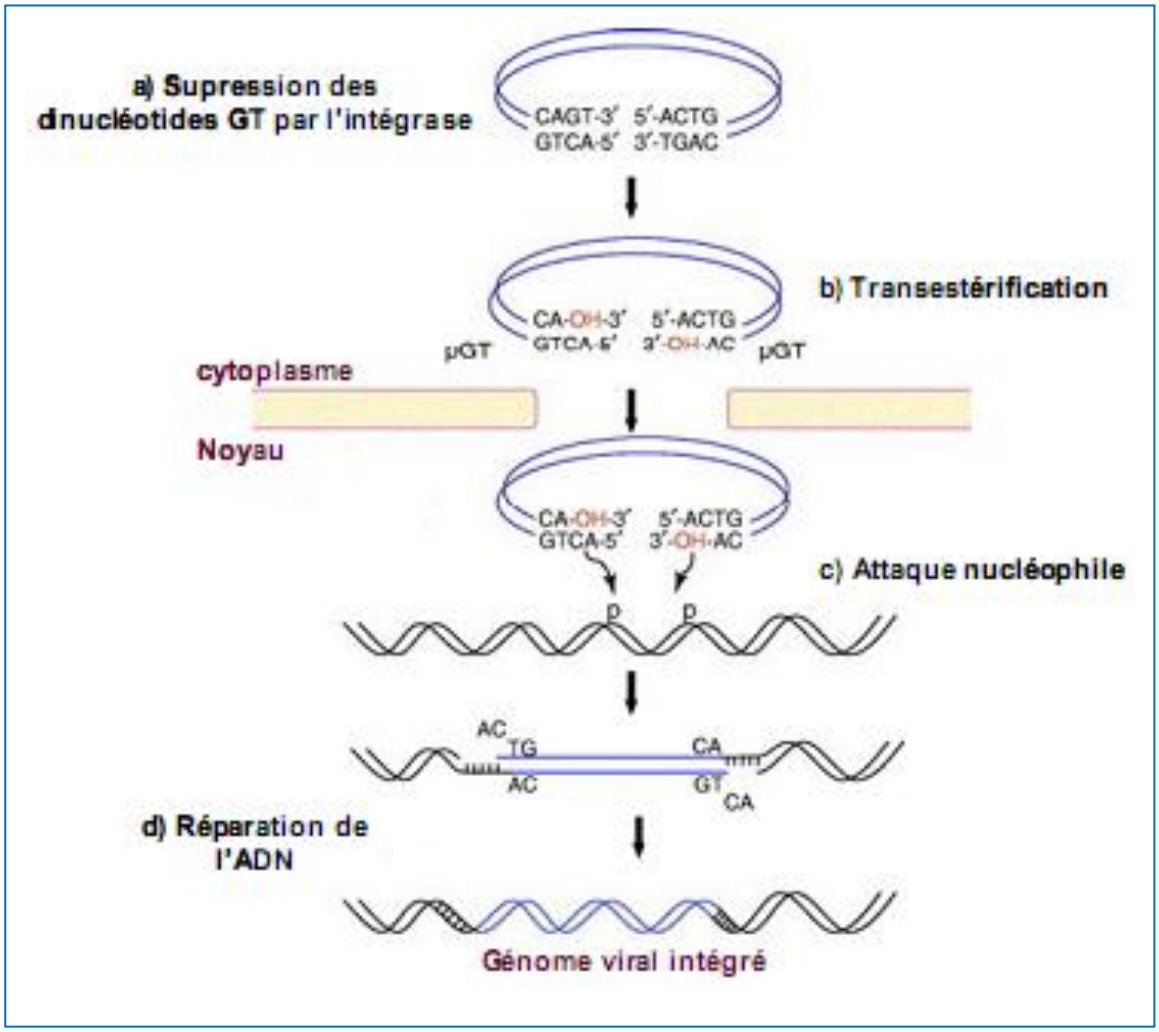


Figure 14 : Processus de l'intégration [15].

7.3.2. La phase post intégrative

Elle se compose des étapes suivantes :

- **La transcription des gènes viraux**

Elle fait intervenir en premier les facteurs cellulaires et l'ADN polymérase cellulaire. Ultérieurement les facteurs viraux dont la Tat viennent amplifier le mécanisme. p-TEFb s'associe à la protéine virale Tat pour augmenter l'élongation de la transcription et rendre explosive la transcription virale [19]. Le transcrit sert d'ARNm ou d'ARN génomique après épissages.

- **La traduction des gènes viraux**

Les ribosomes traduisent les ARNm en protéines virales Gag-Pol, Env.

- **Assemblage – bourgeonnement des virions**

Ici le précurseur Gag joue un rôle central**.** En substance, il possède trois domaines fonctionnels protéique M, I et L. M (Myristoylé) est le point d'encrage à la membrane cellulaire ; I, le point de multimérisation de Gag et d'attachement de l'ARN viral ; L utilise le TSG101 et la machinerie cellulaire ESCRT (endosomal sorting complexes requiered for transport) pour faciliter le bourgeonnement et le détachement des virions néoformés [19]**.** Précédemment un complexe de pré-assemblage réuni le Vif, le Vpr et des protéines cellulaires dont HP68 (ATP binding protein), APOBEC3 G, TSG101, qui est alors transporté à la membrane plasmique et parfois MBV pour achever l'assemblage [15]**.** La protéine TIP47 favorise l'association de la glycoprotéine virale Env au précurseur Gag pour rendre le virion infectieux [19]**.**

- **Maturation des virions en virus infectieux**

Après le détachement des virions, ils sont immatures. La maturation consiste en la formation de la capside CA (p24/26), la matrice MA (p17/16) et la nucléocapside NC (p7/8) à partir de Gag, faisant intervenir l'activité de la protéase virale**.** Les différentes étapes du cycle viral offrent des perspectives thérapeutiques nouvelles ciblant l'intégrase et LEDGF/p75 [19]**.** Vif empêche APOBEC3 cellulaire de brouiller l'ADN de mutations illisibles. Vpu inhibe la tetherine, un facteur cellulaire qui agglutine les virions à la membrane plasmique et empêche leur bourgeonnement.

Des anti-LEDGF/p75, anti-Vif, anti-Vpu sont en cours d'essais. Jeudi 1er septembre 2011, la faculté de Strasbourg annonçait que ses chercheurs viennent de mettre à jour les propriétés inhibitrices de la protéine humaine HBPB (human phosphate binding protein) sur la réplication du VIH. Une autre approche pharmacologique est ainsi dévoilée d'autant que HBPB est active aussi bien sur les souches classiques que sur les souches résistantes [53]**.**

II.VARIABILITE ET DIVERSITE GENETIQUE DU VIH

L'extrême diversité génétique des souches de VIH résulte en partie de la variabilité génomique dont sont sujets les lentivirus, le VIH en particulier. Son génome est disposé à des mutations multiples et à des recombinaisons fréquentes, de sorte que chez le même individu le VIH est présent sous forme de microvariants ou quasi-espèces génétiquement liées les unes aux autres mais différentes [1,8,67]. Plus encore, en phase chronique, des isolats de VIH sembleraient génétiquement et biologiquement distincts au niveau des différents tissus infectés (rate, ganglions, système nerveux central) [1].

Actuellement il est estimé que le taux global de changement par an est de 1% pour le gène env et 0.5% pour le gène gag, le gène pol étant plus conservé [1, 67]. Cette variabilité s'apprécie à deux niveaux : au niveau global avec l'apparition des types, sous-types, CRF et des URF du VIH et au niveau individuel avec la formation des quasi-espèces [18].

1. Mécanismes de la variabilité

En cause de la genèse des mutations, l'infidélité de la transcriptase inverse, la dynamique de la réplication virale et la recombinaison génomique entre des souches VIH co-infectant un même organisme [1, 4,18 ,52]. La pléthore de protéines virales et cellulaires de régulation de la réplication virale [1,2], la réponse immunitaire et les agents pharmacologiques sont autant de pressions incitant à la variabilité génétique du VIH [4].

1.1. La rétrotranscriptase virale

La RT, « une enzyme volage et incorrigiblement infidèle [20] » procède à des fonctions multiples à savoir la rétrotranscription de l'ARN viral en ADNc (activité rétrotranscriptase), la duplication de l'ADNc en ADN proviral (activité ADN polymérase), l'hydrolyse de la matrice d'ARN (activité RNAse H). De plus, la RT effectue des opérations de transfert de segment d'ADN, notamment pour produire les deux LTR. Il est admis que la rétrotranscription et la polymérisation de l'ADN par la RT sont incomplètes en ce sens que la RT ne procède pas à la relecture et à la correction des erreurs de transcription (incorporation erronée de nucléotides) car elle est dépourvue de système d'épissage.

Par ailleurs, afin d'exécuter les multiples fonctions précédentes, la RT doit donc, de façon répétée, s'attacher et se détacher de l'ADN et de l'ARN viral, avec un risque d'erreur par dérapage (frameshift) à chaque ré-attachement [20].

L'infidélité de la RT est à l'origine de mutations ponctuelles (insertions erronées) de bases nucléiques conduisant à une série de variants dans la même souche s'éloignant progressivement de la souche d'origine. Il survient au moins une mutation pour 10 000 paires de bases [1,67]. Ceci correspond à une mutation par cycle de réplication puisque le génome du VIH est d'environ 10 kb. Il s'en suit alors la formation in vivo d'un pool instable de VIH, génétiquement hétérogènes mais voisins (quasi-espèces) d'où émergeront les variants antigéniques et les mutants résistants aux antirétroviraux (ARV) [4]. Les virus de la grippe, les poliovirus ainsi que les autres virus à ARN possèdent aussi des ARN polymérases mais ne mutent pas autant que le VIH. Ce dernier a une particularité de plus : sa dynamique de réplication.

1.2. La dynamique de la réplication virale du VIH

L'extrême diversité du VIH est liée à sa dynamique de réplication qui est plus élevée et plus prolongée que dans les infections aux autres virus à ARN (grippe, poliovirus par exemple).[1, 4] En effet, on estime qu'un à 10 milliards de virions sont produits par jour chez un patient naïf [1, 2,3,67]. Cette dynamique virale conjuguée à l'infidélité de la RT, multiplie les éventualités de survenue de multiples mutations. On assiste inéluctablement à une diversification de la population virale au cours du temps. La dynamique de la réplication virale constitue une différence essentielle entre le VIH-1 et le VIH-2 eut égard à une similarité notable des taux d'ADN proviral [35]. Avec un taux d'ARN plasmatique plus élevé, le VIH-1 est plus dynamique donc plus exposé aux mutations [5]. Ceci est une des explications de la pluralité des souches du VIH-1 comparativement au VIH-2.

1.3. La recombinaison génomique

La recombinaison génétique concourt notablement à la génération de nouvelles souches et à l'accroissement de la diversité du VIH.[1,2,6] Elle consiste en l'échange des molécules d'ARN de souches VIH différentes co-infectant les cellules permissives d'un même individu au moment de la rétrotranscription, et ce par l'entraine de la RT qui saute d'un brin d'ARN à l'autre lors de la rétrotranscription virale.[18] Elle survient très fréquemment chez les lentivirus [1,2]. Il est estimé qu'il survient 30 à 70 échanges par génome et par cycle. Ce mécanisme viral est à l'origine de la genèse de plus de 45 formes recombinantes circulantes du VIH-1 (CRF01- CRF45) connues à ce jour, dont les plus fréquents sont CRF01_AE, CRF02_AG, CRF07_BC et CRF08_BG [10,17]. Certains CRF comme les CRF06_cpx,

CRF18_cpx et CRF27_cpx sont l'achèvement de la recombinaison de plus de 5 sous-types différents [18,54]. Par ailleurs la recombinaison génétique est à l'origine de la formation d'au moins 200 formes dites « unique recombinant forms » (URF) [2, 6,7]. L'exemple emblématique de recombinaison génétique est le SIVcpz du chimpanzé, l'ancêtre du HIV-1 : SIVcpz est issu de la recombinaison de la région 5' (gag, pol, vif, vpr) du SIVrcm d'un mangabey et du 3' (vpu, env, nef-) du SIVgsn du singe hocheur [7].

1.4. Les facteurs de pression sur la variabilité génétique

La réponse immunitaire et la chimiothérapie antivirale incitent à la sélection de nouveaux de variants du VIH au cours de l'infection chronique sous traitement ou non [1, 4,20].

La thérapie antirétrovirale inefficace, ou mal observée engendre des variants résistants aux ARV à l'origine de nombreux échecs thérapeutiques observés au cours des higly active antiretroviral therapy (HAART) ou multithérapies antirétrovirales hautement actives. On assiste à une augmentation de la charge virale associée à de nombreuses mutations des gènes codant les cibles pharmacologiques comme la RT, la protéase, l'intégrase, le gp120, le CCR5 [14].

La réponse immunitaire inefficace permet au VIH de se répliquer continuellement. Les mutations éventuelles survenues au cours de la réplication accroissent l'échappement aux anticorps neutralisant (variations du gp 120 principalement) et aux LT CD8+ [20].

La multitude des protéines de régulation de la réplication [1,2], offrent des avantages réplicatifs rendant incontrôlable la réplication du VIH par le système immunitaire. Ces protéines virales régulatrices connues sont nombreuses : tat, Rev, nef, vif, Vpr, vpu, vpx... Certaines agissent en coordination avec des protéines cellulaires aussi diverses. On cite, TRIM5α, le facteur nucléaire κB (NF-kappaB). Bon nombre de ces protéines agissent sur le LTR.

2. Diversité génétique du VIH

Elle est la résultante des divers mécanismes de variations génomiques, des facteurs de pressions de l'hôte (susceptibilité génétique) et des facteurs pharmacologiques.

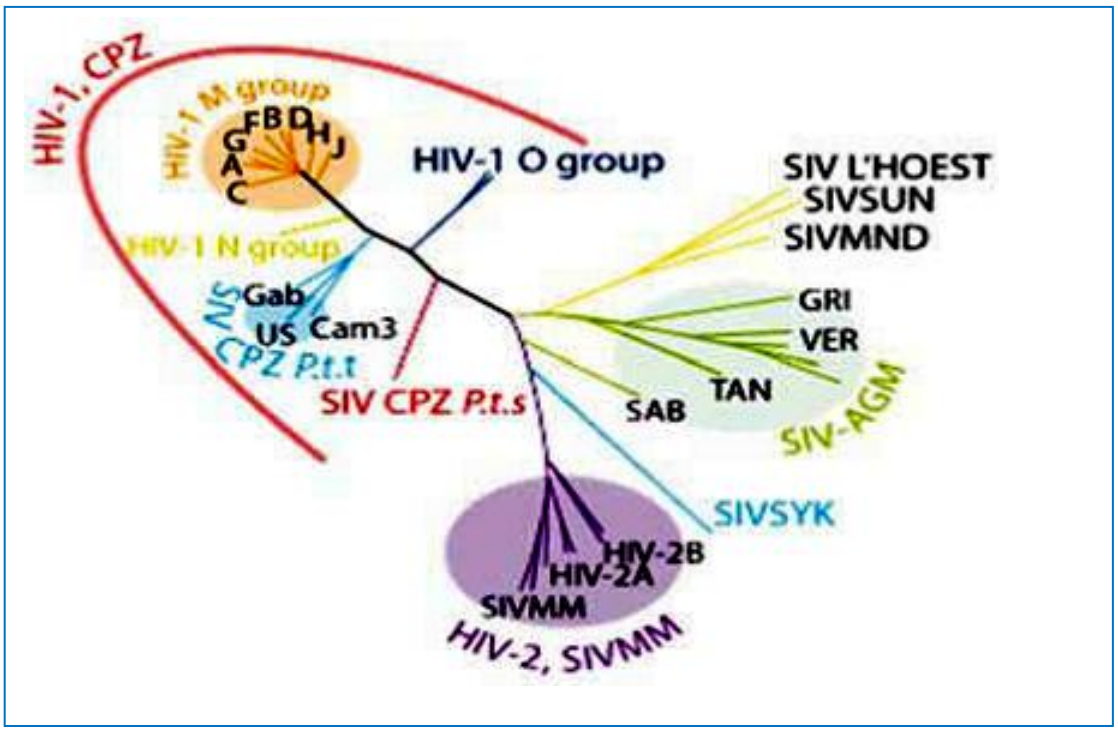


Figure 15 : Arbre phylogénétique du VIH-1 et du VIH-2 mettant en évidence leur diversité génétique et leur origine commune à celle des SIV [71].

2.1. Diversité génétique du VIH-1

En Aout 2009, le VIH-1 comptait 4 groupes notés M(Majeur), O(Outlier), N (non M non O) et P (figure 16).

- Le VIH-1_M est composés de 9 sous-types A, B, C, D, F, G, H, J, K (qui divergent entre eux de 15 % en moyenne dans le gène gag et de 25 % dans le gène env) et plus de 45 formes recombinantes circulantes (CRF) (CRF01_AE à CRF45) [8, 10,17]. et plus de 200 formes uniques recombinantes (URF). Par ailleurs, le sous-type A est composé de quatre sous-sous-types A1, A2, A3, A4, et le sous-type F est du F1 et du F2 [7, 8,10].
- Le VIH-1_O qui a une similarité de 73 % pour la protéine Pol et de 50 % pour la protéine Env avec le VIH-1_M, se caractérise aussi par une très grande diversité génétique avec de nombreuses souches divergentes non classées. On en connait surtout 03 clades A, B et C [94,95].

- Le VIH-1_N découvert en 1995 [97], a la particularité de porter une enveloppe de SIVcpz alors que les gènes gag et pol sont proches des VIH. Il est unique à ce jour [98].
- Le VIH-1_P récemment découvert en Aout 2009, est génétiquement unique à ce jour [8].

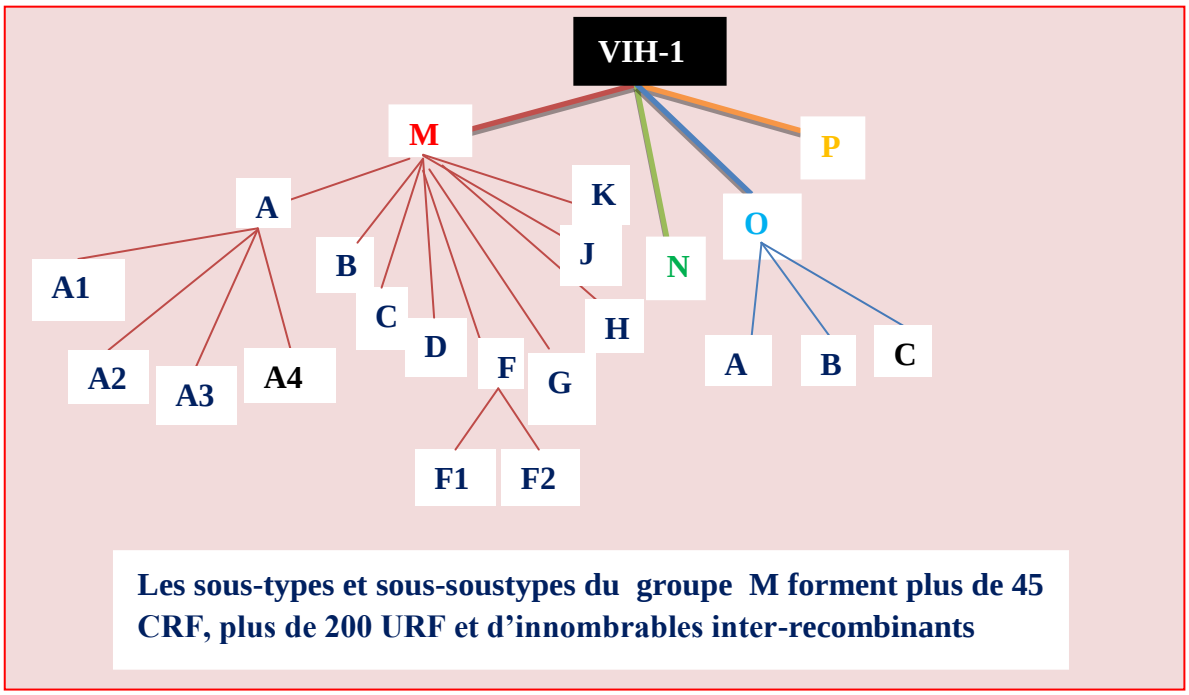


Figure 16 : Représentation schématique de la diversité génomique du VIH-1.

2.2. Diversité génétique du VIH-2

Le VIH-2 est génétiquement divisé en huit sous-types A, B, C, D, E, F, G et H, [6, 7,8] dont les sous-types A et B ont une plus grande diffusion épidémique en l'Afrique de l'Ouest. Le VIH-2 est aussi confiné en Asie du Sud.[40]

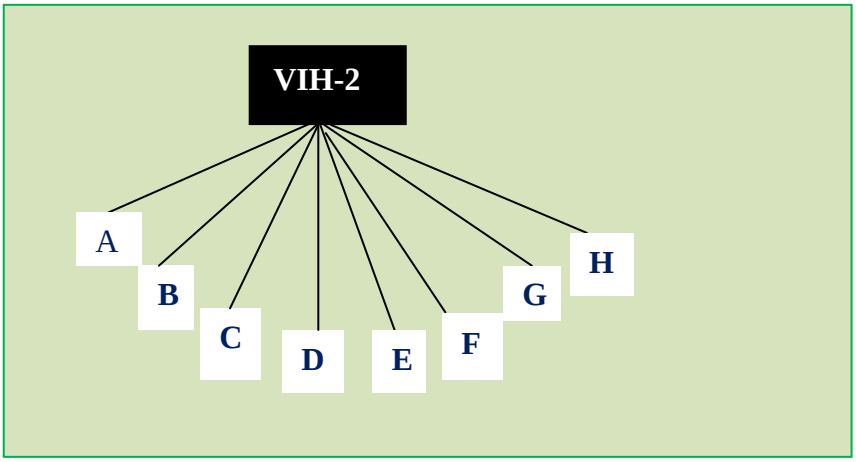


Figure 17: Représentation schématique de la diversité génomique du VIH-2

III. EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE DU VIH-1

L'extrême diversité du VIH-1 (CRF et non CRF) est impressionnante, plus encore sa distribution dans tous les recoins de la planète.

1. Epidémiologie moléculaire du VIH-1 dans le monde

Ci-dessous figure la répartition planétaire des souches majeures du VIH-1. Ce sont essentiellement les CRF et non- CRF qui par leur prédominance caractérisent certaines régions. A l'échelle mondiale, le VIH-1_M représente 90% des souches circulantes parmi lesquelles au moins 90% sont des non-B dont 50% de C, 12% de A, 18% de CRF (CRF : 01, 02, 06). A peine 10% des infections mondiales sont dues au soustype B du VIH-1.

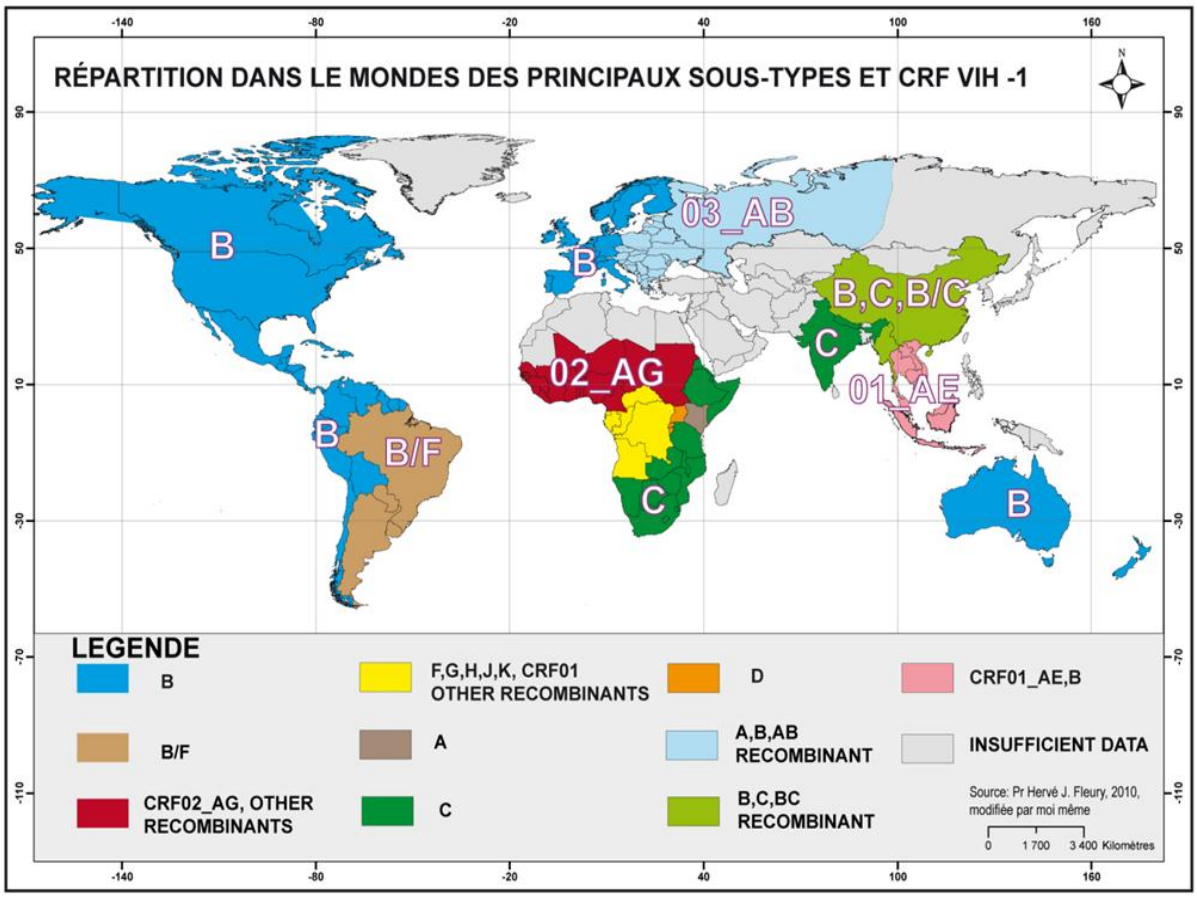


Figure 18 : Réparition dans le monde des principaux sous-types et CRF du VIH-1 (modifié) [18].

L'Afrique sub-saharienne et précisément l'Ouest de l'Afrique centrale regorge tous les types, sous-types, sous-sous-types, CRF, URF et inter-recombinants du VIH. Des quatre groupes du VIH-1, le groupe M est la plus épidémiogènes. Le sous-type B est le plus cosmopolite, mais la grande pandémie du VIH/SIDA est due aux non-B avec plus de 90% des cas dont les principaux soustypes sont le C, A, CRF02_AG et le CRF01_AE. Le sous-type B est

majoritaire en Europe, en Amérique du Nord, en Amérique latine - coté pacifique, en Australie et en Nouvelle Zélande.

Les autres groupes du VIH-1(N, O et P) ont une ont une faible diffusion. Du reste en 2011, seuls 15 cas d'infections à VIH-1_N et deux infections à VIH-1_P ont été rapportés [10]. Quant au VIH-1_O, il représente 1 % des infections à VIH au Cameroun et est aussi présent en Afrique central et en Afrique de l'Ouest. L'infection VIH-1_O reste rare en France avec 0,12% des nouveaux diagnostics et seuls 117 patients ont été identifiés en 2010 [31].

2. Epidémiologie moléculaire du VIH-1 en Afrique.

En Afrique, circulent toutes les souches du VIH. L'épidémiologique moléculaire du VIH-1 en Afrique est comme suit d'après la banque de données Los Alamos HIV-1 (figure 19) [36] :

- Le sous-type C est majoritaire en Afrique Australe (Namibie, Afrique du Sud, Swaziland, Bostwana, Zambie , Zimbabwé, Mozambique) et dans les pays de la corne de l'Afrique (Somalie, Ethiopie, Djibouti et Erthytrée).
- Le sous-type A , C, D en Afrique de l'Est : Soudan, Kenya, Tanzanie, Burundi, Rwanda, Ouganda.
- La quasi-totalité des souches existent en Afrique Equatoriale Ouest : RDC, Congo, Gabon, Cameroun, Centrafrique, Guinée Equatoriale et en Angola (Afrique Australe).
- Le CRF02_AG est majoritaire en Afrique de l'Ouest, suivi du CRF06_cpx (dominant au Burkina Faso).
- Le sous-type B prédomine au Magreb où la Lybie présente une particularité en ce sens que c'est le CRF02_AG qui represente la quasi-totalité des souches.

Le VIH-2 reste restreint en Afrique Occidentale et Asie du Sud [40]. Des huit soustypes du VIH-2, seuls les soustypes A et B sont les épidémiogènes et sont rencontrés respectivement en Guinée Bissau, Sénégal et en Côte d'Ivoire [7]. Les VIH-2 de groupe C et D (Liberia), E (Sierra Leone) ou G (Côte-d'Ivoire) ont tous été identifiés chez des patients asymptomatiques et sont rapportés comme des cas uniques infectant à ce jour un seul individu. A l'opposé, les VIH-2 de groupe H (Liberia, Côte-d'Ivoire, France) et F (Sierra Leone) ont été isolés chez des patients immunodéprimés [8].

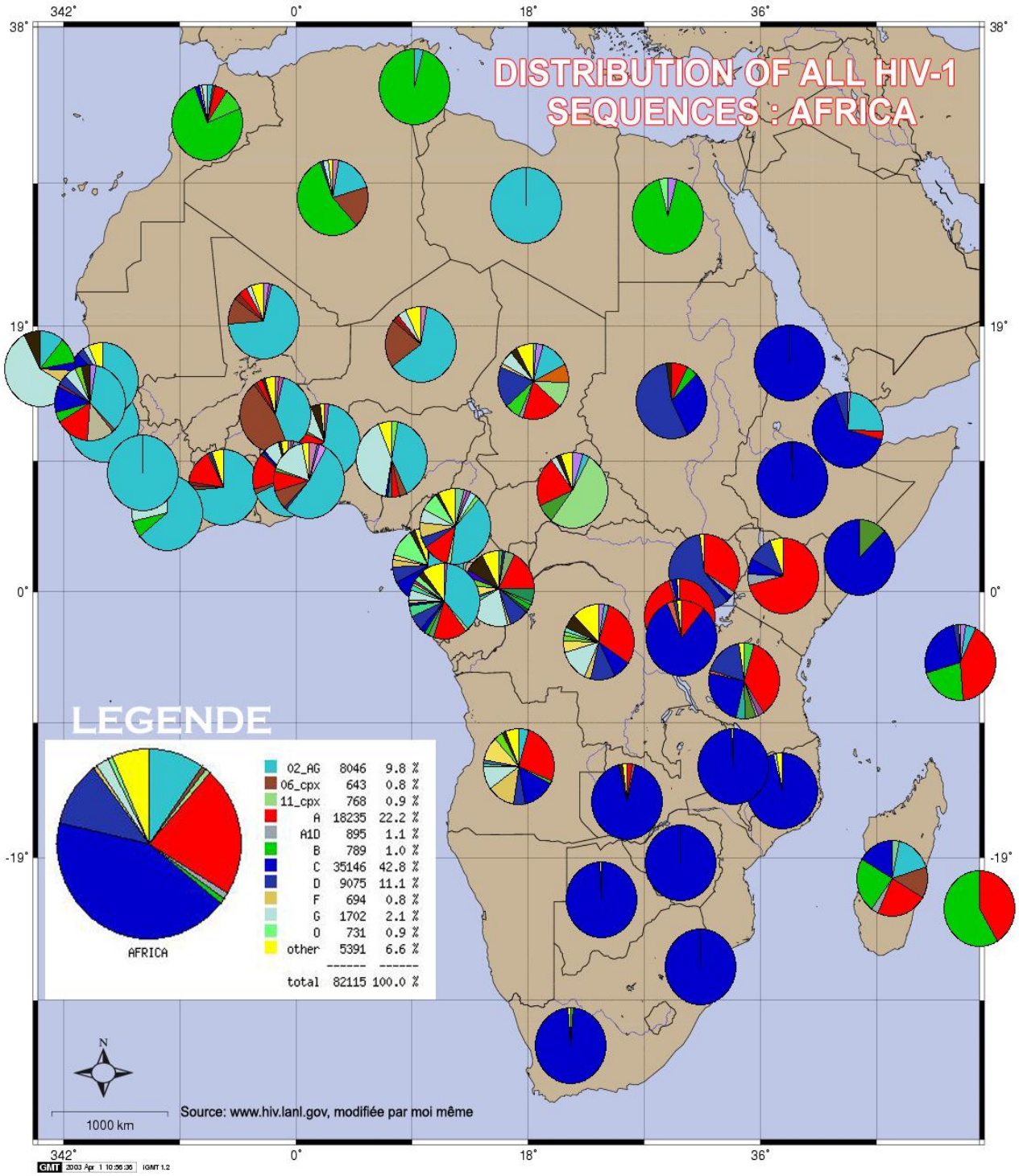


Figure 19 : Répartition en Afrique des principaux sous-types et CRF du VIH-1[36]**.** (modifié)

IV.IMPACTS DE LA DIVERSITE GENETIQUE DU VIH

Nous verrons ici que la détermination des souches de VIH est une nécessité afin de mieux cerner la pathogénie du VIH/SIDA, de développer et d'adapter les techniques et outils de diagnostic virologiques , d'innover avec plus de spécificités l'arsenal thérapeutique, d'optimiser la prescription médicamenteuse et de réajuster les moyens de prévention épidémiologique.

1. Impact clinique

En 2011, une étude menée sur des enfants séropositifs en Ouganda, établit qu'une grande diversité génétique du VIH survenue à l'âge de 6 à 8 semaines après l'accouchement chez les enfants, est corrélée à une augmentation du risque de décès dans les 05 premiers ans de leur vie [4]. Chez les adultes, plusieurs études rapportent que la diversité de souches au sein d'un pool de VIH est associée à une progression rapide vers le SIDA [23].

A l'intérieur des sous-types du VIH-1, des différences d'évolution clinique sont notables. Ainsi, la progression serait plus rapide vers le SIDA et le taux de mortalité plus élevée en cas d'infection au VIH-1 de sous-type D chez les enfants du fait de son double tropisme R5/X4 [4,18].Vasan and al. ont observé durant 80 mois, 428 femmes zambiennes infectées par les sous-types A, C, D et des CRF naïfs que le sous-type D induisait une immunodépression rapide et profonde et menait rapidement au stade clinique 4 et était plus létal [69].

Il est aussi prouvé que le VIH-2 soit moins virulent et que sa progression vers le stade SIDA est lente comparativement au VIH-1. En cause de cette lenteur pathologique du VIH-2, on évoque sa faible dynamique réplicative et que qu'il induirait une réponse immune efficace grâce à sa protéine vpx [2,23]. Les sous-types A et B du VIH-2 sont les plus pathogènes et sévissent respectivement en Guinée Bissau et en Cote d'Ivoire [7]. Les autres souches du VIH-2 ont été identifiées chez des patients asymptomatiques [7].

Les non-progresseurs (CD4+ $\geq$ 500/ mm^3) représentent 6.1% des infections à VIH-2 tandis que seuls 0.048% de séropositifs VIH-1 ne développe pas le SIDA [23]. En cause, une mutation du gène du corécepteur CCR5 rendant les cellules cibles résistantes à l'infestation du VIH.

Les HIV Controller(HIC) mis en évidence en 2005 par Lambotte et Delfraissy, sont un groupe de patients chez qui la charge virale reste indétectable plusieurs années (médiane 18 ans, extrême 25 ans) après la primo-infection VIH [29].

Au regard de ces différentes constatations, la connaissance du ou des souches de VIH qui infecte(nt) un individu peut aider à prendre des mesures thérapeutiques précoces afin d'infléchir le cours de l'histoire naturelle de l'infection. Pour une souche très virulente, y a-t-il lieux d'attendre l'affranchissement du seuil recommandé de CD4+ (350/mm^3) avant d'introduire la thérapie antivirale ? Mais il est à noter que l'histoire naturelle de l'infection du VIH/SIDA reste commune à toutes les souches du VIH, seule la vitesse de progression ferait essentiellement la différence. A noter que l'histoire naturelle du VIH/SIDA se compose en trois phases morbides à savoir la primo-infection, la latence clinique et la phase SIDA. Cliniquement, l'OMS les classes en quatre stades cliniques (1, 2,3 et 4) alors que le CDC (Center of Disease Control and Prevention) les classe en stade A (A1 A2 A3), B (B1 B2 B3) et C (C1 C2 C3) en fonction du taux de CD4+ et de l'occurrence des infections opportunistes et des néoplasies associées.

2. Impact diagnostique

On s'en aperçoit au vu de l'évolution des générations ELISA du test VIH. La 4ème génération détecte à la fois les anticorps du VIH-1 et VIH-2, l'antigène p24 et le sous-type O du VIH-1. Les techniques de diagnostic actuelles sont-elles applicables au VIH-2, au VIH-1 non B ? En 2009, la découverte du VIH-1_P est partie d'une suspicion des chercheurs devant une anomalie dans l'algorithme de dépistage du VIH chez une camerounaise. Logiquement on se trouve en impasse diagnostic avec des kits validés pour des souches précises devant servir à révéler d'autres souches. Que dire des profils indéterminés du test Western blot du VIH ? Avec les kits actuels pour la quantification de la virémie plasmatique, la CV du VIH-2 est souvent négatif même au stade SIDA, il en est de même pour le VIH-1_P. Par exemple une tendance à la sous-quantification par la technique RealTime HIV-1 (Abbott) supérieure à 1 Log pour 5 % des prélèvements comparativement à la nouvelle technique spécifique LTR-O a été rapportée [31].

3. Impact thérapeutique

L'impact thérapeutique de la diversité génétique du VIH est appréciable sur la notion de tropisme viral et de résistance virale aux ARV. La résistance aux ARV est liée à la sélection de quasi-espèces virales comportant des mutations dans les gènes RT, PR, IN, gp41, gp120, CCR5 avec persistance de la réplication virale en dépit de la prise des ARV.[27] La surveillance épidémiologique de la prévalence de la résistance du VIH aux ARV est un élément indispensable à la stratégie de lutte contre le VIH aux côtés de l'accès aux ARV et des

programmes de prévention de la transmission du VIH. Chez les adultes une diversité génétique antérieure à l'introduction de la thérapie antirétrovirale est associée à une baisse de la virosuppression [28]. La résistance virale peut être naturelle ou acquise et concerner une classe pharmacologique d'ARV ou des molécules de la même classe.

3.1. Résistance naturelle

Les virus du groupe O du VIH-1 sont résistants aux INNTI (inhibiteurs non nucléotidiques de la transcriptase inverse) du fait de la présence polymorphique des mutations A98G, KI03R, V179E associées ou pas à Y181C dans la TI [1,18]. Le VIH-2 est naturellement résistante à l'enfivirtide (T20, inhibiteur de fusion), à tous les INNTI et à deux antiprotéases que sont l'amprénavir et les fos-amprénavir [25, 26].

Les antagonistes du CCR5, Maraviroc et le Cenicriviroc (phase II) sont naturellement inefficace sur les souches CXR4 du VIH-1. De nos jours, l'utilisation et le suivi pharmacologique des antagonistes CCR5 nécessite la détermination préalable du tropisme viral par séquençage du gène de la boucle V3 du HIV-1 [81].

Par conséquent, il est judicieux avant la conduite de toute ligne thérapeutique, de connaitre la souche VIH qui infecte un patient donné afin d'éviter les prescriptions aveugles, facteurs de sélection de résistance et des coûts supplémentaires de prise en charge pharmaceutique.

3.2. Résistance acquise

Dans la monothérapie à la névirapine en prévention de la TME, la sélection de résistance est plus prononcée pour le sous-type C que pour le sous-type A et D [27]. Les mutations de résistance survenues au cours des traitements anti-VIH sont légions. Elles sont consultables sur le site http://www.hivfrenchresistance.org . Ces exemples font la preuve que les principes actifs (biodisponibilité sub-optimales, interactions, efficacité et barrière génétique) sont des facteurs de pression de sélection des mutants résistants aux ARV. La genèse des mutations de résistance survient aussi hors de tout traitement ARV chez les patients à VIH naïf : il est estimé qu'une copie sur 1000 soit une souche mutée résistante à un ARV. C'est le cas en général des ARV dits de faible barrière génétique (c'est-à-dire, qu'une seule mutation du gène de la protéine cible entraine une haute résistance à l'ARV d'intérêt) : la mutation M184V pour la 3TC et le FTC et les mutations K103R, K100N confèrent la résistance aux INNTI de première génération que sont l'Efavirenz et la Névirapine [43]. D'après le rapport

Yeni en 2006, la résistance primaire survenue au cours de la primo-infection et avant toute conduite antirétrovirale est détectée chez 12.3% des patients dont 6% aux INTI, 5.9% aux INNTI et 3.4% aux IP [27]. La recherche des souches de VIH chez les séropositifs et les mutations de résistances préalables à l'institution du traitement ARV ou survenue au cours de la thérapeutique médicamenteuse sont une démarche de qualité de prise en charge pharmaceutique optimale des patients infectés.

4. Impact épidémiologique

Une détection et/ou une recrudescence de souches virales non habituelles dans une localité donnée en appel à la mise sur sellette d'une importation virale par le biais de mouvement de population dont le flux migratoire. En réponse, il y va de l'importance d'une veille sanitaire, dont les données sont d'excellents indicateurs épidémiologiques quant à la définition de nouvelles stratégies préventives au regard de l'ampleur de la problématique sanitaire suspecte. En France le taux des non-B est passé de 10% en 2000 à 28% en 2006. Le CRF02_AG originaires de l'Afrique de l'Ouest, représentent 50% des non-B dans la population française [7]. Au Maroc, une étude a rapporté que 26% des souches marocaines étaient des non-B dont 6% de CRF02_AG, 1% de C. Ce screening génomique met en cause l'immigration subsaharienne, pour laquelle le Maroc constitue l'escale de transit [33]. En Algérie où prédomine majoritairement le sous-type B, ont été identifiés des sous-types non-B (A, G, D) et des formes recombinantes telles que CRF02_AG et CRF06_cpx provenant probablement de l'Afrique subsaharienne, ce qui a incité les auteurs à recommander la surveillance moléculaire de l'infection VIH [34].

5. Impact vaccinal

Plusieurs mises au point vaccinales ont avorté. Le V520, un vaccin adénovirus type 5 recombinant exprimant les protéines Gag, Pol, Nef du VIH-1_B a concédé une autre déception en 2007 [32]. Plus d'une vingtaine d'essais cliniques évaluant la forme soluble du gp120, le précurseur gp160 ou des peptides de l'enveloppe se sont révélés infructueux.[83] En cause, la plasticité du VIH-1, s'érigeant en un énorme obstacle à toute stratégie vaccinale. Du reste d'aucuns pensent qu'un vaccin anti-VIH n'est pas réalisable en l'état actuel des connaissances et ne le sera peut-être jamais[82]. Vu la modification incessante de l'épidémiologie moléculaire du VIH, un vaccin anti-VIH ne saura désormais être développé sur la seule souche B du VIH-1.Il devra être multivalents pour garantir son efficacité et sa longévité.

PARTIE PRATIQUE

Enoncé et justificatif de l'étude :

Au Maroc, le VIH/SIDA reste un problème de santé publique. La prévention, la clinique, les techniques de diagnostic, la pharmacothérapie anti-HIV et le développement de vaccin tiennent de plus en plus compte de l'épidémiologie moléculaire du VIH-1.

Notre objectif principal est alors, de déterminer les différents génotypes du VIH-1 qui circulent au Maroc.

De plus d'autres objectifs ont été associés à savoir :

- Analyser les origines des différentes souches de VIH-1 que nous aurions identifiées, et

- Proposer des hypothèses sur le mécanisme de leur diffusion épidémique au Maroc.

I. PATIENTS ET METHODES

Lieu d'étude: Le Royaume du Maroc

QUELQUES CHIFFRES SUR LE ROYAUME DU MAROC

- Géographie : Nord-Ouest du continent Africain.
- Superficie : 710.850 Km2
- Population totale : 31 177 000
- Proportion de la population urbaine : 56 ,9%
- Age moyen au premier mariage : 29.5 ans
- Proportion de la tranche d'âge 15 – 59 ans : 63,4%
- La couverture médicale : 30 % de la population
- Le taux brut de natalité : 19,5 pour mille
- Le taux brut de mortalité : 5,8 pour mille
- L'espérance de vie à la naissance : 72,6 ans
- Religion principale : islam

Source : Haut Commissariat au Plan (www.hcp.ma)

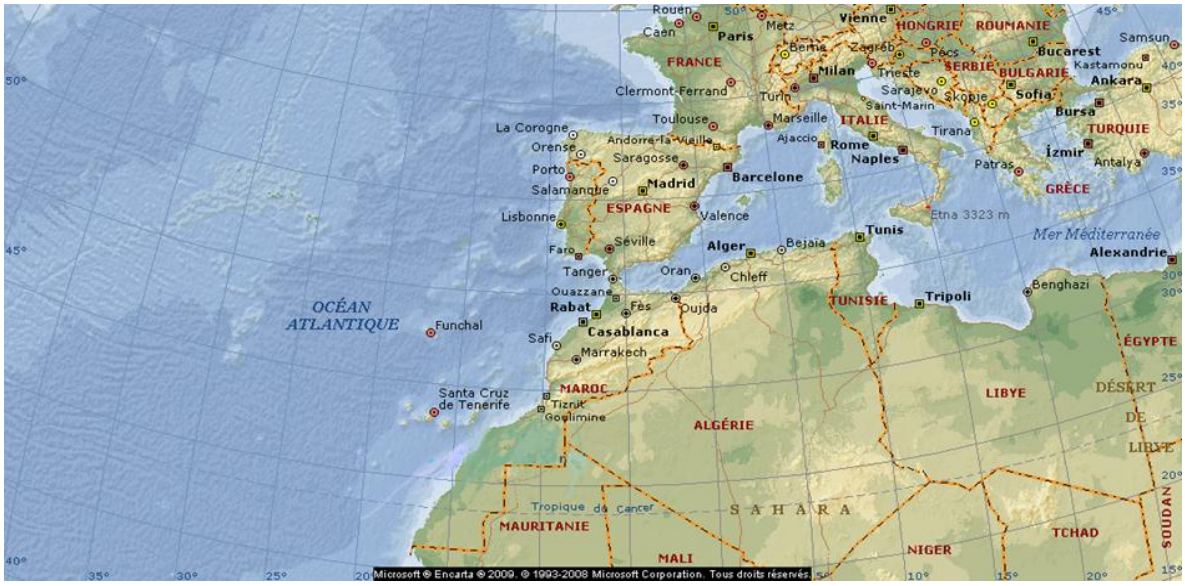


Figure 20 : Position géographique du Maroc (Microsoft ® Encarta ® 2009. © 1993-2008 Microsoft Corporation) modifié.

Le Maroc est entre deux mers, l'Atlantique et la Méditerranée et entre deux continents l'Afrique et l'Europe. Il représente une plaque tournante du trafic terrestre et maritime entre l'Afrique et l'Europe. L'immigration clandestine subsaharienne et Magrébine et le tourisme de masse (8 millions en 2009) sont des mouvements de population actifs sur le sol chérifien.

1. PATIENTS

La population d'étude comptait 51 patients marocains infectés par le VIH, diagnostiqués au laboratoire de Virologie l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohammed V (HMIMV) de Rabat durant la période allant de 2008 à 2010 et suivi au service de dermatologie du même hôpital. Une fiche de renseignement à été remplie pour chaque patient comportant les données anthropométriques, cliniques, biologiques et thérapeutiques.

Critères d'inclusion dans le génotypage:

- Le patient doit être séropositif natifs et résidant au Maroc.
- La charge virale doit être détectable et ≥ 500 copies/ml.

Critères d'exclusion dans le génotypage:

- Charge virale indétectable ou ≥ 500 copies/ml.
- Patients non résidants au Maroc.

2. METHODES

Nous avons évalué les paramètres sérologiques, biologiques et virologiques suivants :

- Détermination du statut sérologique (diagnostic) au VIH : par Elisa et Western blot
- Détermination de l'état immunitaire : taux de LTCD4+ par la cytométrie en flux.
- Quantification de la charge virale : par RT PCR en temps réel
- Génotypage VIH-1 : par le séquençage et l'analyse phylogénétique.

2. 1. Sérologie virale

1.1. Test Elisa:

Le statut sérologique des patients a été déterminé par le kit Enzygnost® HIV Integral II, technique ELISA sur l'automate BEP2000® Advanced Siemens du service de virologie de l'HMIMV de Rabat. La spécificité du kit est de 99.9%

Principe: Il s'agit d'un test immuno-enzymatique qualitatif qui permet la mise en évidence simultanée de l'antigène p24 et des anticorps spécifiques anti-VIH1, 2 et le sous type O. C'est une ELISA de 4éme génération.

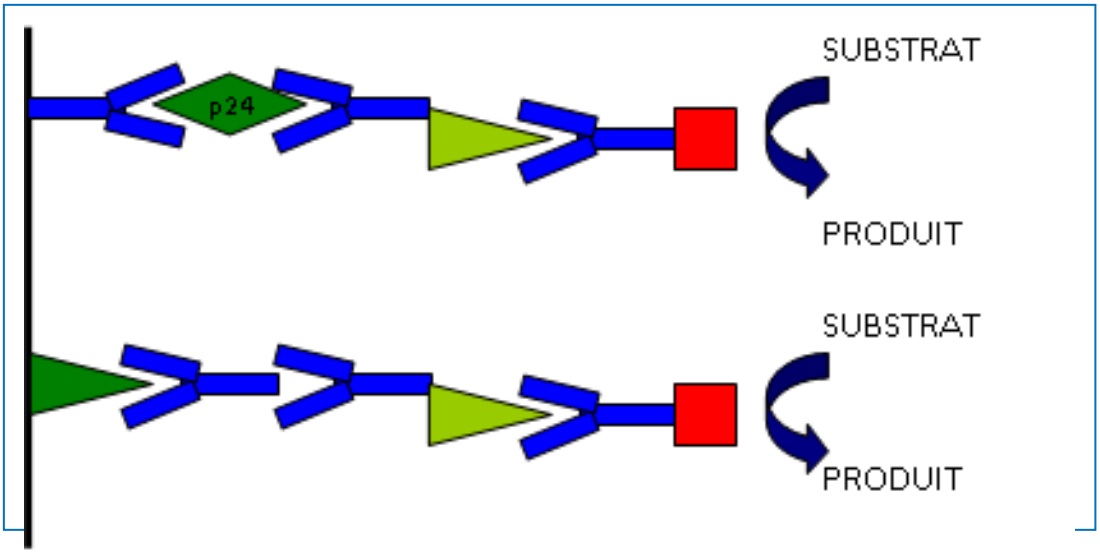


Figure 21: Principe ELISA du dépistage du VIH.

1. 2. Western blot :

Il permet la confirmation des tests Elisa positifs. C'est une disposition légale. Nous avons utilisé le Kit Enzygnost® VIH-1 /2 Western blot, réalisés au service de virologie de l'HMIMV-Rabat.

Principe : Sur des bandelettes de nitrocellulose où sont fixées des protéines recombinantes de différents antigènes du VIH qui ont été séparées par électrophorèse sur gel de polyacrylamide et transférées par adsorption sur une membrane de nitrocellulose et découpées en bandelettes, sont ajoutés les sérums à tester. Il s'ensuit des réactions antigènes - anticorps qui seront révélées par des techniques immuno-enzymatiques avec mise en évidence de coloration. Ainsi , différents profils Western blot peuvent être obtenus :

- **Profil complet** : 2 Ac d'enveloppe anti- gp160, anti-gp41 + 1 Ac des protéines du core (anti-p65, anti- p66, anti-p39).
- **Profil Négatif** : aucun Ac détecté
- **Profil indéterminé** : un Ac d'enveloppe isolé ou un anti-p56 ou anti-p24, anti-p17

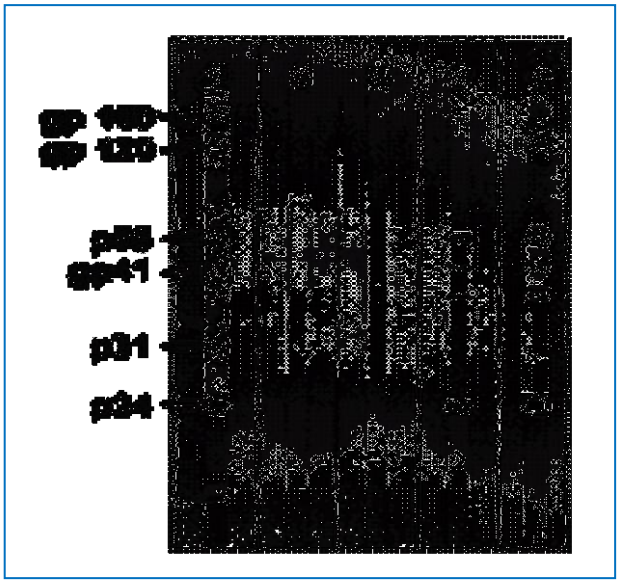


Figure 22 : Différents profils Western blot

2. 2. Taux des LT CD4+ par cytométrie en flux

Le taux des lymphocytes T CD4+ dans le sang périphérique a été déterminé par la méthode de la cytométrie en flux sur l'automate Beckmann Coulter.

Principe de la cytométrie en flux :

La cytométrie en flux est une technique d'analyse cellulaire multiparamétrique sur plusieurs milliers de cellules isolées après focalisation hydrodynamique de l'échantillon dans un faisceau Laser excitateur. Grâce à l'utilisation des anticorps monoclonaux anti-CD4+ ou marqués par un fluorochrome, le cytométrie en flux permet un dénombrement précis des LT CD4+.

2.3. Charge virale par RT PCR en temps réel

La technique utilisée a été réalisée sur le COBAS Ampliprep / COBAS TaqMan48® VIH-1 (Roche Diagnostics) avec un seuil de détection de 20 copies/ml.

2.3. 1. Principe de la PCR temps réel

La PCR (polymerase Chain reaction) permet d'amplifier spécifiquement une région de l'ADN double brin de quelques centaines de paires de bases. Elle s'effectue en les étapes suivantes :

- Extraction des acides nucléiques (ADN ou ARN) à partir du plasma par un extracteur automatique en lysant les particules virales par des protéases dans un tampon chaotique à température élevée,
- Purification des acides nucléiques par adsorption sur des billes de silice chargées positivement et lavage des impuretés,
- Rétrotranscription en ADNc de l'ARN des virus à ARN par des rétrotranscriptases comme la Z05 de Thermus specie,
- Amplification des séquences génomiques conservées et connues par la Z05 ou la Taq polymérase, une enzyme extraite de la bactérie thermophilus aquaticus et détection des marqueurs fluorescents de quantification générés après clivage des sondes et libération du fluorochrome reporter de son extincteur le quencher.

Le cycle de PCR est composé des étapes suivantes :

- Dénaturation de l'ADN double brin par la chaleur du thermocycleur à 95°C,
- Hybridation entre 56-64°C des deux amorces (ou primers d'environ 20 bases) sens et antisens de sorte à encadrer le gène à amplifier ; hybridation des sondes marquées (système reporter/quencher) sens 3'-5'et antisens 5'-3' spécifiques de chaque brin d'ADN dénaturé ; fixation de l'ADN polymérase aux amorces,
- Polymérisation (ou élongation) en présence des désoxyribonucléotides (DNTP) en excès à 72°C, clivage des sondes reporter/quencher et émission de fluorescence.

Le thermocycleur en faisant alterner suivant un timing précis les trois températures 95°C, 60°C et 72°C réalise les cycles d'amplification. Ainsi 35 cycles fournissent 34359738368 brins d'ADN (34 milliards), ce qui représente une quantité suffisante pour étudier le fragment d'ADN amplifié.

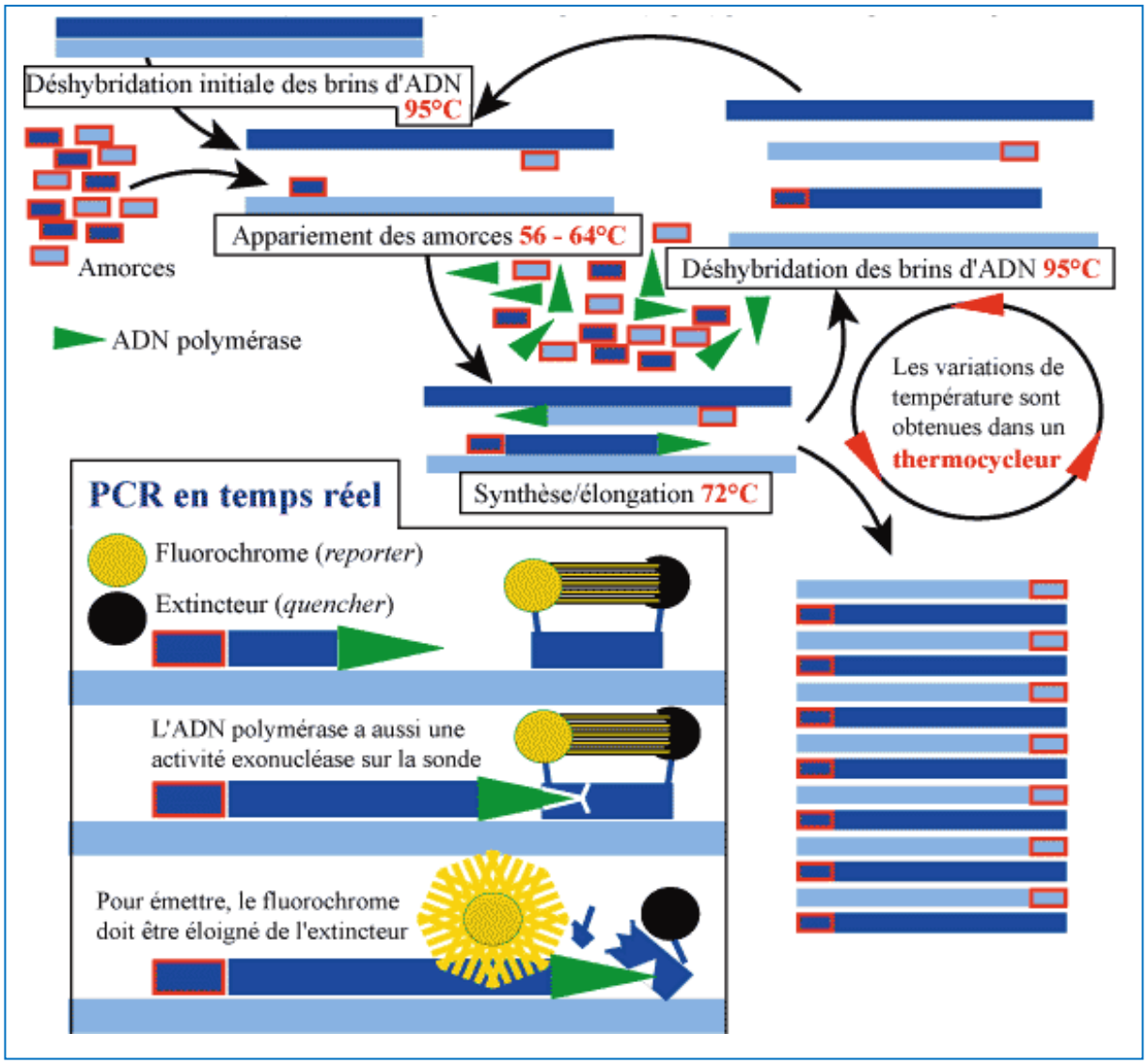


Figure 23 : Schéma du principe de la PCR en temps réel.[20]

2.3.2. Manipulation du Cobas ®AmpliPrep CobasTaqMan48®

2.3.2. 1.Principe :

Il s'agit d'une PCR en temps réel automatisée et réalisée en deux étapes :

Etape 1: L'extraction de l'acide nucléique et préparation du mélange réactionnel se font au niveau de Cobas® AmpliPrep selon la chronologie suivante :

- La digestion des membranes et séparation de l'acide nucléique des protéines

- Formations des liaisons entre les acides nucléiques chargés négativement et les billes de silices chargées positivement.

- Préparation du mélange réactionnel (Mix + acide nucléique).

Etape 2 : Rétrotranscription, Amplification, détection et quantification de l'acide nucléique se font dans le Cobas TaqMan48® en utilisant des sondes fluorescentes TaqMan et standard de quantification interne.

Les deux appareils sont gérés par un ordinateur équipé le logiciel AMPLILINK® 3.2.2. (figure ci-dessous) simplifiant le travail des différentes étapes.

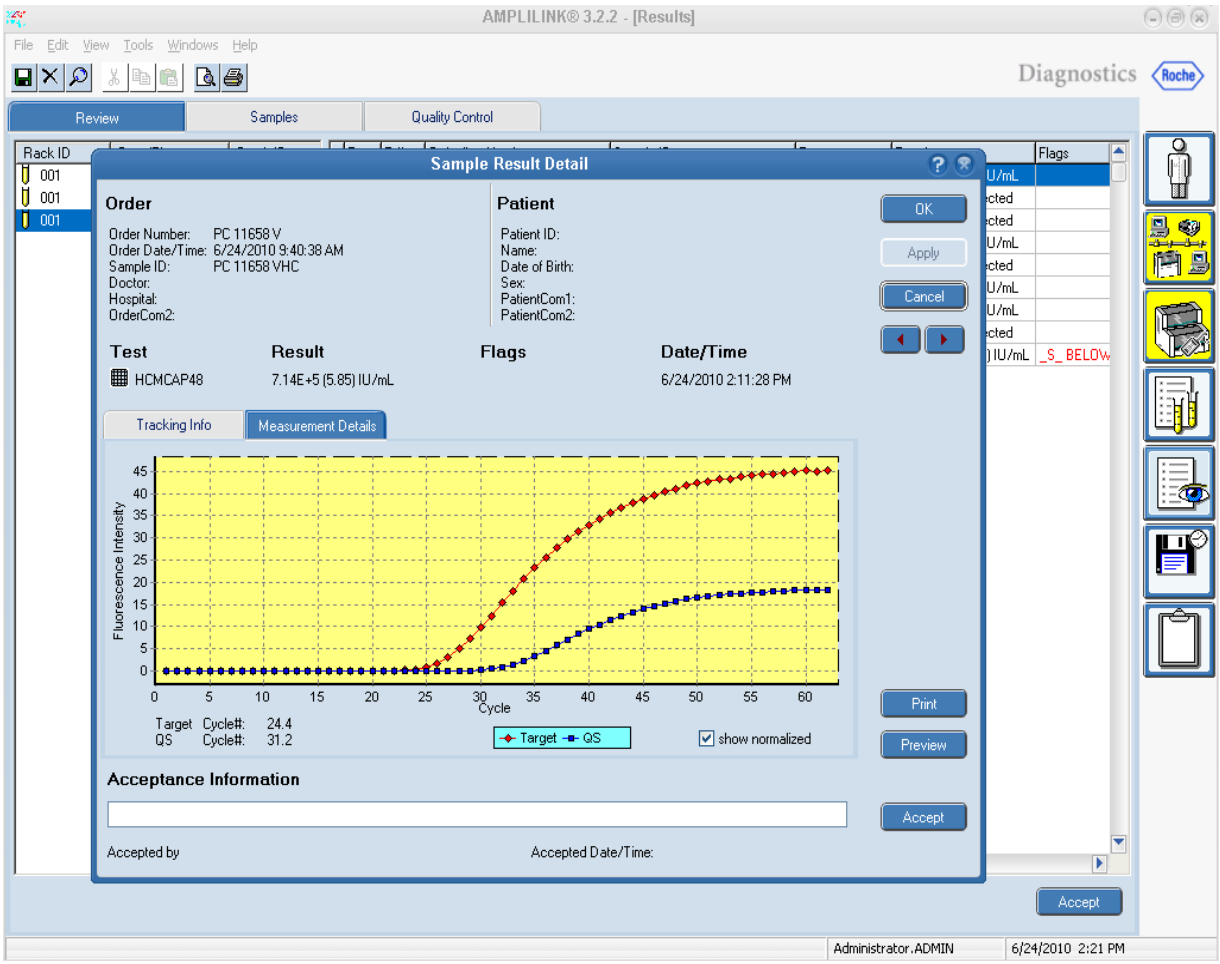


Figure 24 : Interface du logiciel AMPLILINK®3.2.2. COBAC TaqMan®48, la courbe en rouge représente l'évolution de la charge virale du patient, et celle en bleue le standard de quantification interne.

2.4. Génotypage

Nous avons réalisé un génotypage pour les 51 patients inclus dans la cohorte par technique de séquençage, ce selon les recommandations 2011 de l'Agence Nationale de Recherche sur le SIDA et les hépatites virales (ANRS, France). Les manipulations ont été effectuées au laboratoire du CHU de Bordeaux de l'Université Victor Segalen.

2.4.1. Principe général du séquençage génomique

Le séquençage de génome ou des gènes consiste à déterminer l'enchainement des nucléotides et par la même détecter les mutations géniques par comparaison à des séquences de référence. La plus ancienne des méthodes de séquençage est celle de Sanger sur laquelle repose le Gel de séquence, une technique de séquençage automatisée, plus spécifique et plus sensible. La succession des nucléotides de l'ADN est déterminée grâce à l'utilisation des didésoxynucléotides triphosphates (ddATP, ddTTP, ddGTP, ddCTP) marqués chacun par un fluorochrome distinct (A : Vert, T : Rouge, G : Jaune, C : Bleu). Les ddNTP ne possédant pas de groupement OH en 3', aucune liaison phosphodiester ne peut être établie à leur suite. Ainsi, lorsqu'ils sont incorporés de façon aléatoire par la polymérase, l'élongation est aussitôt stoppée. En multipliant les cycles, on obtient des brins d'ADN de différentes longueurs se terminant tous par un didésoxynucléotide fluorescent. Ces fragments seront séparés par migration électrophorétique. Pour chaque gène, les deux brins sens et antisens sont séquencés indépendamment selon cette méthode.

Notre technique est bien celle du Gel de séquence qui a été réalisé sur le séquenceur CEQ 2000 (Beckmann-Coulter, Krefeld, Germany). Les étapes sont les suivantes (figure ci-dessous) :

- L'extraction de l'ARN à partir du plasma recueilli sur EDTA ,
- La RT PCR des gènes d'intérêt,
- La PCR Nichée avec utilisation d'un couple d'amorce interne niché dans les séquences de la RT PCR afin d'amplifier spécifiquement les gènes d'intérêt (ici, la RT et la Protéase).
- La PCR de séquençage avec utilisation des ddNTP fluorescents,
- Migration électrophorétique capillaire sur gel de polyacrylamide des fragments d'ADN. Le gel de polyacrylamide a la capacité de séparer des fragments d'ADN dont la taille ne diffère que d'une seule base. On sépare dans le gel chacun des fragments, du plus petit au plus grand et on les détecte au passage par un faisceau laser qui excite la fluorescence et

une cellule photoélectrique qui lit la lumière émise à chacune des longueurs d'onde des fluorescences caractéristiques des quatre bases. L'ordinateur reçoit donc une série de mesure d'intensité lumineuse en forme de pics correspondant au passage de chacun des fragments : en interprétant la couleur de la fluorescence de chaque pic (électrophorégramme) l'ordinateur écrit la séquence de l'ADN.

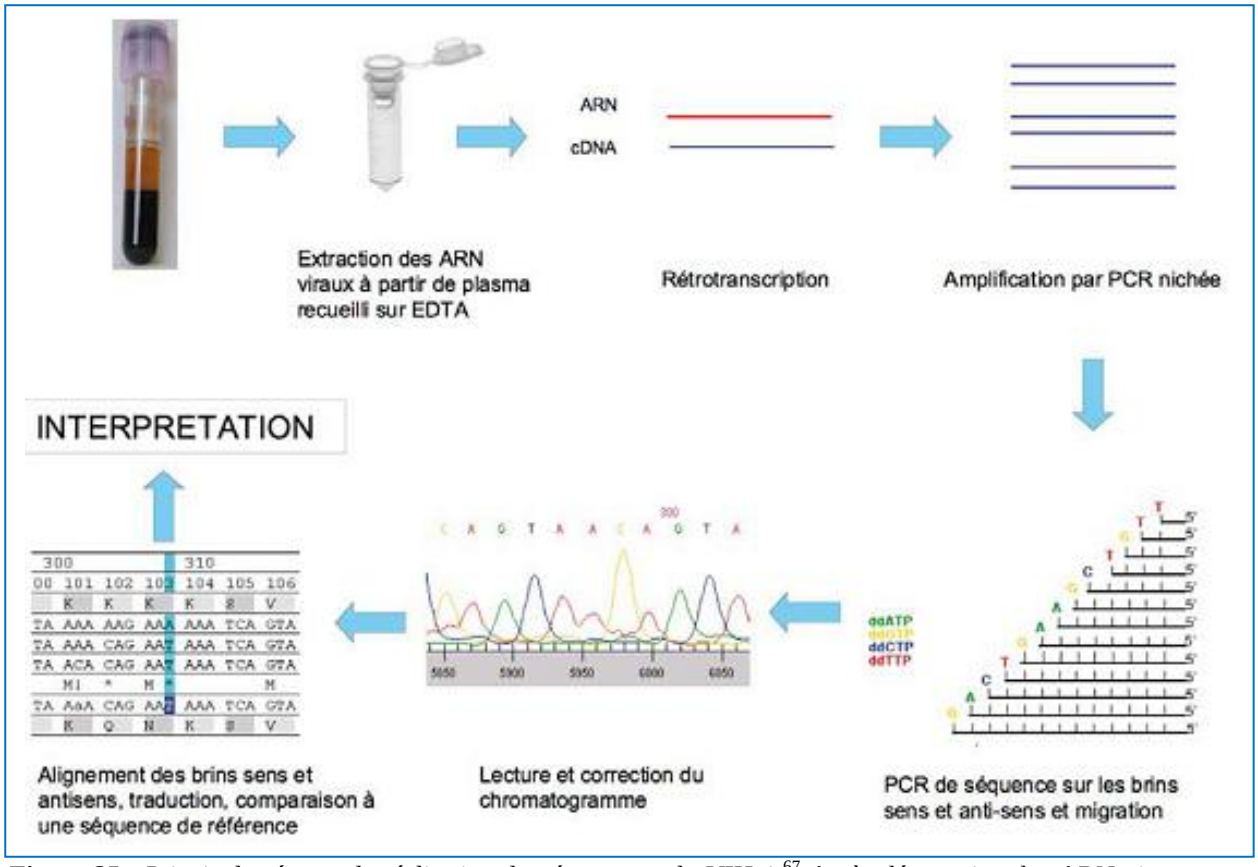


Figure 25 : Principales étapes de réalisation du génotypage du VIH-1.[67] Après décantation, les ARN viraux contenus dans le plasma sont extraits puis rétrotranscrits en ADNc. Les gènes d'intérêt sont amplifiés par PCR nichée puis séquencés. Les deux brins obtenus sont alignés, traduits et comparés à une séquence de référence.

2.4.2. Pratique du séquençage.

2.4.2.1. Prélèvement :

Les patients participant à l'étude ont été prélevés sur deux tubes EDTA (K3-EDTA ou K2-EDTA 1.5 mg/ml). Les tubes ont été centrifugés à 3000tr/ minute durant 20min. L'aliquotage est fait sous hotte à flux d'aire laminaire. Les tubes aliquotes sont en polypropylène de 01 ml nominal. Ils ont été conservés à la température de – 80°C au congélateur et acheminés dans du carboglace au CHU de Bordeaux.

2.4.2.2. Extraction de l'ARN viral

L'ARN du VIH-1 est extrait après centrifugation d'une heure de 1 ml de plasma avec le kit « High Pure Viral RNA » (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) selon les recommandations du fournisseur.

2.4.2.3. RT-PCR

La RT-PCR est réalisée en utilisant le kit « Titan One Tube RT-PCR » (Roche Diagnostics, Suisse), selon les instructions du fabricant.

Les amorces employées sont préparées à partir de solutions mères fabriquées sur commande. Elles sont utilisées à une concentration de 20 µM.

- **Conditions de RT PCR**

Les amorces utilisées pour amplifier le gène de la PR et de la TI et les programmes de RT PCR sont référencés sur le site de l'ANRS (www.hivfrenchresistance.org). Cf. Annexe 1

- **Composition du mélange réactionnel pour un échantillon**.

La composition du mix pour un échantillon est la suivante :

- 10 µl de tampon 5X
- 2,5 µl de DTT à 100 mM
- 4 µl de dNTPs à 10 mM
- 1 µl d'amorce sens
- 1 µl d'amorce antisens
- 1 µl de RNase inhibitor
- 1 µl d'enzyme mix
- 19,5 µl d'eau stérile

Aux 40 µl de mix précédemment réalisé pour chaque échantillon, on ajoute 10 µl d'ARN extrait.

Chaque manipulation comporte un témoin négatif pour vérifier l'absence de contamination.

- **Programme de la RT-PCR**

La réaction s'effectue dans des thermocycleurs Primus HT MWG AG Biotech®.

Le programme utilisé est le suivant :

- transcription inverse à 50°C pendant 30 secondes
- dénaturation par la chaleur à 94°C pendant 2 minutes
- amplification génique pendant 40 cycles :

94°C pendant 30 secondes (dénaturation)
55°C pendant 30 secondes (hybridation)
68°C pendant 90 secondes (élongation)
Le produit de PCR est conservé à +4°C.

2.4.2.4. PCR Nichée

Le produit de RT-PCR est alors utilisé pour une deuxième PCR avec des amorces internes, « nichées » dans le fragment de la première PCR.

- **Conditions PCR Niché :**

Les amorces utilisées pour amplifier le gène de la protéase PR et de la TI et les programmes de PCR sont référencés sur le site de l'ANRS (www.hivfrenchresistance.org) Cf. Annexe 1

- **Composition du mix pour un échantillon:**

- 10 µl de tampon 10X
- 10 µl de MgCl2 à 25 mM
- 2 µl de dNTPs à 10 mM
- 1 µl d'amorce sens
- 1 µl d'amorce antisens
- 0,4 µl d'Ampli Taq Gold
- 73,6 µl d'eau stérile

Les réactifs sont fournis par le kit Ampli Taq Gold Applied Biosystems de ROCHE.

Aux 98 µl de mix préparés pour chaque échantillon, on ajoute 2 µl du produit de RT-PCR.

- **Programme de la PCR Niché**

La réaction s'effectue de façon automatisée dans des thermocycleurs Primus HT MWG AG Biotech®. Le programme utilisé est le suivant :
- dénaturation par la chaleur à 94°C pendant 12 minutes
- amplification génique pendant 40 cycles :
94°C pendant 30 secondes (dénaturation)
55°C pendant 30 secondes (hybridation)
72°C pendant 2 minutes (élongation)
72°C pendant 7 minutes (pour le dernier cycle)

Le produit de PCR est conservé à +4°C.

2.4.2.5. Vérification de l'amplification par migration électrophorétique sur gel d'agarose

Le gel est obtenu en portant à ébullition 400 ml de tampon TBE 0,5X (tris-borate-EDTA) auxquels sont ajoutés 6 grammes d'agarose. Une fois la température du mélange redescendue aux environs de 60°C, 4 µl de bromure d'éthidium (BET) sont ajoutés. Après homogénéisation, l'ensemble est déposé dans la cuve électrophorétique. En revenant à température ambiante, la solution d'agarose se solidifie en gel à 1,5%. Ce dernier est ensuite recouvert d'une solution ionique assurant le passage du courant électrique à travers le gel. Cinq microlitres de produit de PCR sont mélangés à 2 µl de bleu de charge (composé dense de couleur bleue permettant d'objectiver le dépôt d'ADN) et le tout est déposé dans un puits du gel. La différence de potentiel appliquée (120 V) pendant 20 minutes permet à l'ADN de migrer de l'anode vers la cathode. La distance parcourue est inversement proportionnelle à la taille du fragment d'ADN. Un marqueur de poids moléculaire (Ready-Load 100bp DNA Ladder, Invitrogen, California, USA) est déposé en même temps que les échantillons dans un puits adjacent : il permet d'évaluer la taille du fragment amplifié.
Le bromure d'éthidium est un agent intercalant de l'ADN qui permet de visualiser l'ADN lorsque le gel est observé sous rayonnement ultraviolet, Cf. figure ci-dessous.

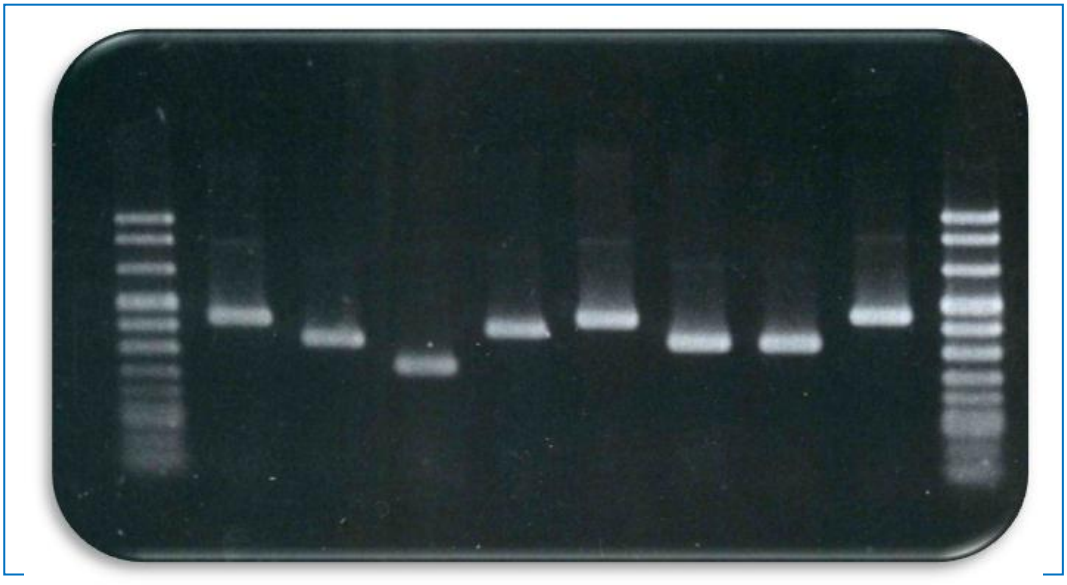


Figure 26 : Analyse du produit PCR Niché sur gel d'agarose.

2.4.2.6. PCR de séquençage

La réaction s'effectue de façon automatisée dans des thermocycleurs Primus HT MWG AG Biotech®.

- **Conditions de la réaction de Séquençage :**

Les amorces utilisées pour amplifier le gène de la protéase PR et de la TI et les programmes de PCR sont référencés sur le site de l'ANRS (www.hivfrenchresistance.org) Cf. Annexe 1

- **Composition du mix :**

Les dNTPs, les ddNTP fluorescents et la Taq polymérase sont fournis par le réactif « CEQTM 2000 D.T.C.S Quick Start » (Beckman-Coulter, Krefeld, Germany).
La composition du mix pour un échantillon est la suivante :
- 2 µl d'amorce
- 8 µl de DTCS Mix
- 4 µl d'eau

Les amorces utilisées sont celles de la PCR nichée du gène de la protéase, de la TI et de la gp41 à une concentration de 3,2 µM.
Aux 14 µl de mix préparés pour chaque échantillon, 6 µl de produit de PCR purifié sont ajoutés.

- **Programme de PCR de séquençage : 30** cycles :

96°C pendant 20 secondes
50°C pendant 20 secondes
60°C pendant 4 minutes
Le produit de la réaction est ensuite conservé à +4°C dans l'appareil.

2.4.2.7. Purification par gel-filtration sur résine Séphadex®G-50 (Amersham Biosciences)

Cette étape a pour but d'éliminer les nucléotides non incorporés et les amorces en excès. La plaque 96 puits MultiScreen HTS (Millipore, Bedford, MA) est utilisée comme support inerte de la résine G50. La purification sur colonnes de résine Séphadex® G50 dans les plaques MultiScreen HTS se décompose en plusieurs étapes :

- **Préparation des colonnes** :

Charger la résine sèche Séphadex® G50 dans les puits d'une plaque MultiScreen HTS en utilisant le chargeur de colonnes de 45 µl comme suit :

  - déposer la résine Séphadex® G50 dans chaque puits (45 µl) du chargeur de colonne
  - retirer l'excès de résine avec la raclette
  - plaquer la plaque MultiScreen HTS à l'envers sur le chargeur jusqu'au butoir et retourner l'ensemble
  - taper sur le chargeur pour évacuer la résine vers la plaque.
  - ajouter 300 µl d'eau stérile dans chaque puits contenant de la résine, fermer la plaque avec son couvercle et laisser incuber 3 heures à température ambiante.
- placer la plaque MultiScreen HTS sur une plaque de microtitration au format standard 96 puits et centrifuger l'ensemble pendant 05 minutes à 2500 rpm pour éliminer l'eau et compacter les mini-colonnes.

- **Filtration des produits de séquence :**
  - déposer les échantillons (20 µl) à purifier au centre des mini-colonnes
  - placer la plaque MultiScreen HTS sur une plaque de polypropylène au format standard 96 et centrifuger 5 minutes à 2500 rpm
  - récupérer les échantillons purifiés (environ 15 µl)

2.4.2.8. Migration et analyse

Les produits de séquence purifiés sont mélangés avec 25 µl formamide pour les dénaturer. Le contenu de chaque puits est transféré sur une plaque échantillon et recouvert d'une goutte d'huile afin de limiter l'évaporation. Cette plaque est insérée dans l'automate CEQ 2000 de Beckman-Coulter (figure 27). Ce dernier, relié à un ordinateur, effectue ensuite les autres opérations :

- migration des fragments obtenus lors de la réaction de séquence dans des capillaires contenant du gel d'acrylamide liquide,
- lecture par un spectrophotomètre laser orienté sur le capillaire du fluorochrome porté par chaque ddNTP au fur et à mesure de la migration des différents fragments et conversion

en électrophorégramme et obtention des séquences des gènes RT et PR pour chaque échantillon.

- analyse de ces séquences à l'aide du logiciel Ceq8000 Investigator (figure 28) se faisait en comparant le brin sens et le brin antisens aux séquences de référence de la PR et de la TI.

2.4.2.9. Analyse phylogénétique

- Préparation des séquences

Les séquences utilisées étaient les séquences nucléotidiques déduites de l'analyse précédente correspondant au gène de la PR et de la TI pour chaque isolat en enlevant les espaces entre chaque base. Pour chaque gène étudié, un fichier FASTA (voir résultat) a été crée contenant les séquences de tous les patients.

- Alignement des séquences

Les séquences ont été alignées entre elles et avec des séquences de référence (disponibles sur Los Alamos database (http://www.hiv.lanl.gov) support de l'arbre phylogénétique. L'alignement de toutes ces séquences a été réalisé grâce au logiciel Mega 5.05.

- Réalisation d'un arbre phylogénétique

La méthode employée était celle dite « du plus proche voisin » ou Neighbor-joining en utilisant les deux paramètres de Kimura qui fixent la fréquence de chaque nucléotide à 0,25 et déterminent un taux de mutation constant mais différent pour les transitions et les transversions. Le calcul des valeurs bootstraps permet de tester la fiabilité de l'embranchement formé. Il est basé sur l'utilisation de 100 essais de séquences aléatoires construites à partir de l'alignement de départ.

Figure 27 : séquenceur CEQ 2000 XL BECKMAN Coulter

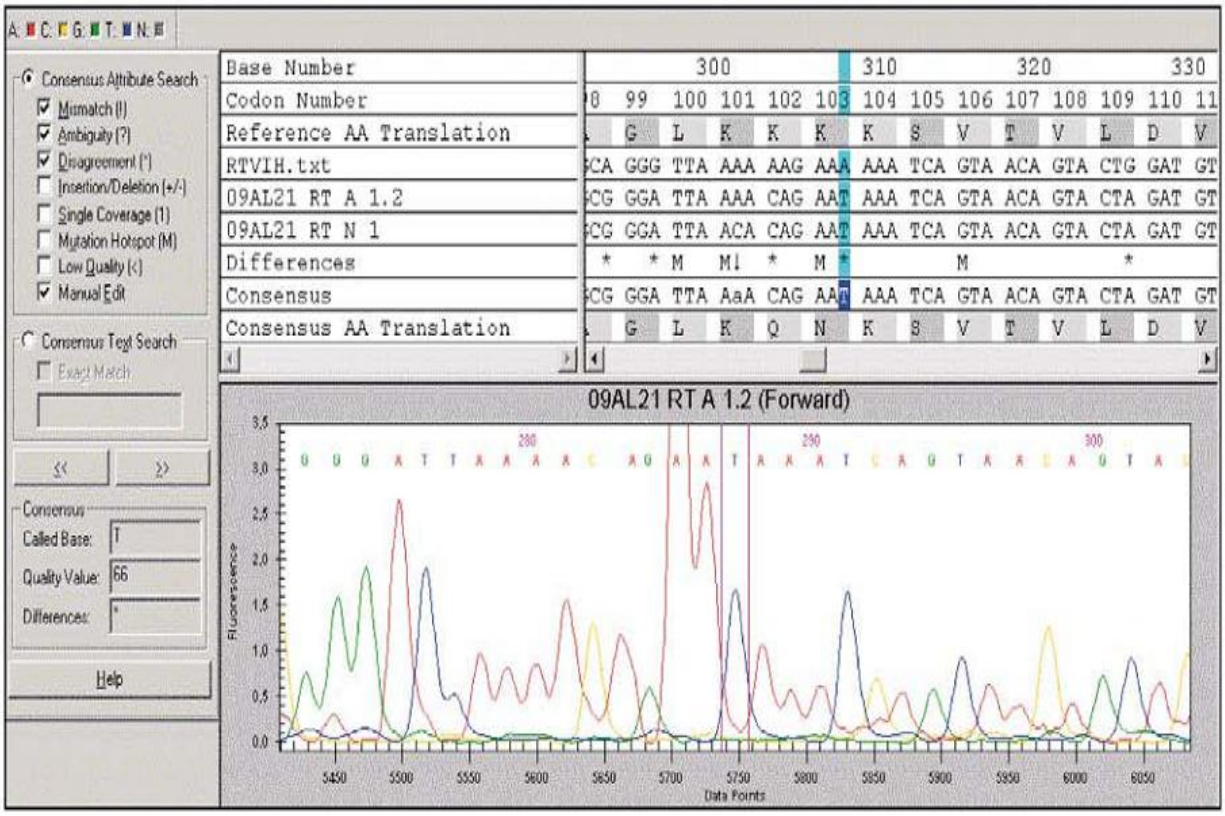


Figure 28: interface graphique du logiciel CEQ 8000 Investigator (électrophorégramme et comparaison d'une séquence de la RT)

II. RESULTATS

1. Caractéristiques des patients

1.1. Caractéristiques anthropométriques

1.1.1. Répartition des patients selon le sexe

Sur un effectif de 51 patients, les hommes représentaient la grande majorité à 84% (43/51) alors que les femmes ne représentent que 16% (8/51). Le sexe ration M/F était de 5.25.

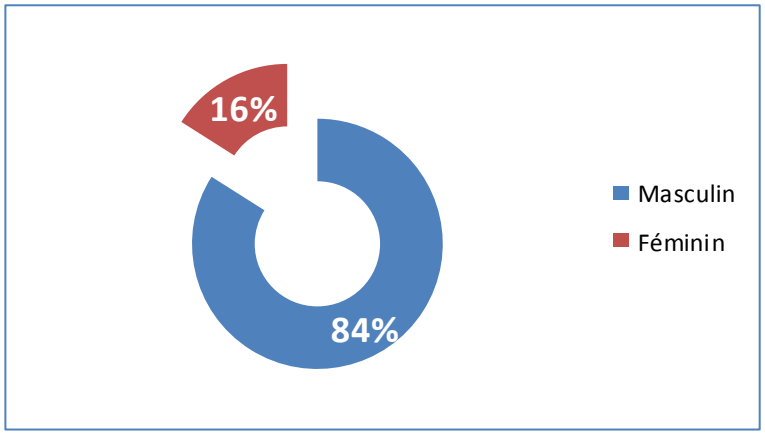


Figure 29 : Répartition des patients selon le sexe

1.1. 2. Répartition des patients selon la tranche d'âge

La tranche d'âge incluant 36 à 45 ans représente la tranche active la plus infectée par le VIH et représente 51% de la population étudiée Cf. Figure ci-dessous.

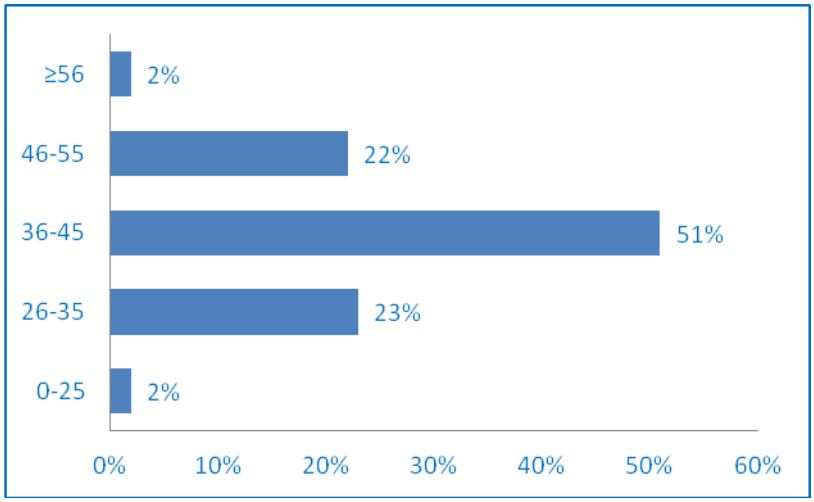


Figure 30 : Répartition des patients selon la tranche d'âge.

1.1. 3. Répartition des patients selon l'état matrimonial

Il s'agit des patients mariés, célibataires, veufs ou veuves représentés dans la figure ci-dessous. Des 08 femmes séropositives, une d'elle était veuve, les autres sont mariées dont une était enceinte.

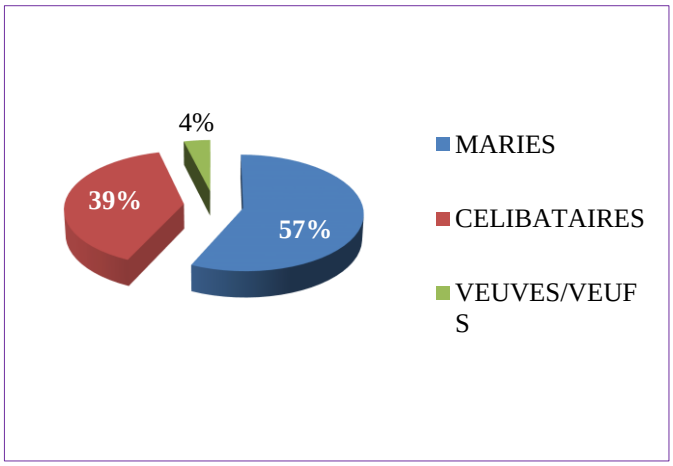


Figure 31 : Répartition des patients selon l'état matrimonial.

1.1. 4. Répartition des patients selon l'origine géographique

Notre cohorte a intégré un ensemble de patient dispersé sur le territoire marocain. Les origines géographiques de ces patients sont représentées dans la figure ci-dessous.

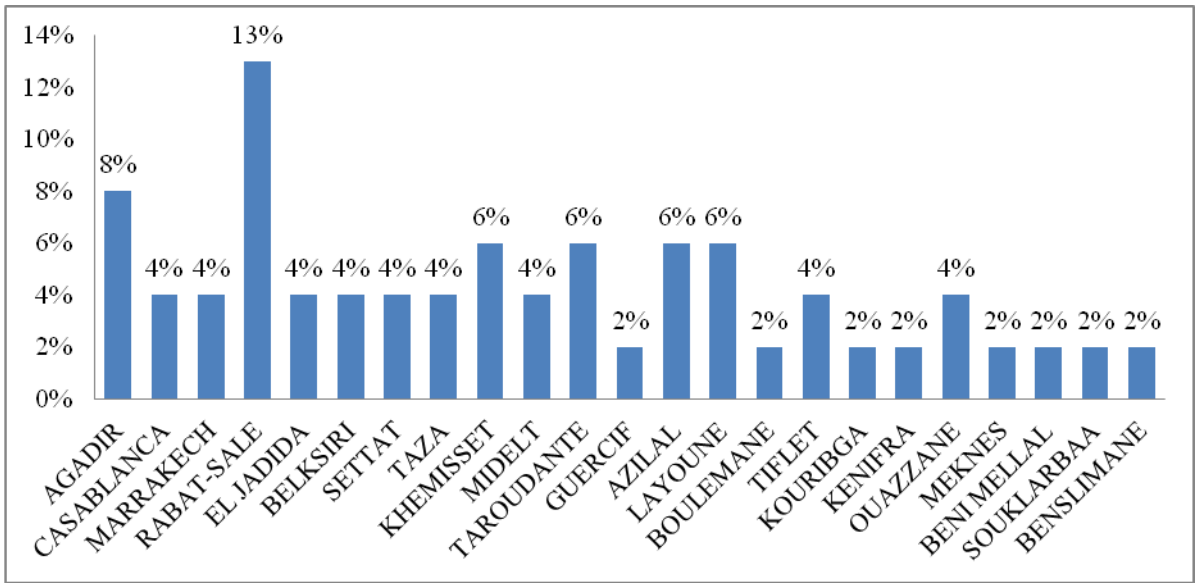


Figure 32 : Répartition des patients selon l'origine géographique.

1.2. Caractéristiques cliniques et thérapeutiques

1. 2.1. Caractéristiques cliniques

Le stade clinique des patients a été évalué par les cliniciens de l'HMIMV-Rabat. Il s'agit ici de la classification du CDC 1993 (Center for Disease control and Prevention) des Etats Unis d'Amérique. On note des cas d'infections opportunistes comme la tuberculose, la pneumocystose, la toxoplasmose, le zona ; des IST dont la syphilis ; des néoplasies telles que le cancer du col de l'utérus. Dans la population d'étude 37% des patients étaient de la classe C, 12% de la classe B, 39% de classe C et 12% de classe non signalée.

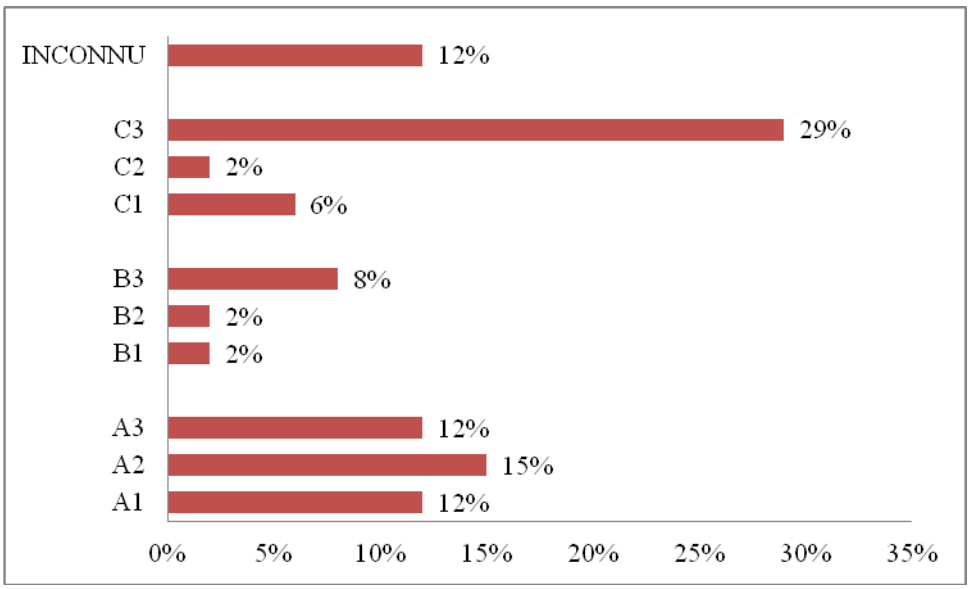


Figure 33 : Répartition des patients selon la classe clinique.

1. 2.2. Caractéristiques thérapeutiques

Il s'agit des patients sous traitement ou non (patients naïfs de traitement). Dans cette cohorte, les patients naïfs représentent 59% (30/51) de la population d'étude tandis que 41% (21/51) sont sous antirétroviraux. Tous les patients sous ARV sont en échec thérapeutiques et tous les patients naïfs sont éligibles au traitement ARV, Cf. Figure ci-après.

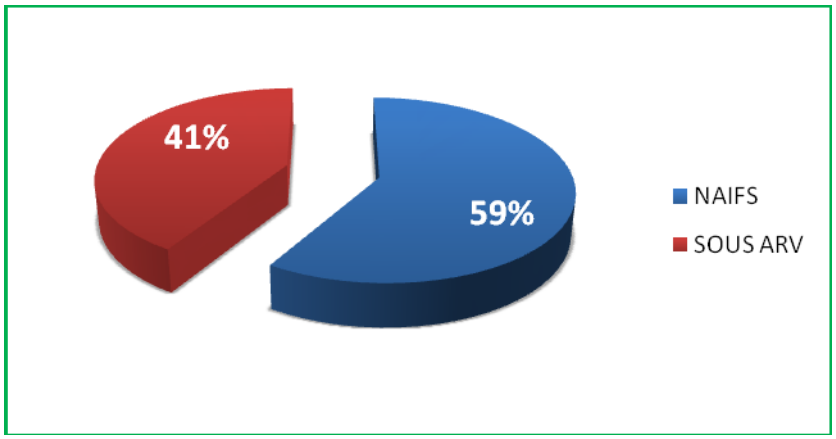


Figure 34 : Répartition des patients selon qu'il soit sous ARV ou naïfs.

1. 3. Caractéristiques immunologiques et virologiques

1. 3.1. Taux de LT CD4+

La figure ci-dessous représente le taux des CD4+ des patients de la cohorte qu'ils soient sous ARV ou non. La médiane était de 560/µl [0- 1012]. Nous remarquons que 39% de nos patients ont un taux < 200/ µl, 45% ont un taux de CD4+ ≥ 350/ µl et seulement 18% ayant un taux de CD4+ ≥ 500/ µl.

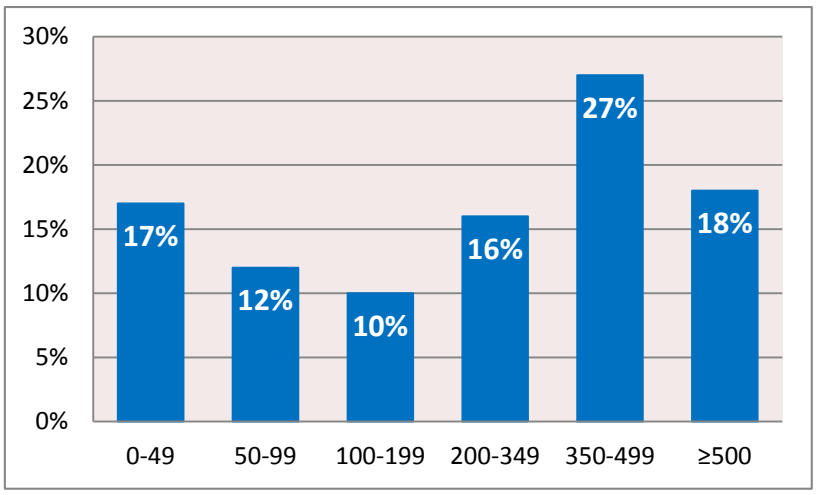


Figure 35 : Répartition des patients selon le taux de CD4+

1. 3.2. Charge virale (CV)

La charge virale des patients de notre cohorte est présentée par intervalle comme suit. La médiane est de 2 000 555 copies/ml (4.82 Log10) avec des valeurs extrêmes de 1110 et 4000000 copies/ml ([3.04 – 6.60], Cf. figure ci-dessous.

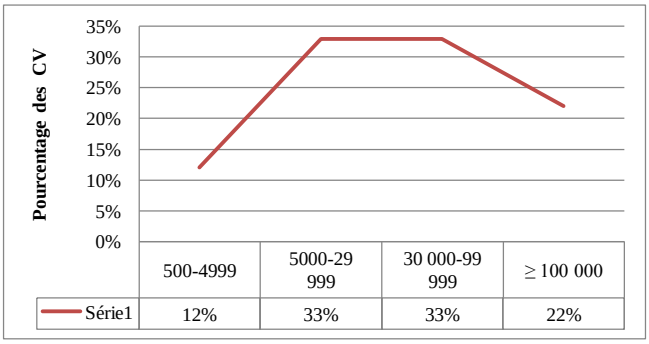


Figure 36 : Répartition des patients selon la charge virale.

2. Résultats du génotypage

Les gènes de la reverse transcriptase (RT) et de la protéase (PR) séquencés pour tous les patients ont donné les résultats suivants :

- Les séquences obtenues de la PR sont consignées dans le fichier FASTA PR ci-dessous
- Les séquences obtenues de la RT sont consignées dans le fichier FASTA RT annexe 3.
- L'arbre phylogénétique à partir des séquences de la RT est représenté dans la figure 37.
- L'arbre phylogénétique à partir des séquences de la PR est représenté dans la figure 38.
- La répartition des différentes souches est représentée dans les pages suivantes.

FASTA PR

>813.07PROT
CCTCAgATCACTCTTTGGCAACGACCCATcGTCaCAATAAAGATAGGAGGGCAAcTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTRTTAGAAGATATGTATTTGCCAGGAAAATGGAAACCAA
AAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATTAAAGTAAAACAGTATGATCAGATAGCcATAGAAATcGATGGaCATAAAGCTACAGGTACAGTaTTAATAgGACCTACaCCTGTcAACATAATTGGAAGAAATctGT
TGACTCaGATTGGtTGCACTTTAAATTttCCC
>942.08PROT
CCTCAGATCACTCTTtGgCAACGACCCaTCGTcACaATAAAGATAgGGGRACAASTAARGGAAGCTCTATTAgATAcaGGAGCAGATGATACAGTGTTAGAAGAAATAAGTtTGCCAGGGAGATGGAAACCAAAA
ATGATAGgGGGAATTGGAGGCTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCaGGTACCCATAGAAATtTGTGGACATaAAGCTATAGGTACAGTATTAATAGGACCTACCCCTGTCAAcATAATtGgAAGAaATCTGTtGA
CTMAGCtTGGTtGCAcTTTAAATTttcCT
>1492.07PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACgACCCATCGTCACAGTAAAGATAGGGGGGCAACTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAAATGAATTTACCAGGAAGATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAaAGTAAGACAATATGATCAGATACCCCTAGAAATTTGTGGACATAAGGCAATAGGTACAGTATTAGTAGgACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGRAA
TCTGTTgAcTCAGATTGGTTGCACTTTAAATTTCCCC
>1662.06PROT
CCTCArATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAATAAAGRTAGGGGGGCAACTAAAAGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGACATGAATTTGCCAGGAAAATGGAARCCA
AAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGGTACCCATAGAAATTTGTGGATATAAARCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAAT
CTGTTGACTCAGATTGGTtGCACtTTAAATTTTCCC
>3743.07PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCTTAGTCTCAGTAAGAATAGRGGGACAGTTAATAGAAGCCCTATTAGACACAGGAGCAGATGAYACAGTATTAGAAGACATAAAATTACCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTCATTAAAGTAAGACAATATGATCAGATACTTATAGAAATTTGTGGAAAAAAGGCTATAGGTACAGTATTGGTAGGACCTACACCCGTCAACATAATTGGAAGAA
ACATGTTGACTCAAATTGGTTGTACTTTAAATTTTCCA
>5395.09PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAGTAAAGATAGGGGGRCAACTAAGGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAgAAATAGATTTGCCAGGAAGATGGAAACCA
AAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAAATAAGCATAGAAATTTGTGGAAAGAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAA
TCTGTTGACTCAGATTGGTTGTACTTTAAATTTCCC
>5575.07PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCTCAATAAAGATAGGGGGGCARCTAAAGGAAGCTTTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGATATAGATTTGCCAGGAAGATGGAAACCA
AAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAAACAATATGATCAAGTATCTGTAGACATCTGTGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAAT
CTGTTGACTCAGATTGGTTGCACTTTAAATTTTCCC
>5628.08PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAGCGACCCTTAGTCRCAGYAAGAATTGGGGGACAGCTAATAGAAGCCCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAGATAAATTTACCAGGAAAATGGAAGCC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTCATCAAAGTAAGACaATATGATCAGATACTTATAGAAATTTGTGGAAAAAGGGCTATAGGTACAGTAcTGGTAGGACCTACACCCGTCAACATAATTGGAAgAAA
CATGTTGACTCAGATTGGATGTACTTTAAATtTTCCA
>5675.08PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACARTAAAGATAGGGGGGCAAATAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGATATAAATTTGCCAGGAARATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAAACAGTATGATCAGATAgGTGTAGAAATCTGTGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAA
rTTGTTGACTCAGATTGGTTGCACTTTAAATTTTCCC
>6206.09PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTTGTCACAATAAAGATAGAAGGGCAGCTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGaAGACATAAATTTGCCAGGAAGATGGAAACCA
AAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATAACCATAGAaATCTGTGGAAAGAAAGCTGTAgGTACAGTATTAGTAgGACCTACACCaGTCAATATAATtGGAAGAaATCT
ATTGACTCAGATTGGTTGTACtTtAAATTTtcCC
>7105.09PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAacGACCCcTCGTcaCAGTAAAGgTAgGGGGGCAAgTAAaGGAAGCTCTATTaGATaCAGGAGCAGATGATaCAGTAcTAgaAGAaATGAATtTGCcAGGaAaATGGAAACCaaaaATGAT
AgGGGgAATTGGAgGTTttATCAaAGTAaGACAGTATGATCAgATATGtGTaGAaATtTGTGGGCATAaaGcTATAgGTaCaGtATtaATAggACcYACACCgGTcaACATaAttgGaaGaAaTcTGttGActCaGATtgGCTGTACtttA
AattTtccc
>7631.09PROT
CCTCAaAtCaCTCTTTGGCAACGACCCTTAGTCACAgTAAgAATAGGGGGACAGCTAATAgAAgCCCTATtAGACACAGGAGCAgATGATAcaGTATtAGAaGAaATAaATTTACCAGGAaAATGGAAACCAAAAAT
GATAGGGGGAATTGGAGGTtTCATCAaAGTaAGACAGTaTGATCAgATaCCTcTAGAAATTTGTGGAaAAArGGCCaTAGGTACAGtATTAgTagGACCtACaCCTGTCAaCATAATTGGRCGAAAcaTGTTGACTCagA
TTgGTtGTACtTTAAAttTtcCc
>8034.08PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAGTAAAGATAGGGGGGCAACTAAAGGARGCTCTATTAGACACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAAATGAATTTGCCAGGAAGATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAgTATGATCAGATAGCCATAGAAATCTGTGGACATAAGGCTATAGGTACAGTGTTAATAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAA
TCTGTTGACTCAGATTGGTTGCACTTTRAATTTYCCC
>8688.09PROT
CCTCAAATCACTCTTTggCAACGACCCCTCGTCaCaATAAAGATAgGGGGGCAACTAAAGGAAGCTCTATTAgATACaGGAGCAGATGATACAgTATTAgAAGAaATDAGTtTGCCAGGAAGATGGAAACCAAAA
ATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAaGACAGTATGATCAGATACYCATAGAAATtTGTGGACATAAAGCTATAgGTACAGTATTAATAgGACCTACACCTGTCAAcATAATTGGAAGAaATCTGTtG
ACTCAAATTGGTTGCaCtTTAAATTtTcCC
>9205.08PROT
CCCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAGTAAAGATAGGGGGGCACCTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGATATAAATTTGCCAGGAAAATGGAAAC
CAAGAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAARACAGTATGATCAGATAACTGTAGACATCTGTGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAA
ATTTGTTGACTCAGATTGGTTGCACTTTAAATTTTCCC
>9844.09PROT
CCTCAgATCaCTCTtTGGcaaCGACCCcTCgTCacAGTAaAAATAgGGGGGCaAcTAaAGGAaGCTCTATTAgATACAGGaGCAgATGATACAGTATTAgAAGAAATGAgTTTGCCAgGAAGATGgAAGCCAAAAATGA
TagGAggAATTGGAGGTttTATCAaaGTaAgACAGTATGATCaGATACCCTtAGAaATtTGTgGACaTaAgGCTATAgGTaCagtaTtaATAGGACcTAcACcTGtcAACATAAtTggRaGgaATCtGTgAcTCaGaTTGGttgtActttAaa
TttTccc
>10345.08PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAGTAAAgRTAGAGGGGCAACTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAgGAGCAGATGATACAGTRTTAGAAGACATAAATTTGCCAGGAAAATGGAAACCA
AAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAAGTAWCTGTAGATATCTGTGGACATAAaGCTATAGGTACAGTATTRGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAAT
CTGTTGACTCAGATTGGTTGCACTTTAAATTTTCCC
>10375.08PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCATAGTCACAGTAAGAATAgAAGGGCAGCTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAgaAGAYATAAATtTRCCAGGAAAATGGAAACCAA
AAATGATAGGGGGAATTGGAGGGTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACTTATAGAAATTTGTGGaAAAAAGGCTATAgGTACAGTATTGGTAgGACCTACACCCGTCAACATAATtGGAAGRAACAT
GTTGACTCAGATtGGTTgCaCcTTAAATTTtcCa
>10458.08PROT
CCTCAAATCACTCTttggCaACGACCCTTAGTcAAAGTAAGAATAgRGGAACAGTTAATAGAAGCCCTATTAgACACAGGRGCAGATGATACAgTATTAGaAGAcATAAATtTACCAGGAAAATGGAAACCAaAAA
TGATAgGGGGAATTGGAGGTTTTATCAaAGTAAGACAGTATGATCAgATACTTATAGaAaTtTGTGGRAAAaGRGCCATAGGTACAGTATTAGTAGGWCCTACACCtGTCAACATAattGGACGAaATATGtTGACTc
AgAtYGGytGtaCTTTAAATttTCCA
>10744.07PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCCCAATAAGGATAGGGGGGCAACTAAAAGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAGGACATGAATTTGCCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGACCAAATACCCATAGAAATTTGTGGGCATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAA
ATTTGTTGACTCAGCTTGGTTGTACTTTAAATTTTCCC
>11178.07PROT
CCTCAAATcACTCTTTGGCAGCGACccCTAgTCaAAgTAAAAATAGGGGGcaAATAATAGAAGCTCTATtGGAcacaGGAGcaGATGAcACaGTATTAGAAGAAATAGATATAcCaGGAAAATGGAAACCAAAAAT
GATAGGGGAATTGGAGGTTtTATCaAAGTAAGACAGTATGATcAAatACTTATAGAAATTAGTGGAcaTAAGGCTATAGGGAcaGTACTAgTAgGACCTAcACCTATCAACATAATtGGAAgAAATATGTTGACTC
AgATtGGTTGTACGCTAAATtTTccA

>12087.06PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTTGTCACAGTAAAAATAGGAGGACAGCTAAGAGAAGCTCTGCTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGACATAGATTTAcAAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTtTATCAAGGTAAGACAATATGATCAAATACCTATAGAAATTtGTGGaAAAAAGGCTGTAGGCACAGtATTAGTAGgACctACACCTGTcAAcATAATtGGACGAAaTaTG
TTgaaTCArAtTGGcTGTAcTttAAATTttCC
>13253.07PROT
CCTCAAATCACTCTtTGGCAACGACCCCTCGTCACAATAAAGATAGAGGGGCAACTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAAATAAGTTtGCCAGGAAGATGGAAACCA
AaAATGATAGGGGGAATtGGAGGTTtTATCAaAgTAAGACAGTATGATCAAGTAgCTGTAGATATttGTGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATtAGTAgGACCTACACCTGTCAACATAATAGGAAGAAATCTGTt
GACTCAGATTGGTTGCACtYTAAATTTTcCC
>14107.06PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCTCTTGTCACAGTAAAGMTAGGGGGACAACTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTAATAGAAGATATAATTTTGCCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAAACAGTATGATCAAATAGCTGTAGACATCTGTGGACATAAAGCTRTAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACCCCTGTCAACATAATTGGAAGAAA
CcTGTTGACTCAGATTGGTTGCACTtTAAAYTTTCCC
>15113.09PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAATAAAGATAGGGGGGCAACTAAAAGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAGGACATGAGTTTGTCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGACCAAATACCCATAGAaATTTGTGGGCATAAAGTTATAGGTACAGTATTAATAGGACCtACGCCTGTCAACATAATTGGAAGAAA
TYTGTTGACTCAGCTTGGTTGTACTTTAAATTTtCCC
>15206.08PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTTGTCACAATAAAGATAGGGGGGCAACTAAARGAAGCTCTMTTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGACATGAATTTGCCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTaAGACAGTATGATCAgrTACCCATAGAAATTTGTGGATATAAAGCTATAGGTACAGTATTRGTAGGACCTACGCCTGTCAACATAATTGGAAGAAAT
CTGTTGACTCAGATTGGTTGCACTtTaaATTTtCCC
>15443.08PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAATAAAGATAGGGGGGCAACTAAAAGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAGGACATGAGTTTGTCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAWAGTAAGACAGTATGACCAAATACCCATAGWAATTTGTGGGCATAWAGTTATAGGTACAGTATTAATAGgACCYACGCCTGTCAACATAATTGGAAGAA
ATTTGTTGACTCAGCTTGGTTGTACTrTAAATtTtCCC
>15737.09PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTTGTCTCAGTAATAGTAGGAGGACAGCAAAGGGAAGCTCTCTTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGRAGAAATAMRTTTGCCAGGGAGATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAAATAACTATAGAAATTTGTGGAAAAAAGGCTATAGGTTCAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAA
ATATGTTGACCCAGCTTGGCTGCACTCTAAATTtTCCA
>196.09PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCaCAATAARGGTAGAGGGGCAACTGATGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGACACAGTATTAGAAGATACAAATTTGCCAGGAAGATGGAAACCA
AAATTGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAAACAGTATGATCAAATARCTGTAGAAATCTGTGGACATAAAGCTGTAGGTACAGTATTAGTGGGACCTACGCCTGCCAACATAATTGGAAGAAAT
TTATTGACTCAGATTGGTTGCACTTTAAATTTTCCA
>929.07PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCAGTAGTCACAGTAAGAATAGAAGGGCAGTTAAAGGAAGCTCTATTGGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGACATAAATTTGCCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACTTATAGAAATTTGTGGAAAAAAGGCTATAGGTACAGTATTGGTAGGACCTACACCCGTCAACATAATTGGAAGAA
ACATGTTGACTCAGMTTGGTTGTACCTTAAATTTTCCA
>1328.07PROT
cctCaAatCActctTtGGCaAcgAccaATAgTCAcagtAAaGAtAGgAGgGCARtTAAAGCAaGcTcTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGACATAAATTTGCCAGGAAAATGGAAACCAAAAATGATAgG
GGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACTTATAgAAATTTGTGGRAAAAAGGCTATAggTAcaGTATggTAGgGcCTAcACcaGtcaaCaTaAtggAaGaaACatgTtgactCAgAtTggttGTaccttaAatt
ttccA
>1429.06PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCGTTGTCACAGTGAGAGTAGGAGGACAGCTAAAAGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAGGAAATAAATTTGCCAGGAAGATGGAAGCC
AAAAATGATTGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACCTATAGAAATTTGTGGAAAAAAGGCTATAGGTACAGTATTGGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAA
ACATGTTGACTCAGATTGGCTGTACTTTAAATTTTCCAA
>1658.08PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAATAAGAATAGGGGGGCaACTAAAgGAAGCTCTRTTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGARGATATAAATTTGCCAGGAAAATGGAAACCA
AAAATGATAGGGGGaATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAAACARTATGATCAARTAKCTGTAGAYATCTGTGGACATAAAGCTATAGGTACAGTGTTAGTAGGACCTACACCtGTCAACATAATTGGRAGAAACC
TGTTGACTCAGATTGGTTGCACTTTAAATTTTCCC
>2288.06PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCATCGTCACAATAAAGATAGGAGGGCAACTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACGATATTAgAAGACATGCAGTTGCCAGGAAAATGGACACC
AAAAATAGTAGGGGGAATTGGAGGTTTTATTAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACCCATAGAAATCGATGGACATAAAGYTATAGGTACAGTATTAATAGGACCTACACCTGCCAACATAATTGGAAGAA
ATCTGTTGACTCAGCTTGGTTGCACTttAaATTTTCCC
>3062.07PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCMCTTGTCGCARTAARGATAGGAGGGCAGCTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAAATGGAKTTACCAGGAAGATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACARTATGAGCAGRTACCCATAGAAATMTGTGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCCACACCTGTCAACATAATTGGAAGAA
ATCTGTTGACTCAGATTGGYTGCACTTTAAATTTTCCC
>3668.09PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAATAAAGATAGGGGGGCAACTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAAATGAGTTTGCCAGGAAGATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACTCATAGAAATTTGTGGACATAAAGCTATAGGTACAGTATTAATAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAAA
TCTGTTGACTCAAATTGGTtGCACTTTAAATTTTCCC
>4173.08PROT
CCTCAGATCACTCTTtGGCAACGACCCCTCGTCACAGTAAAGATAGGGGGGCAACTAAAAGAGGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAaATGAGTTTGCCAGGAAGATGGAAGCCA
AAAATGATAGGGGGAATTGgAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACCCATAGaaATCTGTGGACATAAGGCTATAGGTACAGTGTTAATAGGACCTACACCTGTCAACATAATTgGAAGGAACCt
GTtGACTMAGATTGGTTGCACTTTAAATTTTCCC
>4555.08PROT
CcTCAAATCActcTttGGCAAcgGcCCCtcGtcACAGTaaAGGTAgGgGgCAacTaaAGGAagCtCTATTAgAcaCAGGAgCagATGATacAGTATtAgAAgAAaTGAATTTGCCAGGaAGATGgAAACCaaAaATGATAgGGggA
ATTGgaggTtTtATCAAAGtaAGACagTATGATcAAATACCTATAGaaATCTGTGGACATAaAGCCATgggTAcaGTattAgtaGGaccaACaCctGTcAAcatAAttggAAgGaAtCtgttgaCTCagatTGGTTgcACtttaaAtTttCCC
>4974.07PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCTCTTGTCACAGTAAAGATAGGGGGGCAACTAAAGGAAGCTCTMTTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGATATAAATTTGCCAGGAAAATGGAARCC
AAAAATGATAGGRGGAATTGGAGGTTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCaAATAACTGTAGACATCTGTGGACATAARGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCtGTCAACATAATTGGAAGAAAT
CTRTTGACTCAGATTGGCTGCACTTTAAATTTTCCC
>5166.07PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAATAAAGGTAGGGGGGCAACTCAAAGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAGGACATGAATTTGCCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAgGGGGAATTGGAGGTTTTATCAAAgTAAGACAGTATGATCAGATACCCATAGaAATTTGTGGGCATAaAGCTATAGGTACAGTATTAgTAGGACCtACACCTGTTAACATAATTGGAAGAAATTt
GTTGACTCAGCTTGGTtGTACTTTAAATTTcCCC
>5218.07PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCAGTAGTCACAGTAAGAATAGAAGGGCAGCTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGACATAAATTTGCCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTtTATCAAGGTAAGACAGTATGATCAGATACTTATAGAAATtTGTGGAAAAAAGGCTATAGGTACAgTACTGGTAGGACCTACACCCGTcAACATAATTGGAAGAAAC
ATGTTGACTCAGATTGGTTGTACCtTAAATTTTCCa
>7107.09PROT
CCTCAAATCACTCtTTGGCAACGACCTTtTGTcACAGTaaAGCTAGGGGGACaAYTAAAGGAAgCTCTATtAGATACAGGAgCaGATGATACAGTAATAGAAGATATAACTTTGCCAgGAAAATGGAAACCAAAAA
TAATAgGGGGAATTGGAGGTTTTATcAAAGTAAAACaGTATGATCaARTAGCtGTAgACaTTtGTGGACATAAaGCTATAGGTACAGTATTAGTAgGACCTACCCCTGTCAACATAATTGGAAGAAACCTGrTgACT
CAGCtTGGTtGCACTTtAAACttTCCC
>7370.09PROT
CcTCAGATcacTctttGGCaaCgACCCATcGTcACaATAaAGAtagGGgGACAaaTaAgGgaAgctCtAttagATACagGAgCAgATGATACagTGTtagaAgAaaTaAGTtTGCCAgGGAGATgGAAACCaaAAATGATAgGGGGAATTG
GAGGCTTTATCAAAGTAAgACAgTATGATCagGTACCCATAGAaaTtgTgGACaTaaagCTaTagGTACAgTATTaATAGGACCTACCCCTGtCAACATAATtGgAagAAATCTGTTGACTCAgCtTGGTtGcACTtTAAATTtt
cCT
>10437.07PROT
CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCATCGTCACAATAAAGATAGGAGGGCAACTAAAGGAAGCTCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTRTTAGAAGATATGTATTTGCCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATTAAAGTAAAACAGTATGATCAGATAGCYATAGAAATCGATGGRCATAAAGCTACAGGTACAGTRTTAATAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGAAGAA
ATCTGTTGACTCAGATTGGYTGCACtTTAAATTTTccC
>13054.08PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAGCGACCCTtAGTCGCaGTAaGAaTTGGGGGACAGCTAATAgAAGCCCTATTAGATACAGGAGCAGATGATACAGTATTAGAAGAGATAAATTTACCAgGAAAATGGAAGCCAAA
AATGATAgGGGGAaTTGGAGGTTTCATcAAAGTAAGACaATATGATCAgATAcTTATAgAAaTTtGTGGAaAAAGGGCTATAGGTACaGTACTGGTAGGACCTACACCCGTCAACATAATGGAAgaAACATGTTGA
CTCAGATTGGATGTACTTtAaatTrTcCA
>13842.08PROT
CCTCAAATCACTCTTTGGCAACGACCCTTAATCACAGTAAGAATAGGGGGACAGATAATAGAAGCCCTATTAGACACAGGGGCAGATGATACAGTATTAgAAGAAATAAATTTACCAGGAAAATGGAAACC
AAAAATGATAGGGGGAATTGGAGGGTTTATCAAAGTAAGACAGTATGATCAGATACTTCTAGAAATTTGTGGAAAAAAGGCTATAGGTACAGTATTAGTAGGACCTACACCTGTCAACATAATTGGACGAA
ATATGTTGACTCAGATCGGTtGTACTTTAAATTTTACC
>14575.08PROT
CCTCAGATCACTCTtTGGCAACGACCCCTCGTcCCAATAAGGATAGGGGGGCAACTAAAAgAAGCTCTATtAGATACAGGAGCAgATGATACAGTATTAGAgGACATGAATTTGCCAgGAAAATGGAAACCAAa
AATGATAGGGGGAATTGGAGGTTTTATcAAAGTAAGACAGTATGACCAAATAcCCATAGAAATTTGTGGGCATAaAGCTATAgGTACAGtATTAGTAGGACCTACaCCTGTCAACaTaATTGGAAGAAATAtGTTg
ACtCAGCTTGGTTGTacTtTAAATTTTCCC
>15183.06PROT
CCTCaAATCACTCttGGCAgCGACCCATAGTCACAGTAAaAATaGGGGGACaGATAATAGAAGCCCTtTtAGACACAGGAGCaGATGACACAgTATtAGAgGACATAgAATtACCAgGAaGATGGAaACCAAaaATGA
TAGGAGGAATtGGAGGTtTTGTtAaAGTAaGACAaTATGATCaAATACCTATGGAAATTTGTGGGAAAAaAGTTATAgGGACAGTACTAGTAgGACCTACACCtGCCAaCATAAtTgGGAGAaATGTGWtGACTcaGAT
TGGTtGTACTCTAAATttTcCa

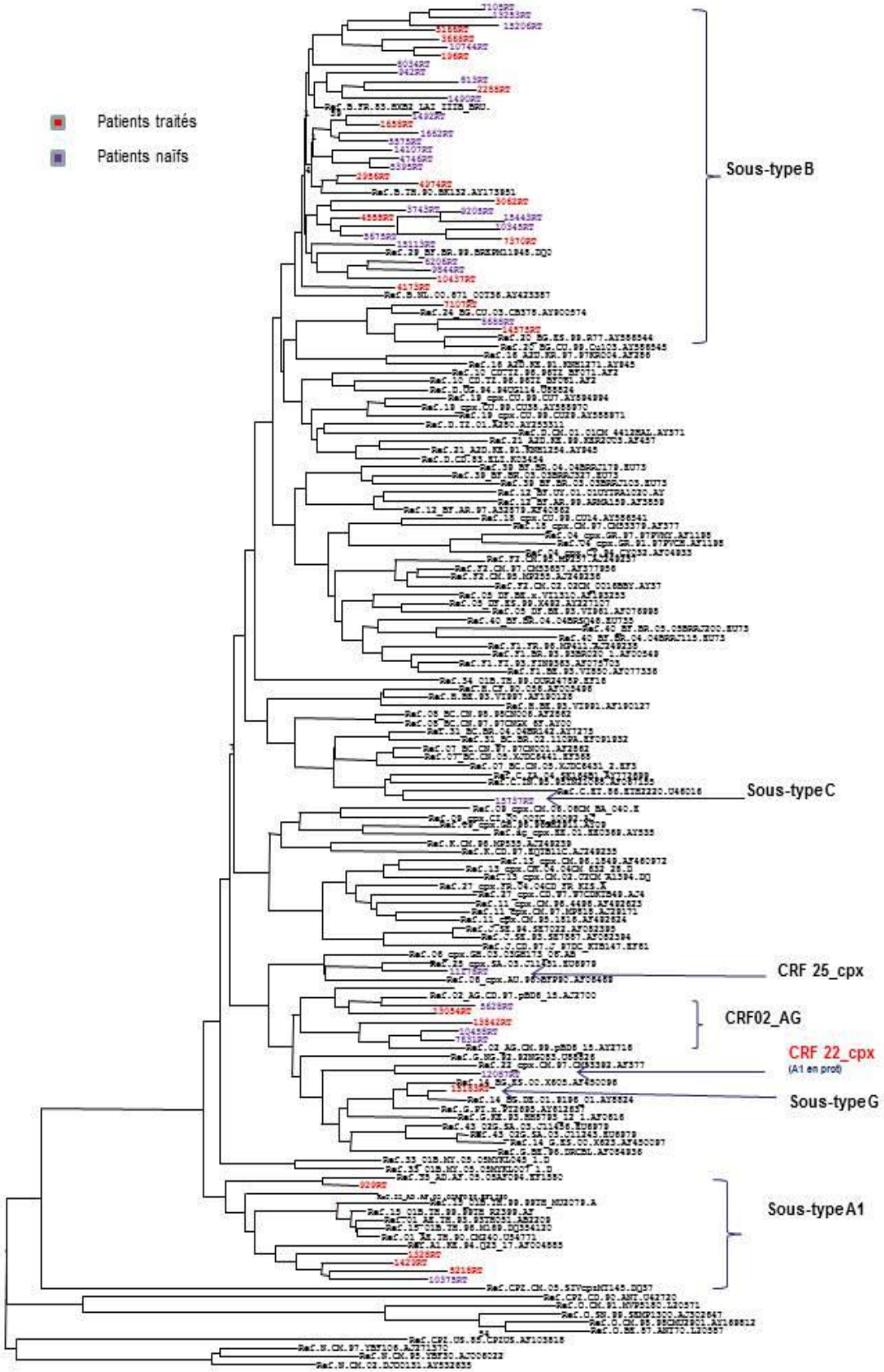


Figure 37 : Arbre phylogénique à partir des séquences du gène de la RT

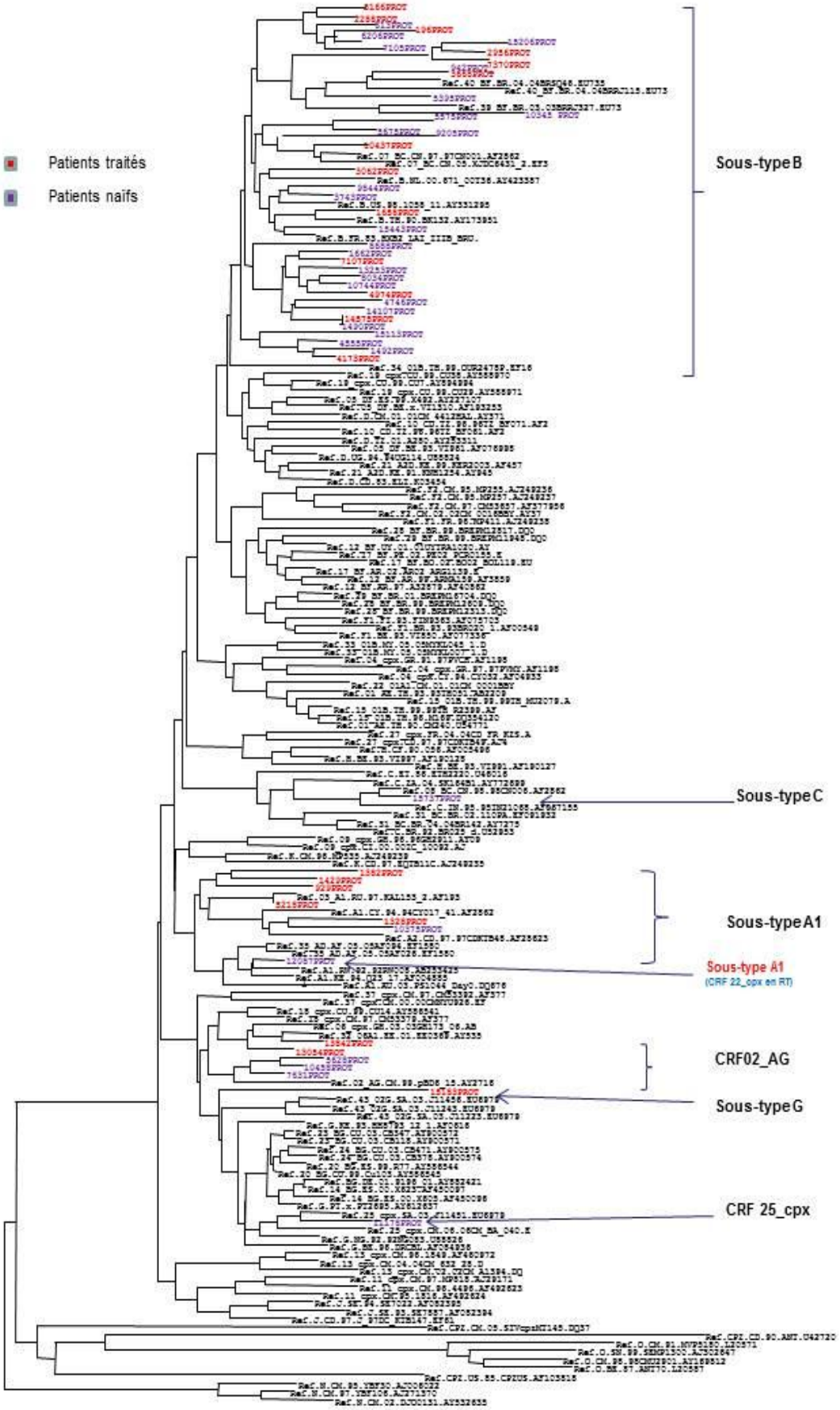


Figure 38 : Arbre phylogénique à partir des séquences du gène de la Protéase

2.1. **Souches révélées par les séquences de la transcriptase inverse**

L'analyse phylogénique à partir des séquences du gène de la reverse transcriptase a montré la répartition suivante : le sous-type B représente 72% des souches étudiés, CRF02_AG 10%, A1 10%, C 2%, G 2%, CRF25_cpx 2% et le CRF22_cpx 2%. Cf. figure ci-dessous.

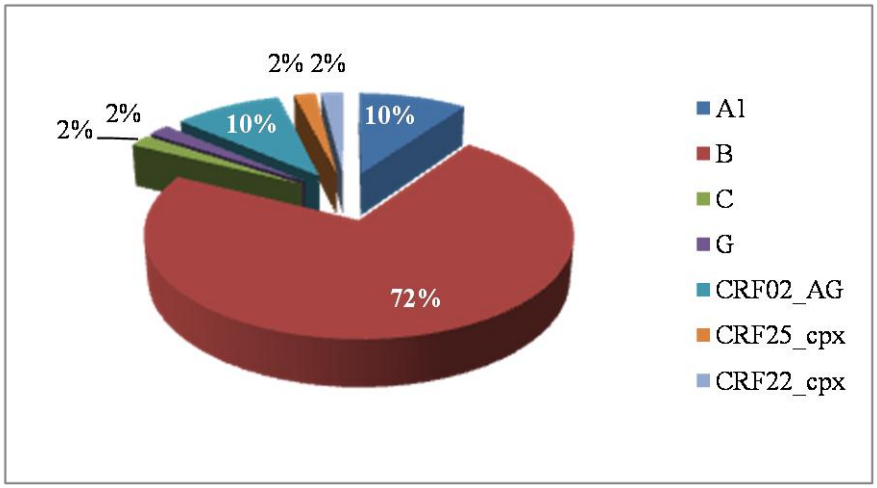


Figure 39 : Répartition des souches révélées par les séquences de la RT.

2.2. Souches révélées par les séquences de la Protéase

L'analyse phylogénique à partir des séquences du gène de la protéase a montré la répartition suivante : le sous-type B représente 72% des souches étudiés, CRF02_AG 10%, A1 12%, C 2%, G 2% et le CRF25_cpx 2%, Cf. figure ci dessous.

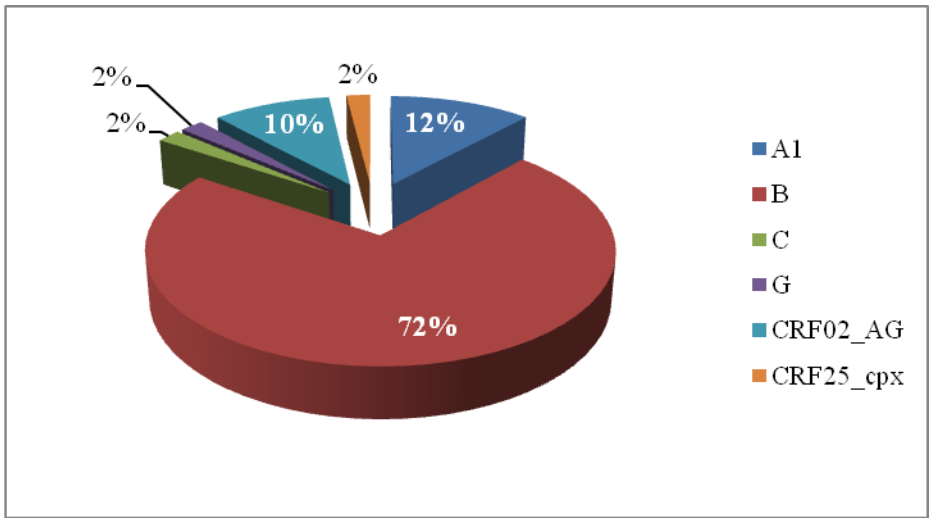


Figure 40 : Répartition des souches révélées par les séquences de la Protéase

2.3. Conciliation des génotypes identifiés

L'analyse phylogénétique de la TI et de la PR ont fourni des génotypes concordants pour tous les échantillons à l'exception d'un seul. Pour l'échantillon en question, l'analyse phylogénétique de la TI a donné le génotype CRF22_cpx tandis que celle de la PR, le génotype A1. Nous considérons cet échantillon comme un inter-recombinant A1/CRF22_cpx.

En récapitulatif, les souches isolés sont : B (72%), CRF02_AG (10%), A1 (10%), C (2%), G (2%), CRF25_cpx (2%) et l'inter-recombinant A1/CRF22_cpx (2%), Cf. figure ci-dessous.

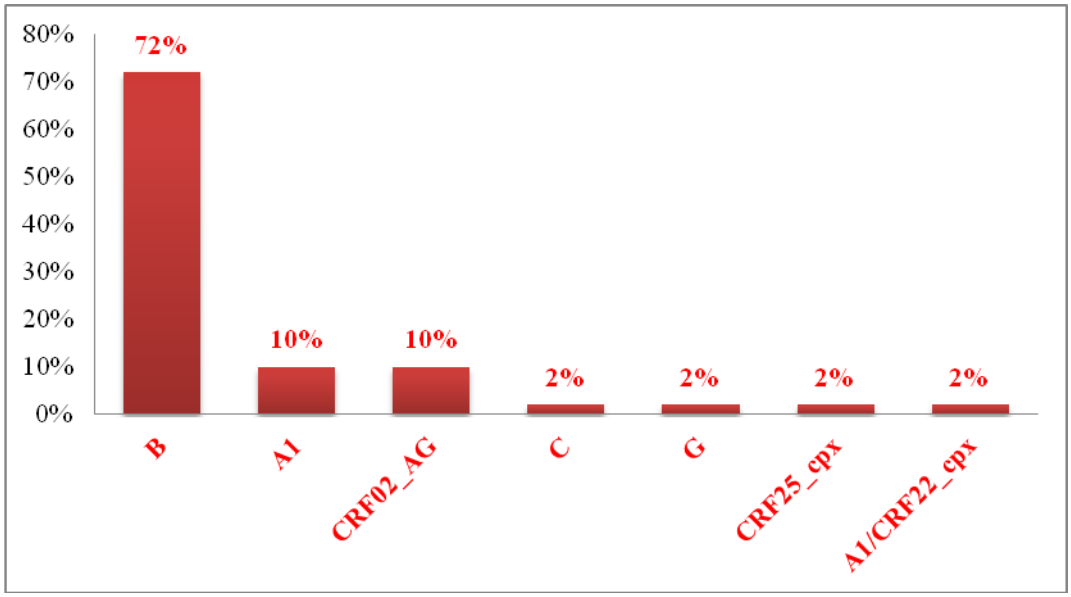


Figure 41 : Répartition des génotypes révélés par les séquences des gènes RT et PR.

2.4. Les Souches de VIH-1 identifiées chez les patients naïfs de traitement

Nous avons identifié le génotype A1, B, C, CRF02_AG et A1/CRF22_cpx avec respectivement une fréquence 14%, 67%, 3%,9% et 3% chez la patients hors traitement pharmacologique.

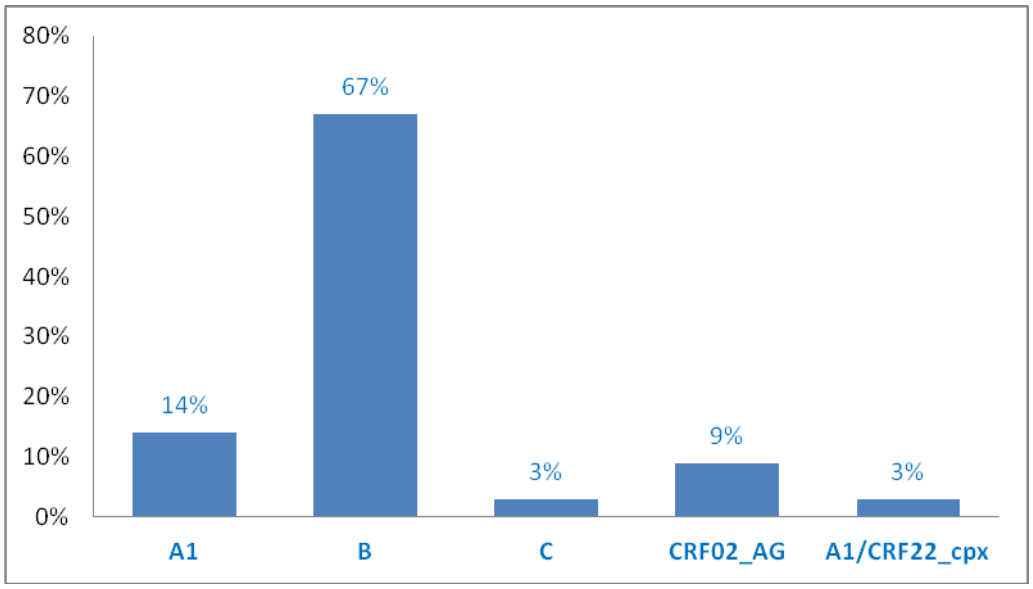


Figure 42 : Répartition des souches VIH-1 naïfs chez les patients hors ARV

2.5. Les Souches de VIH-1 isolées chez les patients sous ARV.

Chez les 21 patients (41%) en échec thérapeutique, nous avons identifié les génotypes suivants : A1 (7%), B (77%), G (3%), CRF02_AG (10%) et CRF25_cpx (3%).

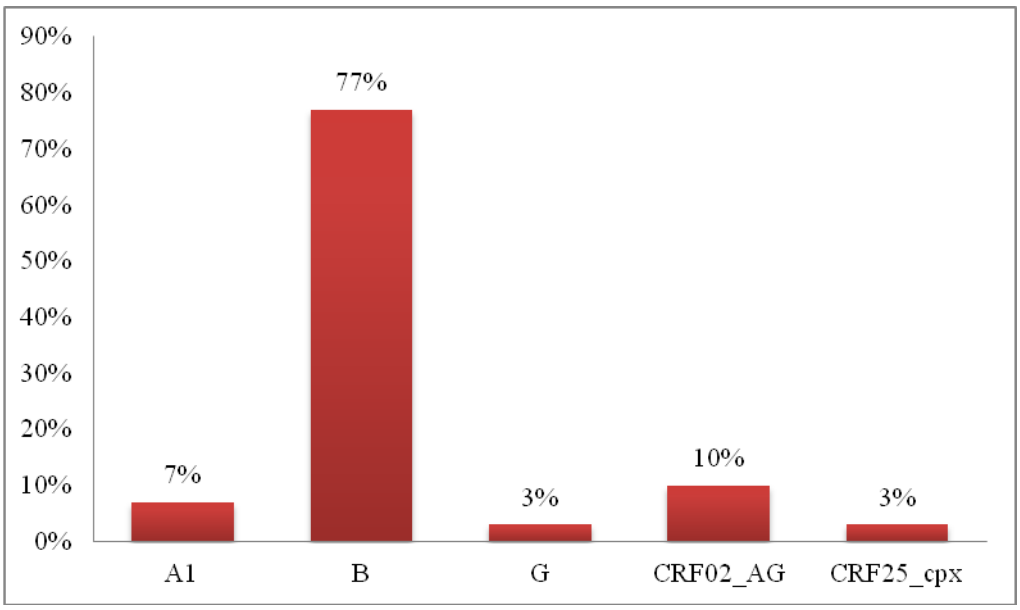


Figure 43 : Répartition des souches de VIH-1 chez les patients en échec thérapeutique.

III. DISCUSSION

La problématique sanitaire du VIH/SIDA n'épargne aucun pays de la planète en dépit de la marche de l'accès universel au traitement antiretroviral et les efforts consentis en matière de prévention. La lutte contre le VIH/SIDA dépasse le seul cadre médico-économique, pour impliquer la prise en compte de la stabilité socio-politique et les considérations anthropologiques, sans perdre de vue le revers de la mondialisation faisant de la planète un gros village, où les peuples n'ont jamais été aussi proches de par les voyages internationaux et les mouvements migratoires.

Le Maroc fait partie des pays de faible prévalence (0,11 %) [76], mais le risque d'une évolution rapide n'est pas à écarter à cause de sa situation géographique où conflue un nombre important de migrants originaires de pays voisins sub-sahariens, sévèrement touchés par la pandémie VIH/SIDA.

Le VIH est caractérisé par sa grande variabilité génétique, qui confère au virus un grand pouvoir d'adaptation à son hôte. Ceci va lui permettre d'échapper en particulier aux réponses immunes ou aux thérapeutiques antirétrovirales par sélection des mutants capables de résister aux processus d'inhibition de la réplication virale. En effet, des travaux ultérieurs ont bien montré qu'il n'existe pas de souches virales identiques et que chez un même malade, le virus est présent sous forme d'une population virale polymorphe avec une multitude de génomes différents d'un organe à l'autre. Plusieurs facteurs agissant de façon concomitante ou non permettent d'expliquer ce phénomène de variabilité génétique (Cf. variabilité du VIH).

1. Caractéristiques des patients

Les résultats de notre série ont montré que 51 % des patients infectés avait un âge compris entre 36 et 45 ans, 37% présentaient un stade clinique C, qui est le stade SIDA avec apparition des infections opportunistes. D'autre part, un nombre important de patients a été diagnostiqué à un stade avancé d'immunodépression, puisque 39% d'entre eux avaient moins de 200 CD4 + /µl, 55% avaient un taux de CD4 inférieur à 350/ µl, 43% avaient un nombre de cellules CD4 + variant entre 200 et 499/µl et seulement 18% ont maintenu un taux de lymphocytes T CD4 + supérieur ou égal à 500 /µl.

Ces résultats concordent avec les autres études réalisées au Maroc, qui ont montré que le diagnostic de l'infection à VIH en général se fait à un stade avancé de l'infection, ce malgré les multiples programmes de dépistage et de sensibilisation. Cela pourrait être lié à une faible adhésion à ces efforts et aux difficultés d'accès au système de soins de santé pour certaines populations, surtout dans les milieux ruraux [84].

2. Diversité génétique du VIH-1 au Maroc

L'analyse phylogénétique des 51 spécimens étudiés a permis d'identifier le sous-type B, les sous-types A1, C, G et des formes recombinantes CRF02_AG, CRF25_cpx et CRF22 du VIH-1. En l'occurrence, le sous-type B a été majoritaire avec un taux de 72%, le sous-type A1 et le CRF02_AG viennent à égalité avec 10% chacun des souches identifiées, suivi des sous-types C, G et du CRF25_cpx qui ont été aussi à égalité avec 2% des parts d'infection à VIH-1, enfin un inter-recombinant A1/CRF22_cpx qui était présent dans 2% des cas. On note de ce fait que les souches de VIH-1 non-B représentent 28% des cas d'infection à VIH-1 dans notre cohorte.

Des études récentes réalisées au Maroc ont rapporté les résultats suivants :

- Bakhouch and al. (Institut pasteur de Casablanca) [55], ont identifié en 2009 des souches de sous-type B (74.6%), CRF02_AG (15.5%), C (1.4%), G (2.8%), F2 (1.4%) CRF01_AE (4%) dans une cohorte de 98 patients naïfs aux ARV entre juin 2004 et Juillet 2007. Nous avons rapporté en plus de ces souches isolées par cette étude, le sous-type A1, le CRF25_cpx et l'inter-recombinant A1/CRF22.
- EL Annaz and al (Laboratoire de Virologie de l'HMIMV de Rabat), ont mis en évidence en 2010, dans une cohorte de 91 patients naïfs aux ARV, des souches de sous-types B (74%) , CRF02_AG (15%), A1 (6%), C (2%), F1 (1%), CRF09 (1%) et le CRF25-cpx (1%) [33]. Notre étude allonge cette liste en identifiant de plus le sous-type **G** et l'inter-recombinant A1/CRF22.
- Los Alamos National Laboratory HIV database (http://www.hiv.lanl.gov) mise à jour en 2010, enregistrait au Maroc les souches circulantes suivantes : sous-type B (75.3%), A1/G (9.4%), A (5.9%), CRF02_AG (2.4%), C (2.4%) , G (2.4%), F (1.2%) et CRF09_cpx (1.2%) sur un total de 85 souches marocaines de VIH-1 identifiées [36].

Notre étude confirme la diversité génétique du VIH-1 au Maroc. En la conciliant avec les études antérieures, nous notons qu'en 2010 circulaient 12 sous-types et formes de VIH-1 au Maroc à savoir les souches B, A1, CRF01_AE, CRF02_AG, CRF25_cpx, CRF09_cpx, C, G, F1, F2, A1/G, et A1/CRF22_cpx.

Au Maghreb des études sur la diversité génétique du VIH-1 rapportent des résultats comparables :

- En Algérie, d'après une étude réalisée sur 134 patients en 2007, les souches circulantes étaient le sous-type B (56%), A1 (4%), CRF06_cpx (4 %), des inter-recombinants CRF02_AG/CRF06_cpx, B/CRF06, B/CRF03_AB, A/CRF02, B/CRF06/CRF02, G/CRF02/B, B/CRF02, G/CRF06, B/F2 (9,7 %), suivi par des sous-types G, A et D [55].

Dans le pourtour de la méditerranée et en Europe, des études ont montré les résultats suivants :

- En France, J-M Chaix and al, ont rapporté dans une large cohorte rétrospective, l'évolution des souches de VIH-1 entre 1996 et 2006. Les Non-B étaient passés de 10.3% (16/156)1996-1998, à 18.8% (45/240) entre 1999-2000, à 24.4% (73/299) en 2001–2002, à 27.6% en 2003–2004 (88/319) et à 25.5% (106/415) en 2005–2006 [58]. Les souches non-B identifiées étaient le sous-type A, C, D, F, G, J, CRF01_AE, CRF02_AG (50%), CRF05, CRF06, CRF09, CRF11, CRF13, CRF18, CRF27 [59], et URF_BC [60]. En 2009, P.Recordon-Pinson et al. ont identifié en France d'autres formes recombinantes telles J/A, A/CRF02, A/B, A/G, D/B, B/CRF02 [61].
- En Grèce, chez 101 patients nouvellement infectés entre septembre 2002 et Juillet 2003 par le VIH-1, les souches identifiées étaient des sous-type B (48%); A (33%); C(4%); G (4%) ; F (1%); CRF02 (1%); CRF06 (1%); CRF01_AE (1%); F/B (1%) et G/B (1%); 99G [56]. Dans cette étude les non-B étaient majoritaires avec 52%. L'auteur rapporte que le cas grec est similaire au Portugal où il y avait une prédominance du sous-type G [72], contrairement à l'Espagne et l'Italie où les non-B sont faiblement sévissant [57].

Qualitativement, notre étude va en accord avec toutes ces études citées, confirmant ainsi l'extrême diversité génétique du VIH-1 dans la région méditerranéenne.

3. Emergence des sous-types non B du VIH-1 au Maroc

Notre étude a montré la prédominance du sous-type B au Maroc. Cependant, nous avons rapporté une augmentation relative de la prévalence des sous-types non-B à hauteur de 28% contre 26% entre 2005-2009 [33], 25.4% entre 2004-2007 [55], 21% entre 2001-2004 [79], et seulement 6.5% en 1997 [78]. Cela nous permettrait de nous prononcer sur l'évolution de l'épidémiologie moléculaire du VIH-1 au Maroc. Ainsi les soustypes non-B du VIH-1 sont passés de 6.5% en 1997 à 28% en 2011, rappelant par là, le cas de la France où les non-B sont passés de 10% en 1996 à 25.5% en 2006 [2, 8,58].

4. Origine des souches non-B du VIH-1 au Maroc

L'écrasante majorité du sous-type B sur les non-B du VIH-1, nous permet d'affirmer en connaissance de l'épidémiologie moléculaire du VIH de par le monde, que ces derniers sont des souches importées d'Afrique sub-saharienne [33,55]. Il en est de même de l'avis des auteurs algériens, grecs et français quant à l'origine de leurs souches non-B [56, 57, 58, 59, 60,61], car tous ces pays à l'instar des pays de la méditerranée et d'Europe Occidentale ont en commun un mouvement de population transcontinental : l'immigration des sub-sahariens qui seraient les vecteurs présumés de l'importation des souches africaines en Europe via le Maghreb.

Précédemment des chercheurs marocains avaient affirmés que les souches du VIH-1 de sous-type non-B étaient en progression en parallèle au flux migratoire subsaharien via le Maroc [50, 62,63]. Ils soulignent particulièrement le CRF02_AG [50,62] (10% dans notre étude) qui est la souche sévissant majoritairement en Afrique de l'Ouest [54, 64]. Dans la cohorte française, le CRF02 représentait 50% des cas de non-B témoignant de l'avis des auteurs des liens entre la France et l'Afrique de l'Ouest [8, 50,52]. Il en serait de même dans le cas du Maroc. Les liens démographiques entre le Maroc et l'Afrique subsaharienne peuvent se décliner en les points suivants :

- L'immigration clandestine subsaharienne :

Elle est bien perceptible au Maroc, qui, depuis la dernière décennie en est devenu une véritable plaque tournante vu sa position géographique à seulement 15 kilomètres des côtes européennes. Notre argument premier en faveur de l'importation des souches non-B au Maroc est bien l'immigration clandestine subsaharienne.

- Les étudiants sub-sahariens au Maroc :

Ceci remonte aux années 1980. Selon l'Agence Marocaine de Coopération internationale (AMCI), en 2008, 7358 boursiers et non boursiers subsahariens sont inscrits. Chaque année quelques cas de séropositivité sont dépistés par l'Association de Lutte Contre le SIDA au Maroc (ALCS) qui commémore la journée mondiale du SIDA en partenariat avec l'Amical des Médecins et Pharmaciens Etrangers de Rabat (AMPER) sous l'égide de l'AMCI.

- Les marocains qui résident ou qui séjournent longtemps en Afrique sub-saharienne. La descente des marocains en Afrique prend de l'ampleur depuis la décennie écoulée. En 2010, le Maroc était en coopération bilatérale très active avec une trentaine de pays africains. Ceci est matérialisé par l'implantation croissante des entreprises marocaine en Afrique au Sud du

Sahara : Attijariwafa Bank au Burkina Faso, Mali ; Maroc télécom au Burkina Faso, Sothema (West Africa Pharma) au Sénégal, Managem au Gabon, la gérance du port de Malabo en Guinée Equatoriale et la Royal Air Maroc etc.

5. Origine du soustype B du VIH-1 au Maroc

Dans notre étude, nous rapportons 72% de taux de VIH-1 de sous-type B, confirmant que ce dernier est prépondérant au Maroc [33, 55, 62,63 48]. L'explication à la présence du VIH-1 de sous-type B tient au tourisme des occidentaux au Maroc [55, 78]. Certes, le tourisme de masse au Maroc a atteint la barre de 8 millions en 2009 avec une majorité écrasante des occidentaux chez qui, le sous-type B est majoritaire. Allons-nous considérer la présence du VIH-1_B comme l'aboutissement d'une foultitude de cas d'importation de l'Occident au Maroc à travers des décennies? Ces interrogations soulèvement la mystérieuse origine de l'épidémie du VIH à travers le monde. Nous adoptons le principe de précaution étant donné que la communauté scientifique reste dubitatif quant à affirmer comment le VIH a pu se propager à travers le monde entier à partir de la contamination de chasseurs de chimpanzé d'Afrique Centrale remontant dans les années 20 du 20ème siècle. Certes, le tourisme des occidentaux au Maroc reste un facteur aggravant la dissémination du VIH-1 au Maroc, mais ne peut assurément expliquer son existence originelle. En d'autres termes, il nous est impossible de démontrer la relation entre le sous-type B du VIH-1 et sa distribution au Maroc, car son portage est très écrasant pour qu'il soit issu d'importation. Au demeurant le mystère de l'origine de l'épidémie du VIH reste une réalité en dépit du consensus autour de l'origine du virus lui-même (dérive du SIV des primates d'Afrique Centrale et Occidentale). Il nous est aussi impossible d'affirmer que le VIH-1_B est une souche autochtone marocaine, car en l'état des connaissances, seuls les singes subsahariens sont porteurs des SIV [7]. Au demeurant, nous avançons que le VIH-1_B présente un caractère endémique eut égard à sa prévalence (25500 séropositifs en 2009) [76] et à sa fréquente prépondérante ($\geq$ 72%) sur les non-B.

En somme, nous cautionnons sans doute que les souches non-B du VIH-1 sont bien des cas d'importation d'Afrique principalement au regard de leur faible prévalence et de leur progression en relation avec la fréquentation croissante des populations sub-sahariennes et marocaines.

6. Un nouvel inter-recombinant au Maroc : A1/CRF22_cpx

Nous avons identifié un nouvel inter-recombinant qu'est l'A1/CRF22. Bien d'auteurs ont fait cas de l'existence d'autres inter-recombinants au Burkina Faso [54], Niger [66], Bénin [65], en

Algérie [56], en France [60,61] et en Grèce [57]. Cette notion d'inter-recombinant vient du fait que le séquençage de plusieurs gènes et l'analyse phylogénétique donnent des résultats génotypiques discordants entre les gènes séquencés. Dans notre cas, le gène de la reverse transcriptase a fourni 93% homologie nucléotique avec le sous-type A1, alors que le gène de la protéase était proche du CRF22 avec 94% d'homologie séquentielle. Il reste à séquencer complètement le génome de l'A1/CRF22 pour en savoir davantage.

Un tableau récapitulatif de quelques articles cités en discussion est présenté en annexe 2

7. Conséquences de la variabilité génétique du VIH-1 au Maroc

Le génotypage des souches du VIH est important au moins pour deux raisons, l'une qu'il est utilisé pour la recherche des mutations de résistance aux ARV, la seconde qu'il est essentiel pour la surveillance épidémiologique des souches circulantes dans une région donnée. En fait, la connaissance de la distribution des souches du VIH est importante non seulement d'un point de vue épidémiologique, mais aussi de point de vue diagnostic et thérapeutique, car cette diversité peut influencer les résultats des tests de diagnostic et de suivi de l'infection et aussi peut influencer la démarche thérapeutique [85].

Les tests de diagnostic et de suivi de l'infection à VIH et les médicaments antirétroviraux ont été essentiellement développés pour les souches du sous-type B, qui est surtout prédominant en Europe et en Amérique et qui ne représente qu'une faible proportion (10 %) du total des infections mondiales. Globalement, le sous-type le plus répondu au monde est le sous-type C qui infecte 50% des patients au monde [7, 8, 88]. Ainsi, la variabilité génétique du VIH-1 peut affecter de manière significative la capacité de dépister, de détecter et de quantifier l'ARN viral. L'identification des souches du HIV-1 des groupes O et N a permis d'améliorer les outils de diagnostic sérologique et moléculaire pour l'identification correcte des personnes infectées. Cependant, une non-détection, une sous-quantification, ou même une sur-quantification de la virémie VIH-1 plasmatique ont été rapportées et ont le potentiel de causer de graves erreurs dans la prise en charge des patients [85]. Une étude canadienne a montré que certaines souches non-sous-type B ont été faussement négatifs et d'autres grossièrement sous-quantifiés réalisé par les tests (Amplicor de Roche et EasyQ v1.2 de biomerieux), alors que les autres techniques d'Abbott et de Roche, qui utilisent la PCR en temps réel, ont montré une meilleure quantification et d'une plus grande variété de groupes de VIH-1 M, N et O et sous-types. La même étude a montré que seul le test Abbott qui a pu détecter le VIH-1 du groupe P [86].

Plusieurs études publiées jusqu'à présent ont montré l'impact de la diversité génétique du VIH-1 sur la résistance aux antirétroviraux, certaines d'entre elles sur le sous-type C, par exemple, en culture virale, les souches du sous-type C ont une CI50 plus élevée pour l'atazanavir que les souches du sous-type B [87]. En plus, Il a été rapporté que certaines mutations de résistance en particulier la V106 M confère une résistance croisée aux INNTI pour le sous-type C et pas au sous-type B. L'association des mutations N83T et M89L sur le gène de la protéase confère une résistance aux IP pour le sous-type C et pas le sous-type B[88, 89, 90, 91]. Par ailleurs, la mutation I93L qui a été caractérisée comme une mutation de résistance secondaire dans le sous-type B, semble induire une hypersensibilité aux inhibiteurs de la protéase dans le sous-type C [88]. Ces observations impliquent que les algorithmes d'interprétation des mutations de résistance qui ont été élaborés et calibrés pour la plupart sur les résultats obtenus des souches B, doivent obligatoirement être évalué sur les souches non-B qui sont prédominantes dans la pandémie mondiale, en raison des implications cliniques de la diversité génétique de ce virus.

Dans notre étude, le nombre de souches sous-type C était plutôt bas et la corrélation entre les profils de résistance et ce sous-type particulier n'a pas été étudiée. L'émergence mondiale des sous-types non B devrait conduire à une réponse coordonnée à la fois dans les pays développés et en voie de développement. S'assurer que tous les outils utilisés pour le diagnostic et le suivi des patients infectés par le VIH sont fiables. Une collaboration étroite entre cliniciens et virologues est essentielle pour reconnaître les défis de la diversité génétique de ce virus, cette étape est importante pour établir l'infrastructure nécessaire pour une surveillance moléculaire locale et globale de la diversité génétique du VIH [86].

8. Forces et limites de notre étude.

Forces:

- L'étude a inclus des patients repartis sur l'ensemble du territoire marocain : le bénéfice est que nous avons mis en évidence des souches qui n'ont pas été identifiées par les auteurs précédents.
- Le séquençage a lieu dans un des meilleurs laboratoires français de virologie : le laboratoire de virologie du CHU de Bordeaux II, la référence de la cohorte aquitaine et aussi une référence de l'OMS où le Pr Hervé Fleury est expert OMS sur les questions de résistance aux ARV.

- Le séquençage a été effectué suivant les recommandations de l'ANRS AC 11, un des programmes de séquençage les plus utilisés au monde.
- Les génotypes sont identifiés par la concordance de l'alignement de 02 gènes : RT et PR

Limites :

- La taille de l'échantillon
- La charge virale minimale séquençable : 500-1000 copies/ml [67].
- Population VIH-1 minoritaire (inférieure à 20% de la population globale) non détectée [67], d'où l'intérêt du séquençage à haut débit.
- Manque de consensus international sur l'algorithme d'interprétation de séquences [67].

9. Perspectives :

En dépit de la petite taille de notre échantillonnage (51), nous avons mis en évidence des souches que les études précédentes n'ont pu identifier. Pour une meilleure connaissance de l'épidémiologie moléculaire du VIH, d'autres études sont souhaitable ainsi que la mise en place d'une veille sanitaire moléculaire VIH-1. Par ailleurs, chez nos patients en échec thérapeutique, la recherche des mutations associées et l'évaluation de leur fréquence est une approche indispensable à la prise en charge pharmacologique optimale des patients.

Les résultats de ce travail ont été diffusés pour sensibiliser un maximum de personnel de santé. Nous souhaitons que cela soit une ébauche pour des études plus larges incluant un nombre plus important de patients aussi bien du Maroc que d'autres pays africains amis. Par ailleurs, les techniques de génotypage du VIH et l'identification des mutations de résistances aux ARV seront développées dans la pratique routinière de notre futur centre de virologie et maladies infectieuses et tropicales.

CONCLUSION

A travers cette étude, nous confirmons que différents génotypes de VIH-1 circulent au Maroc. De plus, nous avons identifié d'autres souches non identifiées au préalable dont l'A1/CRF22. Par ailleurs, nous avons émis, par un argumentaire, des hypothèses sur l'origine des différentes souches de VIH-1 sévissant au Maroc et le mécanisme de leur diffusion épidémique.

Des retombées sont à tirer de notre étude :

-Du taux élevé des VIH-1 non-B (28%), il va falloir mettre en place des mesures adéquates de prévention de l'importation et de la dissémination de ces souches au Maroc : dépistage et mise sous traitement des immigrants subsahariens séropositifs, par la même renforcer le dépistage au sein des étudiants subsahariens qui sont au Maroc et prodiguer des conseils aux marocains séjournant en Afrique subsaharienne.

-Du taux de portage des non-B (28%) au sein de la population marocaine, se pose la question de leur sensibilité aux ARV, de leur mécanisme de résistance aux ARV, de la conduite à tenir en cas d'échec thérapeutique…surtout qu'on sait que les nombreuses études (cliniques, sensibilité aux ARV, mutation de résistance, sensibilité aux techniques de diagnostic et de suivi) consignées dans les banques de données ne concernent que le sous-type B en dépit que ce dernier soit responsable de moins de 10% des cas de séropositivité dans le monde.

RESUMES

RESUME

Titre : Diversité génétique du VIH : les souches du VIH-1 circulantes au Maroc

Mots clés : VIH-1, sous-types, diversité génétique, épidémiologie moléculaire.

Auteur : Boureima KONATE

Introduction : le VIH connait une extrême diversité. En effet, La répartition des différents génotypes varie d'une région continentale à l'autre. Notre étude a pour objectif de déterminer les souches de VIH-1 circulantes au Maroc et d'analyser leurs origines.

Patients et Méthodes : l'étude a inclus 51 marocains, suivis pour une infection à VIH-1 à l'HMIM V de Rabat. Le séquençage des gènes de la reverse transcriptase et de la protéase a été réalisé sur le séquenceur CEQ 2000® de Beckman Coulter. Les génotypes ont été obtenus grâce aux arbres phylogéniques élaborés par le logiciel Mega 5.05 à partir des séquences obtenues.

Résultats : Notre population d'étude est constituée de 84% d'hommes et 16% de femmes. La majorité des patients avait un stade clinique A et C dans 39% et 37% respectivement. La médiane de la charge virale était de 2 000 555 copies/ml et celle des CD4 était de 511 Cellules/µl. L'analyse phylogénique des souches identifiées a montré que le sous-type B représente 72% des souches étudiées, alors que les sous-types non-B représentent 28% dont 10% du A1, 10% du CRF02_AG, 2% du C, 2% du G, 2% du CRF25_cpx et 2% du A1/CRF22.

Discussion : Diverses souches de VIH-1 circulent au Maroc parmi lesquelles les non-B qui proviendraient principalement de l'Afrique subsaharienne par le biais de l'immigration clandestine et des marocains y séjournant. Quant au sous-type B, son origine pourrait être liée aux flux des populations entre le Maroc et les pays occidentaux.

Conclusion : Vu l'émergence des souches non-B qui soulève leur implication épidémiologique, diagnostic et thérapeutique, une surveillance moléculaire du VIH s'impose.

SUMMARY

Title: Genetic diversity of HIV: HIV-1 strains circulating in Morocco

Keywords: HIV-1 subtypes, genetic diversity, molecular epidemiology.

Author: Boureima KONATE

Introduction: HIV is extremely diverse. Indeed, the distribution of different genotypes varies from one continental region to another. Our study aims to determine the HIV-1 strains circulating in Morocco and analyze their origins.

Patients and Methods: The study included 51 Moroccans, followed for HIV-1 at the HMIM V in Rabat. Gene sequencing of reverse transcriptase and protease was performed on the sequencer CEQ 2000 Beckman Coulter ®, the sequences obtained were aligned and analyzed. The genotype of the different strains studied was obtained through phylogenetic trees.

Results: Our study population consists of 84% men and 16% women. The majority of patients had a clinical stage A and C in 39% and 37% respectively. The median rate of viral load was 2,000,555 copies / mL and rate of CD4 was 511 cells / mm3. Phylogenetic analysis of strains identified showed that the subtype B accounts for 72% of the strains studied, while the non-subtype B accounted for 28% of these strains with 10% of A1, 10% of CRF02_AG, 2% C, 2% G, 2% and 2% of CRF25_cpx A1/CRF22.

Discussion: Various strains of HIV-1 circulating in Morocco include the non-B, which comes mainly from sub-Saharan Africa through illegal immigration and Moroccans residing there. As for subtype B, its origin may be related to the flow of people between Morocco, Europe and Western countries.

Conclusion: Given the emergence of non-B strains which raises an epidemiological, diagnostic and therapeutic impact, a molecular surveillance of HIV is required**.**

موجز

أطروحة رقم 89 : التنوع الجيني للفيروس : 1 - HIV السلالات المنتشرة في المغرب

كلمات البحث : 1 - HIV فرعية، والتنوع الجيني، وعلم الأوبئة الجزيئي.

المؤلف : بوريما كوناتي

مقدمة : مرض نقص المناعة متنوعة للغاية. في الواقع، وتوزيع مختلف المورثات القارية تختلف من منطقة إلى أخرى. دراستنا تهدف إلى تحديد سلالات 1 - HIV المنتشرة في المغرب وتحليل أصولها. المرضى والطرق : وشملت الدراسة 51 من المغاربة، تليها ل1 - HIV إلى الخامس HMIM في الرباط. تم تنفيذ التسلسل الجيني للالمنتسخة العكسية والأنزيم البروتيني على التسلسل بيكمان كولتر CEQ 2000 ®. تم الحصول على المورثات عن طريق النشوء والتطور التي تنتجها الأشجار 5.5 ميجا البرنامج من الحصول على متواليات.

النتائج : لدينا دراسة السكان تتألف من الرجال والنساء 84 ٪ 16 ٪. وكان غالبية المرضى في مرحلة السريرية A و C في 39 ٪ و 37 ٪ على التوالي. وكان متوسط العبء الفيروسي 2000555 نسخة / مل و 511 CD4 خلايا / UL. وأظهر تحليل النشوء والتطور من السلالات التي تم تحديدها أن حسابات B النوع الفرعي عن 72 ٪ من السلالات التي تمت دراستها ، في حين أن سلالة غير ب 28 ٪ ، 10 ٪ من A1، و 10 ٪ من CRF02_AG، 2 ٪ من C ، 2 ٪ من G و 2 ٪ و 2 ٪ من A1/CRF22 CRF25_cpx.

مناقشة : سلالات مختلفة من 1 - HIV المتداولة في المغرب بما في ذلك المنظمات غير B -، والتي تأتي أساسا من أفريقيا جنوب الصحراء عن طريق الهجرة غير الشرعية والمغاربة المقيمين هناك. أما بالنسبة للسلالة B، قد تكون ذات صلة أصله إلى تدفق الناس بين المغرب والبلدان الغربية.

الاستنتاج : نظرا لعدم ظهور سلالات - B الذي يثير مشاركتهم الوبائية والتشخيصية والعلاجية، لا بد من مراقبة الجزيئية لفيروس نقص المناعة البشرية.

ANNEXES

Annexe 1: ANRS AC11 Resistance Study Group PCR and Sequencing Procedures: HIV-1 Version February 2008

PCR runs on 9700 PE thermocycler (times have to be adapted to the thermocycler and taq polymerases used)

Conditions for Reverse Transcriptase, Protease and gp120 :

- RT-PCR Step, using RT-PCR kit Titan (Roche):

30' at 50°C

2' at 94°C

Then: (30'' at 94°C; 30" at 55°C; 1' 30" at 68°C) x 40 cycles

- Nested PCR step, using Ampli Taq gold with Gene Amp (Roche):

12' at 94°C

Then (30'' at 94°C; 30" at 55°C; 2' at 72°C) x 40 cycles

7' at 72°C

PROTEASE:

- Outer primers:

5' prot 1: 5'-TAATTTTTTAGGGAAGATCTGGCCTTCC-3' (2082 to 2109)

3' prot 1 5'-GCAAATACTGGAGTATTGTATGGATTTTCAGG-3' (2703 to 2734);

- Inner (amplification: 507 bp fragment) and sequencing primers

5' prot 2: 5'-TCAGAGCAGACCAGAGCCAACAGCCCCA-3' (2136 to 2163)

3' prot 2: 5'-AATGCTTTTATTTTTTCTTCTGTCAATGGC-3' (2621 to 2650);

Other sets of primers which can be used alternatively for protease

- Outer primers:

5' eprB: 5' AGA GCT TCA GGT TTG GGG 3'

3’ eprB: 5’ GCC ATC CAT TCC TGG CTT 3’

- Inner and sequencing primers:

5’ prB: 5’ GAA GCA GGA GCC GAT AGA CA 3’

3’ prB: 3’ ACT GGT ACA GTT TCA ATA GG 3’

PCR and sequencing Primers Reverse Transcriptase (codons 20-240):

- Outer primers

MJ3: 5’-AGTAGGACCTACACCTGTCA-3’ (2480 to 2499)

MJ4: 5’-CTGTTAGTGCTTTGGTTCCTCT-3’ (3399 to 3420)

- Inner primers (amplification: 798 bp fragment)

A(35): 5’-TTGGTTGCACTTTAAATTTTCCCATTAGTCCTATT-3’ (2530 to 2558)

NE1(35): 5’-CCTACTAACTTCTGTATGTCATTGACAGTCCAGCT-3’ (3300 to 3334

Sequencing primers

A(20): 5’-ATTTTCCCATTAGTCCTATT-3’

Or (alternatively to A(20)): HIV55 :

5’ CCAAAAGTTAAACAATGGCCATTGACAG

NE1(20): 5’-ATGTCATTGACAGTCCAGCT-3’

Other set of primers which can be alternatively used for RT (codons 30- 225):

- Outer primers:

RT18: 5’- GGA AAC CAA AAA TGA TAG GGG GAA TTG GAG G -3’

RT21: 5’- CTG TAT TTC TGC TAT TAA GTC TTT TGA TGG G-3’

- Inner and sequencing primers:

RT1: 5’- CCA AAA GTT AAA CAA TGG CCA TTG ACA GA -3’

RT4: 5’- AGT TCA TAA CCC ATC CAA AG –3’

Annexe 2 : Récapitulatif de quelques articles cités en discussion

Souches / Réf	Notre étude 2008-2010 /51	Maroc, 2005-2009 /91.[33]	Maroc, 2004-2007 /71.[55]	ALGERIE, 2008 /218.[56]	Grèce, 2002-2005 / 101 .[57]	France, 2005-2006 /415 [58]	CAMEROUN 2002-2005/59.[96]	BFASO, 2003 / 70.[54]
B	**72%**	74%	74.6%	56%	48%	74.5%		
A1	**10%**	6%		4%	33%	+	+	10%
CRF02_AG	**10%**	15%	15.5%	++	+	12.5%	51%	30%
CRF25_cpx	**2%**	1%				+		
C	**2%**	2%	1.4%	+	4%	+	+	
G	**2%**		2.8%	+	4%	+		7.1%
A1/CRF22_cpx	**2%**							
F1		1%		+	+	+		
F2			1.4%	+	+	+	+	
CRF01_AE			4%		+	+	7%	
CRF09_cpx		1%		+		+	3%	
Autres				12.7%, D	CRF06	D, CRF06	8% CRF11, 3% D,CRF :13,30,43, A2, H, 2% O, N,P, 10% URF	50% CFR06

ANNEXE 3 : FASTA RT

>813.07RT
ACAGAGGAAAAAATAAAAgCATTGAaAGAaATTTGTGCAGAAATGGAAGAGGAAGGAAAAAtTTCAAGAatTGGGCCTgAaAAT
CCATAcAATACTCCAgTATTTGCCATAAaGAAAaaAGACAGTACTAaATGGAGAaaATTAGTAGATTTCaGAGaACtTAATAAGAA
AaCTCAAGACTTCTGGGAAGTGCaATtAGGAATACCACAtCCGGCAGGGTTAaAAAagaAaaaATCAGTAACAGTATTGgATGTgGG
TGATGCAtATtTCTCAGTTCCCTTAGATAAAGAcTTCAGAAAGTATACTGCATTTACCATACcTAGYATAaACRATGAGACACCag
GGATtAGATATCAGTATAATGTGCTTCCACAgGGaTGGaaAGGATCACCaGCaATATtCCAaaGTAGTATGACaAAaATcTTAGaGCC
TTtTAGaAATCAaAATCCAgRAATAgTTATCTATCaATACATGGATGATTTATATGTAggATCTGAcTTAGAaatAGGGCagCATAGA
GCAAaAATAGaGGAMVTGAGGCAACACCTGTTGAAGTGGGGATtTACCACGCCAGACAAGAaACATCAGAAAGAACCTCCATT
CCTTTGGATGGGTTAtGAA
>942.08RT
AAATTAAAGCCAGGAATGGATGGCCCAAAAGTTAAACAGTGGCCATTGACAGAAGAAAAAATAAAAGCATTARTAGAAATT
TGTACAGAAATGGAAAAGGAAGGAAAAATTTCAAAAATTGGGCCTGAAAATCcATACAATACTCCAGTATTTGCCATAAAGA
AAAAAGACAGTACTAAATGGAGAAaATTAGTAGATTTCAGGGAACTTAATAAGAAAACCCAAGACTTCTGGGAAGTTcAATT
AGGAATACCACATCCCGCAGGGTTAAAGAAGAAAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGTGATGCATATTTTTCAGTTCCA
TTAGATaAAGACTTCAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTATAAACAATGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTACAa
TGTGCTTCCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTcCAAAGTAGCATGACAAAaATCTTAGAGCCTTTTAGAAAACaaaA
TCCAGACATAGTtATTtATCAATACATGGATGATCTGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGGCcTCATAGAaCAaAAATAGAg
GAACTGAGACAACATCTGTTGAAATgGGGATTTACCACACCAGACAAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTCCTTTGGATGG
GTTATGAACTCCATCCTGATAAATGGACAGTACAGCCTATAGTG
>1492.07RT
>1492.07RT
AAAATtAAAGCCAgGAATGGATGGCCCAaAGGTTAAACAATGGCCATTGACAGAAGAAAAAATAAAAGCATTAATAGAAATT
TGTACAGAAATGGAAAAGGAAGGGAAAATTTCAAAAATTGGGCCTGAAAATCCATATAATACTCCAATATTTGCCATAAAGA
AAAAAGATGGTACTAAATGGAGAAAATTAGTAGATTTCAGAGAGCTTAATAAGAGAACTCAAGATTTCTGGGAGGTTCAATT
AGGAATACCACATCCCGCAGGGTTAAAAAAGAAGAAATCAGTAACAGTCCTGGATGTGGGTGATGCATATTTTTCAGTtCCCT
TAGATGAGAACTTCAGAAAGTATACTGCATTTACTATACCTAGTACAAACAATGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTACAA
TGTGCTTCCACAAGGATGGAAAGGTTCACCAGCAATATTCCAAAGTAGCATGACAAAAATCTTAGAGCCTTTTAGAAAACAA
AATCCAGACATAGTTATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGACCTAGAAATAGGGCAGCATAGAACAAAAA
TAGAGGAACTGAGACAACACCTGTTGAgGTGGGGATTTACCACACCAGACAAAAAGCATCAGAAAGAACATCCATTCCTTTG
GATGGGTTATGAGCTCCATCCTGATAAaTGGACAGTACAGCCTATAGTATTACCAGAAAAAGACAGCTGGACTGTCAATGAC
>1662.06RT
AAAATtAAAGGCAGGAATGGATGGCCCaAAAGTGAAACAATGGCCATTGACAGAAGAAAaGATAAAAGCATTAGTAGAAATT
TGTGCAGAAATGGAaAaGGAgGGAAAaATwTCAAAAATTGGGCCTGAaAATCCATACaATACTCCAGTATTTGCYATAAAGaAA
AAGaACAGTACTAaATGGAGAAaATTaGTAGATTTCaGAGaACTTAATAAGAGAACTCAAGACTTCTGGGAaGTTCaATTAGGrAT
ACCACAYCCCGCRGGGTTAAAAAAGAaAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGTGATGCATATTtTTCAATTCCyYTAGATaA
AGACTTcAGGaAgTATACtGCATtTACYATACCTAGTATAAACAATGAGACaCCAGGAATTaGATATCAgTACAATGTGCTGCCAC
AGGGATGGAAAGgATCACCAGCAATATTCCAAAGtAGCATgACAAAAATCCTaGAGCcTTTYAGAAAaAgAcATCCAGACyTAAT

TATYTATCaATAcAtGGAtGAttTGtAtGTaGGrTcTgAcTTaGAaATaGGGCaGcAtaGaaCarAaATWGAGGaacTGAGAcaAcATcTGtTGaA
GTGGGGAcTTAcCACAcCaGAcCaAaAAcATcaGaaAGaACCTcCAtTcCtTTgGAtGGGtTATGAACTCCATCCTGATAAATGGACAGT
GCAGCCTATAaTgCTGCcAGAAAAaGACAGCTGgACTGTCAA
>3743.07rt
GTACCAGTAAAATTAAaGCCAGgAATGGATGGCCCAAaGGTTAAaCaATGGCCAtTGACAGAaGAagaaataaAaGCaTtAcagAGAATtt
GTaCAgAGATGGAaAAGGAAGGAaAaaTtTCaAAAaTTgGGCctGAAaaTCcatAcAAtACtCcAgtATTtGCcATAAAGAAAAaAGAtAGtA
CtAaatGGAGAAAaTtAGTAGATTtCAGAgAactCAATAAGAGAaCtCAAgACttCtGGGAAGTGCAATtAGGAaTACCGCaTCcAGCAGG
TTtAAAAAAGAaaAAaTcAGtAaCaGtACtGGATGtGGGGGATGCaTACTtTTcAGTtCCTTTAGaTGaAAGCTtTAGAAagTaTACtGCaTT
caCCatACCgAGTaCAAACaaTGAgACAcCAGGAGtcAgATaTcAgtaCAAtGTGCtACCaCAGGGATGGAAaGGgTcACCAGCaATATTtC
AGGCAAGCaTGACAAAAATCTTAGAACCCTTTAGAACAGAAAATCCTGGgATAGTGATCTACCAATACATGGATGATTTGTAT
ATAGGATCTGACTTAGAGATAGGGCAGCATAGAGCAAAAATAGAGGAGTtGAGAaAACATCTATTGAGATGGGGACTTACTA
CACCAGACAAAAaGCATCAGAAAGAACCTCCATTTCTTTGGATGGGAtATGAActCCatCCTgaCAaaTGGACAgTacAgcctAtACAGt
tGCCAGAAAA
>5575.07RT
GAAACTGTACCAGTAAAATTAAAACCAGGAATGGATGGCCCAAAAGTtAAACAATGGCCATtAACAgAAgAAAAAATAAaAGC
ATTGGTAgAAATtTGTACAGAAATGGAAAAGGAAgGAAAaATTTCAAAAATTGGGCCTGAGAATCCATACAATACTCCAgTATT
tGCCATAAAgAAaAAGGACAGYACTAaaTGGAgAAaATtAGTAgATttCAGAGAACtTaATAAGAgAACTCaAgACTTCTGGGAAGTt
CAATtAGGAATACCACaTCCCGCAGGGTtAAAAAAGAAAAaATCAgTAACAgTACTGGATGTGGGTGATgCATATTTTtCagttCCCt
TAGATAaAGAgTttAGGAAgTATACtGCATTTACCATACCtAGTACAAaCaATGAgACaCCAGgAATTAgATATCaGTACAATGTgCtT
CCACAAGGAtGGAAAGGATCgCCAGCAATATTCCAATGTAGCATGACAAAAATCTTAGAGCCTTTTAGAAAGCAAAATCCAGA
CATAGTTATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGAYTTAGAAATAGGGCAACATAGAACAAAAATAGAGGAA
CTGAGAGAACATCTGTTAAAGTGGGGATTTACCACACCAGACAAAAAACATCAGAAAGAACCTCCATTTCTTTGGATGGGGT
ATGAACTCCATCCTGATAAATGGACAGTACAGCCTATACAGCTGCCAGAAAAAgac
>5675.08RT
TCCATTAGTCCTATtGAAaCTGTACCAGTAAAATTAAArcCAGGaATGGATGGCCCAAaAgtTAAACaATGGCCATTGACAGAAGa
AAAaATAAAAGCATTGRTAgAAATTTGTACAGAAATGGAAAAGGAAGGAAAaAtTTCAAGAATTGGGCcTGAAAATCCATACA
ATACTCCAGTATTTGCCATAAAGAAAAARGACAGTACTAAATGGAGAAAATTAGTAGATTTCAGAGAACTTAATaAGAGAAC
TCAAGACTTCTGGGAAGTTCARTTAGGAATACCACATCCCGCAGGGTTAAaAAAGAaAAAGTCAGTAACGGTACTRGATGTGG
GTGATGCATATTTtTCAGTTCCcTTAGATRARGACTTTAGGAAgTATACtGCaTTTACCATACCTAGtAcAAACAATGAGAcACCA
GGAATTAGATATCAGTACAATGTGCTCCCACAGGGATGGAAAGGATCRCCAGCAATATTcCAaaGTAGCaTGACAAAAATHTT
AGAGCCTTTTAGAAAAGaAaaCCCAGACATAGTTATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGATTTAGAAATAGG
ACAGCATAGAACaAAAATAGAGGAaCTGAGAGAACATCTGTTAAGGTGGGGATTTACCACACCAGACAAAaAAcATCAGAAaG
AACcKCCATtTCTtTGGATGGGTTATGARCTCCATcCTGATAAaTGGACAGTACaGCCTATA
>6206.09RT
ATCAAtGGCCattGACAGAGGAAAAAATAGAAGCATTAATAGAAATCTGTACAGAAATGGAAAaGGAAGGcaAAATTTCAaAaAT
TGGGCCTGAaAATCCATACAAtACTCCAGTATTTGCCATAAAGgAAaaAGACAGTACTAaATGGAGAaaATTAGTAGATTTCAGA
GaACTTAATAAGAAaACTCAGGACTTCTGGGAAGTTCaAtTGGGAATACCACATCCCGCAGGGTTaaAAaAGaAaaaATCAGTAAC
AGTGCTRGATGTGGGTGATGCATATTTTTCAGTTCCCTTAGATAAAGAATTCAGGAAGTATACTGCATtTACCATACcTAGTAC
AAACAATGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTATaATGTACTTCCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTTCAATGT
AGCATGACAAaaATCTTaGaGCCTTTTAGaAaACAaAATCCAgACATAGTTATCTATCAGTACATGGATGATTTGTATATAGgATC
TGACTTAGAaATAGGGCAGCATAGAGAGAAAGTAGaGGaACTGAGACAACACCTGTTGAAGTGGGGATTTACCACACCAGAC
AAAAAACATCA

>7105.09RT
CCAGTAAAATTAAAACCAGGAATGGATGGCCCAAGAGTTAAACAATGGCCATTGACAGAAGAAAAGATAAaAGCATTAGTAg
AAATTTGTACAGAAATGGAAAAGGAAGGAAAAATTTCAAAAATTGGGCCTGAAAATCCATACAATACTCCAGTATTTGCCAT
aAAGaAAAAGGACAGYACTAMATGGAGaAaATtAGTAGATTTCAGAGAaCTTAATAAGAGaACTCAAGACTTCTGGGAaGTCcA
GTTAGGAATACCACATCCTGCAGGGCTGAaAAAgaaaAAATCAGTaACAGTRCTGGATGTGGGTGATGCATATtTTTCAGTtCCcT
TAGATGaaGACTTYAGGAAGTATACtGCATTTACTATACCKAGTACAAAYAATGAGACACCAgGGACTAGATATCAGTACAAT
GTGCTTCCACAGGGATGGAAAGgATCACCAGCAATATTcCAAtGTagCATGACAAAAATCtTagATCCTTTcAGAAAACAGaATCC
AGACATAGTTATCTATCAATACATGGATGATTtGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAgGGCAGCATAGAACaAaaATAGADGA
aCTGAGACAACATCTGTTGAAGTGGGGATTYACCACACCAGACAAAAAaCATCAGAAAGAACCTCCRTtTCTTTGGATGGGTTA
TGAACTCCATCCTGATAAATGGACAGTACAGCCTATAGTG
>7631.09RT
AAATtAAAGCCAGGAATGGATGGCCCAAAAGTTAAACAATGGCCTTTRACAGAAGAAAAAATAAAAGCATTGacAGcAATTtGt
AAGGAGatGGAAGaGGAAggaAAAaTTTCAAAAATTGGGCCTGAAAATCCATAYAATACTCCAGTATTtGCTATAAAGAAAAaAG
ATGGTACTAaATGGAGAAAATTAGTAGATTTCAGAGaACTCaATAAGAGAaCTCAAGACTTCTGGGAGGTcCAATTAGGAATAC
CTCATCCCGCAGGCTTAAAAAAGaaAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGGGATGCATATTTTTCAGTTCCCTTAGATGAA
GAYTTTAGAAAGTATACTGCATTCACTATACCTAGTACAAATAATGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTAYAATGTGCTTCC
ACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCaATATTTCAGGCAAGTATGACAAAAATCTTAGAGCCCTTTAGAATGAAGaATCCAGAG
ATAGTGATCTACCAATATATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGACTTAGAGATAGGGCAGCATAGAGCAAAAATAGAgGARTT
GAGAGGACATCTATTGAGGTGGGGATTtACcACACCAGAtAAAAAGCATCAGAaGGAACCTCCATtTCTtTgGATGGGATaTGAG
CTCcatCCTGATAAATGGACAGTCCAGCCTATACAGcTGCCA
>8034.08RT
GACACTrTACCAGTAAAATTAAAGCCAGGAATGGATGGCCCAAAAGTTAaACAATGGCCATTGACAGAAGAAAAAATAAAAG
CATTAgTAgAAATtTGTACAGAAATGGAAAAGGAAgGAAAAATtACAAaAATtGGGCCcGAAAATCCATACAATACTCCAGTATT
TGCCATAAAGAAAAAVGACAGTACTAAGTGGAGAAAATTAgTAgATttCAgAGAACTTAATAAgAGAACTCAAGACTTCTGGGA
AGTTCAATtAGGAATACCACATCCCGCAGGGCTAAAAAAGAAAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGTGATGCATATTTtT
CAGTtCCCTTAGATAAAGACTtCaGGAAGTATACTGCATTCACCATACCCAGTATAAACAATGAgACACCAgGGATTAgATATCA
GTACAATGTGCTGCCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTCCCAAGTAgCaTGACaAAAATcTTAGAGCCttTTAGAAA
GCAaAATCCAGACATAGTTATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGGCtCtGACTTAGAAATA
>8688.09rt
>9205.08rt

ACAGAAGAAAAAATAAAAGCATTGATAGAAATTTGTACAGAAATGGAAAAGGAAGGAAAAATTTCaAAAATTGGGCCTGAA
AATCCATAYAATACTCCAgTATtTGCCATAAAGAAAAAAGACAGtACTAAaTGGAGAAAATTAGTAgATtTCAgAGAaCtTAATAA
GAGAACTCAaGACTTcTGGGAAGTtCAATtAGGAATACCACATCCCGCAGGRTTaAAAAAGAAAAAATCAGTAACAGTACTGGA
TGTGGGTGATGCATATTTTTCAGTTCCCTTAGATAAAGACTtTAGGAAGTATACTGCATttACCATACCTAGTATAAAYAATGAG
ACACCAGGAMYtAGATATCAGTACAATGTGCTGCCACAGGGATGGAAAGGATCaCCAGCAATATTYCAATGYAGCATGACAA
AAATTTTAGAACCtTTTAgAAAAgAAAaTCCAKACATAGTTATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTagGATcTGAcTTAGAA
ATAGGGCAGCATAGRACAAAaATAGAGGAaSTGaGAAAACATCTGTTAGGGTGGGGATtTACCACACCAGACAAAAAACACCA
GAAgGAACCTCCATTTCTTTGGATGGGTTAt

>9844.09RT
ATTAGTCCTATTGAAaCTGTACCAGTAAaATTAAAGCCAGGAATGGATGgCCCAaAaGTTAaACaATGGCCATTGACAGAAGAAa
AaTTAaGGGCAtTGATGGAaATtTGTGCAGAAATGGAaAAGGAAGGGaAaATTACAaAaATtGGGCcTGAAAATCCATACAATACT
CCAGTATTTGCCATAAAGAAGAAAGACAGTACTAAATGGAGAAAATTAGTAGATTTCAGAGAGCTtAATAAGAGAACTCAAG
ACTTCTGGGAAGTtCAATTAGGAATACCACATCCTGCAGGGTTAaaAAACaACAAATCAgTAACAGTATTGGATGTGGGTGATG
CATATTTCTCAGTTCCCTTAGATGAAGACTTCAGGAAgTATACTGCATTTACCATACCTAGTATAaACaATGAGAcACCAGGGA
TTAGATATCAGTACAATGTACTTCCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTCCAAaGTAKCATGACAAAAATCTTAgAG
CCTTTTAGAAAAAACaaTCCAGGCATAGTTATCTACCAATACGTGGATGATtTGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGACAG
CATAGAGCaAAAATAGAGGAaCTGAGACAaCACCTGTTGAAGTGgGGATtTATCACACCAGACAAAAAGCATCAGAAAGAACC
CCCATtCCTtTGGATGGGTTATGAaCTCCaTCCGGATAAATGGACAGTaCAGCCTATAAAGCTGCCAGAAAAa
>10345.08RT
AAATTAAAACCAGGAATGGATGGCCCAAAAGTTAAACAATGGCCATTAACAGAAGAAAAAATAAAaGCATTAATAGAAATTT
GTACAGAAATGGAAAaGGAaGGAAAAATtTCAAGAATTGGGCCTGAAAATCCATACAATACTCCAGTATTTGCCATAAGGAAA
AAgGACAGTACTAAATGGAGAAAATTAGTAGATTTCAGAGAACTTAATAAGAGAACTCAAGACTTCTGGGAAGTTCAATTAG
GAATACCACATCCCGCAGGGTTAAAACAGAAAAAATCAGTAACAGTACTRGATGTAGGTGATGCATATTTTTCAGTTCCCTTA
GATAAAGAaTTTAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCYAGTACAAACAATGAGACACCAGGAATTAGATATCAGTACAATG
TGCTTCCACAGGGATGGAAAGGATCRCCAGCAATATTCCAATGTAGCATGACAAAAATCTTAGAGCCTTTTAGAAAACAAAA
TCCAGAAATAGTTATTTATCAATACATGGATGATtTGTATGTGGGATCTGACTTAGAAATAGGGCAGCATAGAGCAAAAATAG
AGGAACTGAGAGAACATCTGTTAAaGTGGGGATTTACCACACCAGACAAAAAACATCAGAAAGAACCCCCATTTCTTTGGAT
GGGTTATGAACTCCATcCtGATAAATgGACAGTGCAGCCTATAGAACTGCcAGAAAaGGACAGCTGgACTGTCaAT
>10375.08RT
>10458.08RT
GTGCCAGTAAAATtAAAGCCAgGAATGGATGGCCCAAAGGTTAAACAATGGCCATTGACAGAAGAAaAAATAaAAGCATTAAC
AgACATTTGTACAGAGATGGAAAAGGaAGGAAaaAttTCAAAaATTGGGCcTGAAAATCCATACAATACTCCAATATTtGCCATAA
AGAAAAAAGATAGTACTAaATGGAGAaAATTAGTAGATTtcAGAGaACTCAATAAGAGAACTCAaGACTTCTGGGAGGTCcAAT
TAGGAATACcTCATCCCGCGGGGTTaAaaaAGAaaAaATCAGTaACAGTACTAgATGTGGGGGATGCATATtTTTCAGTTCCCTTAG
ATGAAGACTtTAGAaaGTATACTGCATTCAcTATACCTAGTTTAAAYAATGAGACaCCAGGGATTAGATATCAgTACaATGTGCTg
CCACAGGGATGGAAaGgATCACCAGCAATATTTCAGGCAAGCaTGACAaAAATCTtACAGCCCTTYAGAACAAaAAATCCAGAG
ATGGTGATCTACCAaTATATGGATGATTTATATGTAGGATCTGACTTAGAGATAGGGCAGCACAGAGCAaAAATAGAGGAGTT
AAGACAACATCTAtTAAaATGGGGATTTACTACACCAGACAaAAGCATCAGAAGGAACCTCCATTTCTTTGGATGGGATATGa
ACTCCATCCTGACAAATGGACAGTCCAGCCTATACAGCTGCCAGAA
>10744.07RT
TGTACCAGTAAAATTAAAGCCAGGAATGGATGGCCCTAAAGTTAAACAATGGCCATTGACAGAAGAAAAGATAAAAGCATT
AGTAGAAATCTGTACAGAAATGGAAAAGGAAGGAAARATTTCAAAAATTGGGCCTGAAaATCSATACAATACTCCAGTATttG
CcaTAaAGAAaAAaGACAGTACAAAATGGAgAaaATTAgTAGATTTCAGAgAACtTAATAAKAKAACTCAAGACTTcTGGGAaGTG
CAGTTAGGAATACCAcATcCcGCaGGGTtAAGAAAGAAaAaATCaGTAaCAGTACtGgATGtGGGTGATGCATAttttCAATtCCcttAG
ATaTAGACTtCAGGAAGTACACTGCAtTtACCATACCTAGCaCaaACaaTgAGACaCCAgGGATtAGATATCAgTaCAATGTGCTGCC
ACAgGGATGGAaAGGATCACCaGCAATATTcCAAAGTAgCATGACaAaAATCCTAGAKCCTTTTAGGAaAAACAATCCAGAAAT
AGATATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGAYTTAGAAATAGGGCAGCATAGAGCAaAAATAGAGGAaCTGA
GACAACaTCTGTTGAGGTGgGGACTtACCACaCCAGACAAAaAACATCAGAAAGAACCTCCATTCCTTTGGATGGGTTATGAAC
TCCATCCTGATAAATGGACAGTCCAGCCTATAGTGCTGCCAGAAAAGAC
>11178.07RT
AAAaTTAAaGCCAGGAATGGATGGTCCAAAGGTTAAACaATGGCCAtTGACAGaAGaAaAaaTaAAAgCATtAaCAGAAaTTTGCAA
TGATATGGAAAAGGAAGGAAAaATTTCAAAAaTAGGGCCTGAAAaTCCaTACAACACTCCaATATTTGCCATAAGGAAAAAGG
ACAGTACTAAATGGAGAAAATTAGTAgATTTCAGAGAGCTCAATAAAAGAACTCAAGATTTTTGGGAGGTCCAATTAGGAAT
ACCTCATCCCGCGGGGTTAAAAAAGaAAAAATCAGTAACAGTACTAgATGTGGGGGATGCATATTTTTCAGTTCCCTTAGATA
AGGACTTTAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTACAAATAATGAGACACCAGGGATTAGATATCAGTATAATGTGCTT
CCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTTCAGAGTAGCATGACAAAAATTTTAGAGCCCTTTAGAGCAAaAAATCCAG
AGATAGTtATCTATCAATACATGGATGACTTGTATGTAGGATCTGACTTAGAAATAGGACAGCATAGAGCAAAAATAGAGGA
ATTGAGAGAaCATCTACTGAaATGGGGATTTACTACACCAGACAAAAAGCATCAGAaaGAaCCTCcaTTTCTtTGGATGGGATAT
GAACTCCATCCTGATAAATGGACAGtcCAGCCCATAGAGCta
>12087.06rt
ACATTAAAGCCAAGAATGGATGGACCAAATGTTAAACAATGGCCATTGACAGAAGAGRAAMTAAAAGCMTTAACAGATATT
TGYAGAGAGATGGAAAARGAAGGAAAAATTTCAAAAATTGGGCCTGAAAATCCaTAYAATACTCCAGTATTTGCTATAAAGA
AAAAAGACAGCaCTAAaTGGAGAAAATTAGTAgATTTtAgAGAaCtCAATAAAAgAaCtCAGGAcTTCtGGGAAGTtcAaTtAGGAaT
ACCGCaTCCaGCCGGGTTtAAAAAraAAAAATCAGTAaCAGtACtGGATGTGGGGGATGCaTaCTTTTCAGTTCCTTtaTaTGAAgAcT
TTAGAAAGTATaCtGCaTTCACCATACCTAGTATAAaCAaTGAgACACCAGGAaTCAGRTATCAGTACAATGTgCTTCCACAGGGT
TGGAAGGgATCACCATCAATATTCCAGAGTAcCATgACAAAAATCTTAGACCCcTTtAGAGCAAAAAATCCAGAAATAGTtATCT
ATCAATACATGGATGACTTGtATGTAGGATCTGATTTAGAAATAGAGCAGCACAGAGCAAAAATAGAGGAGTTGAGAGCGCA
TCTATTGAGCTGGGGGTTTACTACGCCAGACAAAAAGCATCAAAaGGAGCCTCCATTC
>13253.07rt
ACAGAAGAAAAAATAAAAGCATTAGTAGAAATTTGTACAGAAATGGAAAAGGAAGGAAAAATTTCAAAAATTGGGCCTGaA
AATCCATACAATACTCCAGTATTTGCCATAARGAAAaAAGACAGTAcYAAATGGAGAAAATTAGTAGATTTCAGAGAACTTAA
CAAGAGaACTCAaGACTTTTGGGAAGTTCAATtAGGAATACCACATCCMGCAGGGTTaaAACAGAaAAAATCARTAACAGTWCT
GGATGTGGGTGATGCATATTTTTCAGTTCCcTTAgATAAAGAATTCAGGAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTATAAACAA

TGAGACACCAGGAATTAGATATCAGTACAATGTGCTTCCACAGGGATGGAARGGATCGCCAGCAATATTCCAATGTAGCATG
ACAAAAATCTTAGAGCCTTTTAGaAAACAAAATCCAGAAATAGTTATTTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGA
CTTAGAAATAGGGCAGCATAGAACAAAAATAGAGGAaCTGAGAGAACATCTGTTAArGTGGGGATTTACCACACCAGACAAA
AArCATCAGAAAGAACCTCCATTTCTTTGGATGGGTTaTgAACtCCAGcct
>14107.06RT
TGTACCAGTAAAATTAAAACCAGGAATGGATGGCCCAAAAGTTAAACAATGGCCATTAaCAGAAGAAAAAATAAAAGCATTG
ATAGAAATTTGTACAGAAATGGAGAAGGAAGGAAAAATTTCAAAAATTGGGCCTGAAAACCCATACAATACTCCAGTATTTG
CCATAAAGAAAAAAGACAGTACTAAATGGAGAAAATTAGTAGATTTCAGAGAACTTAATAAGAGAACTCAAGACTTCTGGG
AAGTTCAATTAGGAATACCACATCCCTCAGGGTTAAAAAAGAAAAAATCAGTAACAGTACTRGATGTGGGTGATGCATATTT
TTCAGTTCCCTTAGATGAAGACTTTAGAAAGTATACTGCATTTACCATACCTAGTACAAACAATGAGACaCCAGGAATTAGAT
ATCAGTACAATGTGCTTCCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTCCAATGTAGCATGACAAAAATCTTAGAGCCTTTT
AGAAAACAAAATCCAGATATAGATATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGACTTAGAGATAGGGCAGCATA
GAGCAAAAATAGAGGAaCTGAGAGAaCATtTGTTAAGGTgGGGACTTACCACACCAGACAAaAAACATCAGAAgGAACCTCCA
TTTCTTTGGATGGGTTATGAACTCCATCCTGATAAATGGACAGTACAGCCTATAGAGCTGCCAGAAAAGGAC
>15113.09RT
CCCATTAGTCCTATTGAAACTGTaCCAGTAAAATTAAAGCCAGGAATGGATGgCCCTAAaGTTAAACAATGGCCATTGACAGA
AGAAAaGATaAAAgCATTAGTAGAaATCtGTACAGAaATGGAAAAGGAAGGAAAGATttCAAAAATtGGGCCTGAAaATCCATAC
AATACTCCARTATTTGCCATAAAGAAAAARGACAGTACAAAATGGAGAAAATTAGTAGATTTCAGAGAACTTAATAAGAGAA
CTCAAGACTTCTGGGAaGTTCAGTTAGGAATACCACATCCCGCAGGGTTAAAAAAGAaAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTG
GGTGATGCATATTtTTCAATTCCcTTAGATATAGACTTTAGGAAGTACACTGCATTTACCATACCTAGCACAAACAATGAGACA
CCAGGGATTAGATATCAGTACAATGTGCTGCCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTCCAAAGTAGCATGACAAAAA
TCCTAGAGCCTTTTAGAAAAAACaATCCAGAAATAGATATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGGATCTGACTTAGAA
ATAGGGCAGCATAGAGCAAAAATAGAGGAACTGAGACAACATCTGTTGAAGTGGGGACtTACCACACCAGATAAaAAACATC
AGAAAGAACCTCCATtCCTTTGGATGGGtTATGAACTCCATCCTGATAAATGGACAGTCCAGCCTATAGTGCTGCCAGAAAaGG
ACaGCTGgACTGTC
>15206.08RT
AAATTAAAGrcAGGAATGGAygGCCCAAaAgtTAaACAATGGCCATTGACAGAAgAAAAgATAaaAGCATTAGTAGAaATTTGTGC
AGAAATGGARAAGGAGGGAaAaATtTCAAAaAtTGGGCCTGAAaATCCATACAATACTCCAGTATTTGCYATAAAGAAAAAGaA
CAGTACTAAATGGAGaAAATTAGTAGATTTCAGAGAACTTAATAAGAGAACTCAAGACTTCTGGGAaGTtCAATTAGGaATACC
ACAYCCCGCRGGGTTAAAAAAGaAaAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGTGATGCATATTTTTCAATTCCCTTAGATAAAG
ACTTCAGGAAgTATACTGCATTTACCATACCTAGTAYAAACaATGAGACACCAGGRATTAGATATCAGTACAATGTGCTGCCA
CAGGGATGGAAgGGATCACCAGCAATATTCCAAAGTAGCATGACAAAAATCCTAGAGCCTTTTAGRAAaAGACATCCAGACC
TAATTATCTATCAATACATGGATGATtTGTATGTAGGATCTGACTTAGAaATAGGGCAGCATAGAaCaaAAATAGAGGAaCTGAG
ACAACATCTGTTGAAGTGGGGACTTACCACACCAGACCAAAAACATCAGAAAGAACcTCCATTCCTTTGGATGGGTTATGAaC
TCcaTCCTGATAAATGGACAGTGCAGCCTATAATGCTGCCAGAAAAA
>15443.08RT
CCAtTAGTCCTATGGAAACTGTACCAGTAaaATTAAAGCCAGGAATGGATgGCCCTAAaGTTAAACaATGGcCATtGACAgAAGAa
AaGATaAAAgCAtTAGTAgAaATCTGTACAGAaATGGAaAAGGAAGGAaAGATtTCAaAAATTGGGCcTGAAaATCCATACaATACT
CCARTATTTGCCATAaAGAAAAARGACAGTACAAAATGGAGAaaATTAGTAGATTTcAgAGaAcTtAaTAAGAGAACTCAAgACTT
CTGGGAagTTCAGTTAGGAaTACCACaTCCCGCAGGGTTAAAAAAGAAAAAATCAGTAACAGTACTGGATGTGGGTGATGCAT
ATTtTTCAATTCCYTTAGATATAGAYTtTAGGaAGTACACtGCATTTACCATACCTAGCACAaACAATGAGACaCCAGGGATTAG
ATATCAgTACAATGTGCTGCCACAGGGATGGAAAGgATCACCAGCAATATTCCAAAGTAGCATGACAAAaATCCTaGAGCCTTT
TAGaAAAAACaATCCAGAAATAGATATCTATCAATACATGGATGATTTGTATGTAGgATCTGAcTTAGAaATAGGGCAGCATAG
AGCAAAAATAGAGGaacTGAGACAACATCTGtTGAAgtGGGgACTTACCACACCAGATAAaAAACATCAGAAAGAACCTCCATTC
CTTtGGATGGGKTATGAaCTCCATCCTGATAAaTGGACAGTcCAGCCTATAGTGCTGCCAGAAAAGGACAGCTGGACTGTCAT
>15737.09RT
CCAATTAGTCCTATTGAAACTGTACCAGTAaAATTAaAGCCAGGAATGGATGGCCCAAAGGTTAAACAATGGCCATTGACAGa
AGaAAAaATAGAAGCAtTaACAGCAATTTGTGAGGAGATGGAGAAGGAAGGAaAaATTACAAAAATTGgGCCTGAAAATCCATA
TAACACTCCAGTATTTGCCATAAAAaAGAAGgACAGTACTAAGTGGAGAaAATTAGTAGATTTCAGGGAACTCAATAAAAGAA
CCCAAgACTTTTGGGAaGTTCAATTAGGAATACCCCACCCAGCAGGGTTAAAGAAGAAAAAATCAGTAACAGTACTAGATGTG
GGGGATGCATATTTCTCAGTTCCTTTAGATGAAGACTTCAGGAAATATACTGCATTCACCATACCTAGTAGAAACAATGAAAC
ACCGGGGATTAGATATCAATATAATGTGCTACCACAGGGATGGAAAGGATCACCAGCAATATTTCAGGCTAGtaTGACAAAAA
TCTTAGAGCCCTTTAGGACACAAaACCCAGAAATAGTTATCTATCAATATATGGATGACTTGTATGTAGGATCTGACCTAGAA
ATAGAGCAACATAGAGCaAAAATAGAAGAGTTGAGAaaACaTCTATTGAaGTGGGGATtTACCACACCAGACAAGAaACATCAA
AAaGAACCcCCATtTCTTTGGATGGGGTATGAGCTCCATcCTGACAAATGGACAGTACAGCCTATACAGCTGCCAGAAAaaGAG
AGCTGgACTGTC

REFERENCES

[1] Brun-Vézinet F, Damond F, Descamps D et Simon F. Virus de l'immunodéficience humaine. Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-050-B-15, **2000**.

[2] B. Roquebert, F. Damond, F. Brun-Vézinet, D. Descamps. Diversité génétique des VIH et ses conséquences. Elsevier Masson France, Pathologie Biologie 57 (**2009)** 142–148

[3] Coffin JM. HIV population dynamycs in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. Science **1996**; 267 : 483-489

[4] James MM, Wang L, Musoke P, Donnell D, Fogel J, et al. Association of HIV Diversity and Survival in HIV-Infected Ugandan Infants. PLoS ONE 6(4): e18642. **2011**

[5] N. N. Zheng, N. B. Kiviat, P. S. Sow, S. E. Hawes et al. Comparison of Human Immunodeficiency Virus (HIV)-Specific T-Cell Responses in HIV-1- and HIV-2-Infected Individuals in Senegal. American Society for Microbiology.JOURNAL OF VIROLOGY. Vol.78, N°24 Dec. **2004**, p. 13934–13942

[6] Liu Y, Li L, Yang S, Bao Z and al. Identification and characterization of two new HIV type 1 Unique (B/C) recombinant forms in China. Journal AIDS Res Hum Retroviruses. 27(4): 445-51, **April, 2011**

[7] Martine Peeters, Marie-Laure Chaix, Eric Delaporte. Phylogénie des SIV et des VIH : mieux comprendre l'origine des VIH. MEDECINE/SCIENCES **2008** ; 24 : 621-8

[8] Aurélia Vessière, Constance Delaugerre, Jean-Christophe Plantier, François Simon. Passages inter-espèces des virus de l'immunodéficience humaine et simienne chez les primates Revue Francophone des Laboratoires, Volume 2010, Issue 423, **June 2010**, Pages 43-53

[9] A. Depatureaux, M. Leoz, F. De Oliveira, M. Gueudin, F. Damond, D. Descamps, F. Brun-Vézinet, V. Lemée, F. Simon, F. Barin, J.-C. Plantier Diagnostic spécifique et prise en charge des infections par un VIH-1 groupe O : données de RES-O Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 40, Issue 12, **December 2010**, Pages 669-676

[10] J.C. Plantier, F. Simon Les variants rares du VIH-1 Journal des Anti-infectieux, In Press, Corrected Proof, **13 May 2011**

[11] Lalonde MS, Lobritz MA, Ratcliff A, Chamanian M, et al. Inhibition of Both HIV-1 Reverse Transcription and Gene Expression by a Cyclic Peptide that Binds the Tat-Transactivating Response Element (TAR) RNA. PLoS Pathog 7(5): e1002038. **May19, 2011**

[12] Jean-Christophe Plantier, Marie Leoz, Jonathan E Dickerson, Fabienne and al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. Nature Medicine 15, 871 - 872 (2009) Published online: **2 August 2009**

[13] Van Heuverswyn F, Li Y, Neel C, et al. Human immunodeficiency viruses: SIV infection in wild gorillas. Nature **2006**; 444:164.

[14] Lisa Ross, Michael Johnson, Ralph DeMasi, Qiming Liao and al. Viral genetic heterogeneity in HIV-1-infected individuals is associated with increasing use of HAART and higher viremia. & 2000 Lippincott Williams & Wilkins AIDS **2000**, Vol 14 No 7

[15] S. SUZANNE. CTIP2: un facteur clé dans l'établissement de la latence transcriptionnelle post-intégrative du VIH-1.Thèse Université Louis Pasteur de Strasbourg I, soutenue le **27 mars 2008**. P19/234

[16] F. van Heuverswyn, M. Peeters. Human Immunodeficiency Viruses: Origin Encyclopedia of Virology, **2008,** Pages 525-534

[17] Leoz M, Chaix ML, Delaugerre C, Rivoisy C and al. Circulation of multiple patterns of unique recombinant forms B/CRF02_AG in France: precursor signs of the emergence of an upcoming CRF B/02. AIDS. **2011 Jul 17**;25(11):1371-7.

[18] Hervé J.Fleury.HIV-1, sous-types et CRF: différences dans la réponse aux traitements et la résistance aux antirétroviraux. Journées Québécoises sur l'infection VIH, Montréal, Canada, **mars 2010**

[19] N. Rigaud, F. Clavel, J-F. Delfraissy, C. Berlioz- Torrent VIH/SIDA : nouvelles recherches nouveaux espoirs. INSERM - Science et Santé n° 1 décembre 2010 - **Janvier 2011**, p28

[20] Jean-Marie HURAUX, Jean-Claude NICOLAS, Henri AGUT, Hélène PEIGUE-LAFEUILLE. VIROLOGIE MEDICALE. Édition ESTEM **2003**, p325

[21] Philip Lawrence, Aline Zimmer, Stéphane Paul. Infection muqueuse par le virus VIH-1: mécanismes, conséquences, perspectives de vaccination. Revue Francophone des Laboratoires, Volume 2009, Issue 410, **March 2009**, Pages 45-54

[22] C. Soulié, V. Calvez. Les tests de tropisme du VIH à l'heure de la mise à disposition du 1er anti-CCR5. Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 38, Supplement 1, **March 2008**, Pages 7-11

[23] R. Thiébaut, S. Matheron, A. Taieb, F. Damond, F. Brun-Vezinet and al. Long term non-progressors and elite controllers in the ANRS CO5 HIV-2 cohort. Source: ANRS © Copyright 2011 SIDAnet www.SIDAnet.info. Mardi **22 mars 2011**

[24] Pr E. Bissagnéné, Dr J-M. Dariosecq, Dr A. Inwoley, Pr P. Sow et al. Mémento thérapeutique du VIH/SIDA en Afrique 2009 (2ème Edition).©IMEA **2009.** p : 237-307

[25] Desbois D, Roquebert B, Peytavin G et al. In vitro phenotypic susceptibility of human immunodeficiency virus type 2 clinical isolates to protease inhibitors. Antimicrob Agents Chemother. **2008 Apr**;52(4):1545-8.

[26] Witvrouw E et al. Susceptibility of HIV-2, SIV and SHIV to various anti-HIV-1 compounds: implications for treatment and postexposure prophylaxis. Antivir Ther **2004**; 9(1): 57-65.

[27] Pr Patrick Yeni. Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Recommandations du groupe d'expert 2006. Paris: Flammarion -Médecine-Sciences, **2006.**

[28] Joos B, Trkola A, Fischer M, Kuster H, Rusert P, et al.low human immunodeficiency virus envelope diversity correlates with low in vitro replication capacity and predicts spontaneous control of plasma viremia after treatement interruptions. J Virol 79: 9026-9037, **2005.**

[29] C. Goujard, M-L. Chaix, O. Lambotte, C. Deveau et al. Early spontaneous control of viral replication in patients enrolled during primary-HIV-1 infection in the French ANRS PRIMO Cohort: can we predict the "HIV controller" Status? 16ème Conférence sur les rétrovirus et les infections opportunistes (CROI) , Montréal 2009. Note de presse ANRS CROI, **12 février 2009**.

[30] Yonathan Ganor et al. L'urètre, nouvelles portes d'entrée du virus ? 18ème Conference sur les rétrovirus et les infections opportunistes(CROI) , Boston 2011. Note de presse ANRS CROI **4 mars 2011.**

[31] A. Depatureaux, M. Leoz, F. De Oliveira, M. Gueudin, F. Damond, D. Descamps, F. Brun-Vézinet, V. Lemée, F. Simon, F. Barin, J.-C. Plantier. Diagnostic spécifique et prise en charge des infections par un VIH-1 groupe O : données de RES-O . Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 40, Issue 12**, Decembre 2010**, Pages 669-676

[32] Buchbinder S, Mehrotra DV, Duerr A , ET coll. Vaccin anti-VIH : encore une déception. Lancet 372(9653) : 1 881-93, **2008.**

[33] H. El Annaz, P.Recordon-Prison, N.Baba, O.Sedrati, S.Mrani and H.Fleury. Presence of drug resistance mutations among drug-naïve patients in Morocco. AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES, Volume 27, **Number 8, 2011**

[34] Salima Bouzeghoub, El Hadj Belabbesa. La diversité génétique du VIH-1 et données actuelles en Algérie. Revue Francophone des Laboratoires, Volume 2007, Issue 396, Supplement 1, **2007**, Pages 17 20

[35] Gottlieb G.S , P. S. Sow , S. E .Hawes, I. Ndoye, M.Redman, and al. Equal plasma viral loads predict a similar rate of CD4+ T-Cell decline in human immunodeficiency virus (HIV) type 1- and HIV-2 infected individuals from Senegal, West Africa. J. Infect. Dis. 185 : 905-914, **2009.**

[36 http://www.hiv.lanl.gov/components/sequence/HIV/geo/geo.comp, Los Alamos HIV-1 database.**2011.**

[37] Chaix ML, Deveau C, Goujard C, et al. Increase of the HIV-1 non-B subtypes frequency and response to HAART in patients enrolled in the French Primo cohort study and treated at the ti me of primary infection. Denver: 13th Confernce on Retrovirus and Opportunistic,**2011.**

[38] Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. Science **1986**;233: 343–6.

[39] Saimot AG, Coulaud JP, Mechali D, et al. HIV-2/LAV-2 in Portuguese man with AIDS (Paris, 1978) who had served in Angola in 1968–74. Lancet **1987**;1:688.

[40] http://www.inserm.fr/thematiques/microbiologie-et-maladies-infectieuses/dossiers-d-information/SIDA-vih, **2011**

[41] Lemey P, Pybus OG, Wang B, et al. Tracing the origin and history of the HIV-2 epidemic. Proc Natl Acad Sci USA **2003 ;** 100 : 6588-92.

[42] Lemey P, Pybus OG, Rambaut A, et al. The molecular population genetics of HIV-1 group O. Genetics **2004 ;** 167 : 1059-68.

[43] A. Greder Belana, C. Chaplainb, A. Boussairi. Suivi biologique de l'infection à VIH chez l'adulte. Immuno-analyse et biologie spécialisée **(2008)** 23, 95-102

[44] Courgnaud V, Müller-Trutwin M, Sonigo P. Évolution et virulence des lentivirus de primates. Med Sci (Paris**) 2004** ; 20 : 448-52.

[45] P.Chappell, C.Peix. Les origines du SIDA. Vidéo-documentaire ©2003MFP/ Galafilms /Pathé archives / les films de la passerelles / RTBF / Sogecable avec la participation des chercheurs Dr.S.Wain Hobson, Pr. J.Vandepitte, Dr. C.Fox , Dr. R.Weiss, Dr. J.Martin et des journalistes E.Hooper , T.Curtis. **2003.**

[46] Bailes E, Gao F, Bibollet-Ruche F, et al. Hybrid origin of SIV in chimpanzees. Science **2003;** 300: 1713.

[47] Semaille C, Barin F, Cazein F, et al. Monitoring the dynamics of the HIV epidemic using assays for recent infection and serotyping among new HIV diagnoses : experience after 2 years in France. J Infect Dis **2007** ; 196 : 377-83.

[48] Gao F, Bailes E, Robertson DL, et al. Origin of HIV-1 in the chimpanzee Pan troglodytes troglodytes. Nature **1999**;397:436–41

[49] Van Heuverswyn F, Li Y, Neel C, et al. Human immunodeficiency viruses: SIV infection in wild gorillas. Nature **2006**; 444: 164.

[50] VandeWoude S, Apetrei C. Going wild : lessons from naturally occurring T-lymphotropic lentiviruses. Clin Microbiol Rev **2006**; 19: 728-62.

[51] Heeney JL, Dalgleish AG, Weiss RA. Origins of HIV and the evolution of resistance to AIDS. Science **2006** ; 313 : 462-66

[52] Ramirez BC, Simon-Loriere E, Galetto R, Negroni M. Implications of recombination for HIV diversity. Virus Res. 2008 Jun ; 134(1-2): 64-73. Epub **2008 Mar 04.**

[53] www.lemonde.fr. Des scientifiques decouvrent une protéine efficace contre la réplication du VIH.AFP. Mis à jour le **01.09.11** | 18h25

[54] Ouédraogo-Traoré Rasmata, Montavon Celine, Sanou Thomas, Vidal Nicole, Sangaré Lassana , Sanou Idrissa, Soudré Robert, Mboup Souleymane, Delaporte Eric , Peeters Martine. CRF06-cpx is the predominant HIV-1 variant in AIDS patients from Ouagadougou, the capital city of Burkina Faso. AIDS - Volume 17 - Issue 3 - p 441-442, **14 February 2003**

[55] Bakhouch et al. The prevalence of resistance-associated mutations to protease and reversetranscriptase inhibitors in treatment-naïve (HIV1)-infected individuals in Casablanca, Morocco.J Infect Dev Ctries 2009; 3(5):380-391.

[56] S. Bouzeghou, El H. Belabbes J.Valery, P. Recordon-Pinson, I. Garrigue, H. Fleury. La diversité génétique du VIH-1 et données actuelles en Algérie .Revue Francophone des Laboratoires, Volume 2007, Issue 396, Supplement 1, **2007**, Pages 1720

[57] D. Paraskevis, E. Magiorkinis , A. Katsoulidou , E. Hatzitheodorou and al. Prevalence of resistance-associated mutations in newly diagnosed HIV-1 patients in Greece. ©2005 Elsevier B.V. doi:10.1016/Journal Virus Research 112 **(2005)** 115–122

[58] Marie-Laure Chaix, Diane Descamps, Marc Wirden ,Laurence Bocket. Stable frequency of HIV-1 transmitted drug resistance in patients at the time of primary infection over 1996–2006 in France. Wolters Kluwer Health | Lippincott Williams & Wilkins AIDS **2009**, 23:717–724

[59] Vidal N, Frange P, Chaix ML, Mulanga C, Lepira F, Bazepeo SE, et al. Characterization of an old complex circulating recombinant form, CRF27_cpx, originating from the Democratic Republic of Congo (DRC) and circulating in France. AIDS Res Hum Retroviruses **2008**; 24:315–321

[60] Frange P, Galimand J, Vidal N, Goujard C, Deveau C, Souala F, et al. New and old complex recombinant HIV-1 strains among patients with primary infection in 1996–2006 in France: the French ANRS CO06 primo cohort study. Retrovirology **2008**;5:69

[61] P.Recordon-Pinson, G. Anies, M. Bruyand , D.Neau and al. HIV type-1 transmission dynamics in recent seroconverters: relationship with transmission of drug resistance and viral diversity. © 2009 International Medical Press 1359-6535 (print) 2040-2058 (online), **2009.**

[62] Akrim M, Adnaoui M. Himmich H, Khattabi H, André P, El Aouad R .Dynamic of distribution of HIV-1 subtypes in Morocco. 16th Int AIDS Conf Toronto, Canada - **August 2006** 13-18; 16.

[63] El Aouad R, Diez M, and Cherkaoui I: Impact of immigra-tion on HIV and tuberculosis epidemiology in the Euro-Mediterranean area. Euro Surveill **2009**;14(15):19173.

[64] Imamichi H, Koita O, Dabitao D, Dao S, Ibrah M, Sogoba D, Dewar RL, Berg SC, Jiang MK, Parta M, Washington JA, Polis MA, Lane HC, Tounkara A. Identification and characterization of CRF02_AG, CRF06_cpx, and CRF09_cpx Recombinant Subtypes in Mali, West Africa. AIDS Res Hum Retroviruses 25: 45-55, **2009.**

[65] Baldrich-Rubio E, Anagonou S, Stirrups K, Lafia E, Candotti D, Lee H, and Allain JP: A complex human immunodeficiency virus type 1 A/G/J recombinant virus isolated from a seronegative patient with AIDS from Benin, West Africa. J Gen Virol **2001**;82:1095–1106

[66] Mamadou S, Vidal N, Montavon C, Ben A, Djibo A, Rabiou S, Soga G, Delaporte E, Mboup S, and Peeters M: Emergence of complex and diverse CRF02-AG/CRF06-cpx recombinant HIV type 1 strainsin Niger, West Africa. AIDS Res Hum Retroviruses **2003**;19: 77–82.

[67] Christine Bigaillon, Audrey Mérens, Christophe Rapp. Intérêt des tests génotypiques de résistance du VIH aux antirétroviraux en pratique clinique quotidienne.Revue Francophone des Laboratoires - **Mai 2010** - N°422.

[68] Beatriz de Felipe, Pilar Pérez-Romero,María Abad-Fernández and al. Prevalence and resistance mutations of non-B HIV-1 subtypes among immigrants in Southern Spain along the decade 2000-2010. BioMed Central, Virology Journal (under http://creativecommons.org/licenses/by/2.0), **2011.**

[69] Vasan A, Renjifo B, Hertzmark E et al. Different rates of disease progression of HHIV type 1 infection in Tanzania based on infecting subtype. Clin Infect Dis.**2006 Mar 15**; 42(6):843-52.

[70] Pandrea I, Silvestri G, Apetrei C. AIDS in african nonhuman primate hosts of SIVs: a new paradigm of SIV infection. Curr HIV Res. **2009 Jan;** 7(1): 57-72.

[71] http://www.afd-ld.org/~fdp_viro/content.phppage=SIDA , **2011.**

[72] D. van de Vijver, . M. J. Wensing, . Åsjö, M. Bruckova, L. Bruun Jorgensen, R. Camacho and al,. HIV-1 drug-resistance patterns among patients on failing treatment in a large number of European countrie. Acta Dermatoven APA Vol 19, **2010**, No 4.

[73] UNAIDS. 2009 Report on the global AIDS epidemic. http:// www.unaids.org/en/KnowledgeCentre/HIVData/GlobalReport/2009/**2009** Global report.asp.

[74] X. Anglaret.VIH/SIDA dans le monde : de l'épidémiologie au traitement universel. Elsevier Masson SAS. Revue de Médecine interne 29S (**2008)** S269–S273.

[75] Faria, N.R., et al., Phylodynamics of the HIV-1 CRF02_AG clade in Cameroon. Infect. Genet. Evol**. (2011),**doi:10.1016/j.meegid.2011.04.028.

[76] H:\OMDH Portail du Haut Commissariat au Plan du Maroc sur le Développement Humain et les Objectifs du Millénaire pour le Développement.htm. **2011.**

[77] S.BOUZEGHOUB, V.JAUVIN, P.RECORDON-PINSON, I. GARRIGUE, A. AMRANE, EL-H. BELABBES, HERVÉ J. FLEURY2. High Diversity of HIV Type 1 in Algeria. AIDS RESEARCH AND HUMAN RETROVIRUSES Volume 22, Number 4, **2006**, pp. 000–000 © Mary Ann Liebert, Inc.

[78] Elharti E, Elaouad R, Amzazi S, et al.: HIV-1 diversity in Morocco. Lancet **1997**;11:1781–1783.

[79] Akrim M, Adnaoui M, Himmich H, Khattabi H, Andre ´ P, and El Aouad R: Dynamic of distribution of HIV-1 subtypes in Morocco. 16th International AIDS Conference Toronto, Canada, **August 2006**;16:13–18.

[80] E-A. Soares, M-F.Makamche, J- D. Siqueira, E. Lumngwenab, J .Molecular diversity and polymerase gene genotypes of HIV-1 among treatment-naïve Cameroonian subjects with advanced disease. Journal of Clinical Virology 48 (**2010)** 173–179.

[81] P. Delobel, S. Raymond, K. Sandres-Saune, L. Cuzin, B. Marchou, P. Massip, J. Izopet. COL1-05 Performances du génotypage de V3 env pour la détermination en routine du tropisme du HIV-1. Médecine et Maladies Infectieuses, Volume 38, Supplement 2, **June 2008,** Page S111

[82] Desrosiers R. Scientific obstacles to an effective HIV vaccine. In: 15th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Boston, MA, US, **2008**.

[83] Spearman P. Current progress in the development of HIV vaccines. Curr Pharm Des **2006**; 12:1147–67

[84] Admou B, Elharti E, Oumzil H , Addebbous A , Amine M , Zahlane K and al. Clinical and immunological status of a newly diagnosed HIV positive population, in Marrakech, Morocco. African Health Sciences Vol 10 No **4 December 2010.**

[85] Buonaguro, L., Tornesello, M.L., Buonaguro, F.M. Human immunodeficiency virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications. J. Virol., 81, 10209–10219, **2007.**

[86] Lee Anne M. Luft, M. John Gill, Deirdre L. Church. HIV-1 viral diversity and its implications for viral load testing: review of current platforms. International Journal of Infectious Diseases: (**2011)** Article in press.

[87] Fleury, H.J., Toni, T., Lan, N.T., Hung, P.V., Deshpande, A., Recordon-Pinson, P., et al. Susceptibility to antiretroviral drugs of CRF01_AE, CRF02_AG, and subtype C viruses from untreated patients of Africa and Asia: comparative genotypic and phenotypic data. AIDS Res. Hum. Retroviruses 22 (4), 357–366, **2006.**

[88] Gonzalez, L.M.F., Brindeiro, R.M., Aguiar, R.S., Pereira, H.S., Abreu, C.M., Soares, M.A., Cassol, S., Tanuri, A. In vitro hypersusceptibility of human immunodeficiency virus type 1 subtype C protease to lopinavir. Antimicrob. Agents Chemother. 47 (9), 2817–2822**, 2003**.

[89] Abecasis, A.B., Deforche, K., Snoeck, J., Bacheler, L.T., McKenna, P., Carvalho, A.P., et al. Protease mutation M89I/V is linked to therapy failure in patients infected with the HIV-1 non-B subtypes C, F or G. AIDS 19 (16), 1799–1806, **2005.**

[90] Martinez-Cajas, J.L., Pant-Pai, N., Klein, M.B., Wainberg, M.A. Role of genetic diversity amongst HIV-1 Non-B subtypes in drug resistance: a systematic review of virologic and biochemical evidence. AIDS Rev. 10 (212), 223, **2008.**

[91] Brenner, B., Turner, D., Oliveira, M.,Moisi, D., Detorio, M., Carobene, M., et al. A V106Mmutation in HIV-1 clade C viruses exposed to efavirenz confers cross resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. AIDS 17 (1), F1–5, **2003.**

[92] Korber B. Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. Science **2000**; 288:1789-94.

[93] Huet T, Cheynier R, et al. Genetic organization of a chimpanzee lentivirus related to HIV-1. Nature **1990**; 345(6273):356-9

[94] Lemey P. The molecular population genetics of HIV-1 group O. Genetics **2004**;167:1059

[95] Yamaguchi J, Vallari AS, et al. Evaluation of HIV type 1 group O isolates: identification of five phylogenetic clusters. AIDS Res Hum Retroviruses **2002**;18(4):269-82.

[96] Vallari A, Bodelle P, et al. Four new HIV-1 group N isolates from Cameroon: prevalence continues to be low. AIDS Res Hum Retroviruses. **2010 Jan**; 26(1):109-15.

[97] Simon F, Mauclere P, et al. Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. Nat Med **1998**;4(9):1032-7.

[98] Corbet S, Muller-Trutwin MC, et al. Env sequences of simian immunodeficiency viruses from chimpanzees in Cameroon are strongly related to those of human immunodeficiency virus group N from the same geographic area. J Virol **2000**; 74(1):529-34.

[99] Liégeois F, Lafay B, et al. Full-length genome characterization of a novel simian immunodeiciency virus lineage (SIVolc) from Olive Colobus (Procolobus verus) and new SIVwrcPbb strains from western Red Colobus (Piliocolobus badius badius) from the Taï forest in Ivory Coast. J Virol **2009**; 83(1):428-439

Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

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

- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*

- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*

- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*

- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

جامعة محمد الخامس

كلية الطب والصيدلة بالرباط

سنة : 2011 **أطروحة رقم: 89**

التنوع الجيني للفيروس HIV- 1: السلالات المنتشرة في المغرب

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم :.....

من طرف

السيد: بوريما كوناتي

المزداد في:27 مارس 1983 ديرا (بوركينافاسو)

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: **HIV- 1 فرعية ، والتنوع الجيني ، وعلم الأوبئة الجزيئي.**

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

السيد: ميمون الزهدي	**أستاذ في علم الأحياء المجهرية**	**رئيس**
السيد: سعد مراني	**أستاذ مبرز في الكمياء الفيروسات**	**مشرف**
السيد: عبد القادر بلمكي	**أستاذ مبرز في علم الدمويات**	**أعضاء**
السيد: منصف الرابحي	**أستاذ مبرز في الطب الباطني**	
السيد: عمر أكادر	**أستاذ مبرز في طب الأطفال**	