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

ANNEE: 2012 *THESE N°: 90*

ANALYSE DES PARAMETRES DU DIAGNOSTIC ET DU SUIVI DE L'INFECTION AU VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE

THESE

Présentée et soutenue publiquement le : 21 Décembre 2012

PAR
Mr Fils Merveille MUKUNDWA
Né le 03 Décembre 1983 à Bujumbura (BURUNDI)

Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie

MOTS CLES : **Virus de l'Immunodéficience Humaine – Algorithme du diagnostic de l'infection au VIH – Technique Western Blot – Charge virale – Immunophébotypage.**

JURY

Mr. M. ADNAOUI Professeur de Médecine Interne	**PRESIDENT**
Mr. S. MRANI Professeur de Virologie	**RAPPORTEUR**
Mme. F. MAHASSIN Professeur de Médecine Interne	**JUGES**
Mr. A. BELMEKKI Professeur d'Hématologie	
Mr. M. RABHI Professeur de Médecine Interne	
Mr. S. ZOUHAIR Professeur Agrégé de Microbiologie	

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

DOYENS HONORAIRES :
1962 – 1969 : Professeur 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 – HASSOUNI
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 :

Mars, Avril et Septembre 1980

1.	Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam	Neurochirurgie

Mai et Octobre 1981

2.	Pr. HAMANI Ahmed*	Cardiologie
3.	Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih	Chirurgie Cardio-Vasculaire
4.	Pr. TAOBANE Hamid*	Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

5.	Pr. ABROUQ Ali*	Oto-Rhino-Laryngologie
6.	Pr. BENOMAR M'hammed	Chirurgie-Cardio-Vasculaire
7.	Pr. BENSOUDA Mohamed	Anatomie
8.	Pr. BENOSMAN Abdellatif	Chirurgie Thoracique
9.	Pr. LAHBABI Naïma ép. AMRANI	Physiologie

Novembre 1983

10.	Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir*	Pneumo-phtisiologie
11.	Pr. BELLAKHDAR Fouad	Neurochirurgie
12.	Pr. HAJJAJ Najia ép. HASSOUNI	Rhumatologie

Décembre 1984

13.	Pr. BOUCETTA Mohamed*	Neurochirurgie
14.	Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil	Radiothérapie
15.	Pr. MAAOUNI Abdelaziz	Médecine Interne

16.	Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi	Anesthésie -Réanimation
17.	Pr. NAJI M'Barek *	Immuno-Hématologie
18.	Pr. SETTAF Abdellatif	Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

19.	Pr. BENJELLOUN Halima	Cardiologie
20.	Pr. BENSAID Younes	Pathologie Chirurgicale
21.	Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa	Neurologie
22.	Pr. IHRAI Hssain *	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale
23.	Pr. IRAQI Ghali	Pneumo-phtisiologie

Janvier, Février et Décembre 1987

24.	Pr. AJANA Ali	Radiologie
25.	Pr. AMMAR Fanid	Pathologie Chirurgicale
26.	Pr. CHAHED OUAZZANI Houria ép.TAOBANE	Gastro-Entérologie
27.	Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq	Pneumo-phtisiologie
28.	Pr. EL HAITEM Naïma	Cardiologie
29.	Pr. EL MANSOURI Abdellah*	Chimie-Toxicologie Expertise
30.	Pr. EL YAACOUBI Moradh	Traumatologie Orthopédie
31.	Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah	Gastro-Entérologie
32.	Pr. LACHKAR Hassan	Médecine Interne
33.	Pr. YAHYAOUI Mohamed	Neurologie

Décembre 1988

34.	Pr. BENHAMAMOUCH Mohamed Najib	Chirurgie Pédiatrique
35.	Pr. DAFIRI Rachida	Radiologie
36.	Pr. FAIK Mohamed	Urologie
37.	Pr. HERMAS Mohamed	Traumatologie Orthopédie
38.	Pr. TOLOUNE Farida*	Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

39.	Pr. ADNAOUI Mohamed	Médecine Interne
40.	Pr. AOUNI Mohamed	Médecine Interne
41.	Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali	Cardiologie
42.	Pr. CHAD Bouziane	Pathologie Chirurgicale
43.	Pr. CHKOFF Rachid	Pathologie Chirurgicale
44.	Pr. HACHIM Mohammed*	Médecine-Interne
45.	Pr. KHARBACH Aîcha	Gynécologie -Obstétrique
46.	Pr. MANSOURI Fatima	Anatomie-Pathologique
47.	Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda	Neurologie
48.	Pr. SEDRATI Omar*	Dermatologie
49.	Pr. TAZI Saoud Anas	Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

50.	Pr. AL HAMANY Zaîtounia	Anatomie-Pathologique
51.	Pr. AZZOUZI Abderrahim	Anesthésie Réanimation

52.	Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM	Néphrologie
53.	Pr. BELKOUCHI Abdelkader	Chirurgie Générale
54.	Pr. BENABDELLAH Chahrazad	Hématologie
55.	Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif	Chirurgie Générale
56.	Pr. BENSOUDA Yahia	Pharmacie galénique
57.	Pr. BERRAHO Amina	Ophtalmologie
58.	Pr. BEZZAD Rachid	Gynécologie Obstétrique
59.	Pr. CHABRAOUI Layachi	Biochimie et Chimie
60.	Pr. CHANA El Houssaine*	Ophtalmologie
61.	Pr. CHERRAH Yahia	Pharmacologie
62.	Pr. CHOKAIRI Omar	Histologie Embryologie
63.	Pr. JANATI Idrissi Mohamed*	Chirurgie Générale
64.	Pr. KHATTAB Mohamed	Pédiatrie
65.	Pr. OUAALINE Mohammed*	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
66.	Pr. SOULAYMANI Rachida ép.BENCHEIKH	Pharmacologie
67.	Pr. TAOUFIK Jamal	Chimie thérapeutique

Décembre 1992

68.	Pr. AHALLAT Mohamed	Chirurgie Générale
69.	Pr. BENOUDA Amina	Microbiologie
70.	Pr. BENSOUDA Adil	Anesthésie Réanimation
71.	Pr. BOUJIDA Mohamed Najib	Radiologie
72.	Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza	Gastro-Entérologie
73.	Pr. CHRAIBI Chafiq	Gynécologie Obstétrique
74.	Pr. DAOUDI Rajae	Ophtalmologie
75.	Pr. DEHAYNI Mohamed*	Gynécologie Obstétrique
76.	Pr. EL HADDOURY Mohamed	Anesthésie Réanimation
77.	Pr. EL OUAHABI Abdessamad	Neurochirurgie
78.	Pr. FELLAT Rokaya	Cardiologie
79.	Pr. GHAFIR Driss*	Médecine Interne
80.	Pr. JIDDANE Mohamed	Anatomie
81.	Pr. OUAZZANI TAIBI Med Charaf Eddine	Gynécologie Obstétrique
82.	Pr. TAGHY Ahmed	Chirurgie Générale
83.	Pr. ZOUHDI Mimoun	Microbiologie

Mars 1994

84.	Pr. AGNAOU Lahcen	Ophtalmologie
85.	Pr. AL BAROUDI Saad	Chirurgie Générale
86.	Pr. BENCHERIFA Fatiha	Ophtalmologie
87.	Pr. BENJAAFAR Noureddine	Radiothérapie
88.	Pr. BENJELLOUN Samir	Chirurgie Générale
89.	Pr. BEN RAIS Nozha	Biophysique
90.	Pr. CAOUI Malika	Biophysique
91.	Pr. CHRAIBI Abdelmjid	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
92.	Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT	Gynécologie Obstétrique

93.	Pr. EL AOUAD Rajae	Immunologie
94.	Pr. EL BARDOUNI Ahmed	Traumato-Orthopédie
95.	Pr. EL HASSANI My Rachid	Radiologie
96.	Pr. EL IDRISSI LAMGHARI Abdennaceur	Médecine Interne
97.	Pr. ERROUGANI Abdelkader	Chirurgie Générale
98.	Pr. ESSAKALI Malika	Immunologie
99.	Pr. ETTAYEBI Fouad	Chirurgie Pédiatrique
100.	Pr. HADRI Larbi*	Médecine Interne
101.	Pr. HASSAM Badredine	Dermatologie
102.	Pr. IFRINE Lahssan	Chirurgie Générale
103.	Pr. JELTHI Ahmed	Anatomie Pathologique
104.	Pr. MAHFOUD Mustapha	Traumatologie – Orthopédie
105.	Pr. MOUDENE Ahmed*	Traumatologie- Orthopédie
106.	Pr. OULBACHA Said	Chirurgie Générale
107.	Pr. RHRAB Brahim	Gynécologie –Obstétrique
108.	Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR	Dermatologie
109.	Pr. SLAOUI Anas	Chirurgie Cardio-Vasculaire

Mars 1994

110.	Pr. ABBAR Mohamed*	Urologie
111.	Pr. ABDELHAK M'barek	Chirurgie – Pédiatrique
112.	Pr. BELAIDI Halima	Neurologie
113.	Pr. BRAHMI Rida Slimane	Gynécologie Obstétrique
114.	Pr. BENTAHILA Abdelali	Pédiatrie
115.	Pr. BENYAHIA Mohammed Ali	Gynécologie – Obstétrique
116.	Pr. BERRADA Mohamed Saleh	Traumatologie – Orthopédie
117.	Pr. CHAMI Ilham	Radiologie
118.	Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae	Ophtalmologie
119.	Pr. EL ABBADI Najia	Neurochirurgie
120.	Pr. HANINE Ahmed*	Radiologie
121.	Pr. JALIL Abdelouahed	Chirurgie Générale
122.	Pr. LAKHDAR Amina	Gynécologie Obstétrique
123.	Pr. MOUANE Nezha	Pédiatrie

Mars 1995

124.	Pr. ABOUQUAL Redouane	Réanimation Médicale
125.	Pr. AMRAOUI Mohamed	Chirurgie Générale
126.	Pr. BAIDADA Abdelaziz	Gynécologie Obstétrique
127.	Pr. BARGACH Samir	Gynécologie Obstétrique
128.	Pr. BEDDOUCHE Amoqrane*	Urologie
129.	Pr. BENAZZOUZ Mustapha	Gastro-Entérologie
130.	Pr. CHAARI Jilali*	Médecine Interne
131.	Pr. DIMOU M'barek*	Anesthésie Réanimation
132.	Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine*	Anesthésie Réanimation
133.	Pr. EL MESNAOUI Abbes	Chirurgie Générale

134. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila	Oto-Rhino-Laryngologie
135. Pr. FERHATI Driss	Gynécologie Obstétrique
136. Pr. HASSOUNI Fadil	Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène
137. Pr. HDA Abdelhamid*	Cardiologie
138. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed	Urologie
139. Pr. IBRAHIMY Wafaa	Ophtalmologie
140. Pr. MANSOURI Aziz	Radiothérapie
141. Pr. OUAZZANI CHAHDI Bahia	Ophtalmologie
142. Pr. SEFIANI Abdelaziz	Génétique
143. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali	Réanimation Médicale

Décembre 1996

144. Pr. AMIL Touriya*	Radiologie
145. Pr. BELKACEM Rachid	Chirurgie Pédiatrie
146. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim	Ophtalmologie
147. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan	Chirurgie Générale
148. Pr. EL MELLOUKI Ouafae*	Parasitologie
149. Pr. GAOUZI Ahmed	Pédiatrie
150. Pr. MAHFOUDI M'barek*	Radiologie
151. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid	Chirurgie Générale
152. Pr. MOHAMMADI Mohamed	Médecine Interne
153. Pr. MOULINE Soumaya	Pneumo-phtisiologie
154. Pr. OUADGHIRI Mohamed	Traumatologie-Orthopédie
155. Pr. OUZEDDOUN Naima	Néphrologie
156. Pr. ZBIR EL Mehdi*	Cardiologie

Novembre 1997

157. Pr. ALAMI Mohamed Hassan	Gynécologie-Obstétrique
158. Pr. BEN AMAR Abdesselem	Chirurgie Générale
159. Pr. BEN SLIMANE Lounis	Urologie
160. Pr. BIROUK Nazha	Neurologie
161. Pr. CHAOUIR Souad*	Radiologie
162. Pr. DERRAZ Said	Neurochirurgie
163. Pr. ERREIMI Naima	Pédiatrie
164. Pr. FELLAT Nadia	Cardiologie
165. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra	Radiologie
166. Pr. HAIMEUR Charki*	Anesthésie Réanimation
167. Pr. KADDOURI Noureddine	Chirurgie Pédiatrique
168. Pr. KANOUNI NAWAL	Physiologie
169. Pr. KOUTANI Abdellatif	Urologie
170. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid	Chirurgie Générale
171. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ	Pédiatrie
172. Pr. NAZI M'barek*	Cardiologie
173. Pr. OUAHABI Hamid*	Neurologie
174. Pr. TAOUFIQ Jallal	Psychiatrie

175. Pr. YOUSFI MALKI Mounia	Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

176. Pr. AFIFI RAJAA	Gastro-Entérologie
177. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali*	Pneumo-phtisiologie
178. Pr. ALOUANE Mohammed*	Oto-Rhino-Laryngologie
179. Pr. BENOMAR ALI	Neurologie
180. Pr. BOUGTAB Abdesslam	Chirurgie Générale
181. Pr. ER RIHANI Hassan	Oncologie Médicale
182. Pr. EZZAITOUNI Fatima	Néphrologie
183. Pr. KABBAJ Najat	Radiologie
184. Pr. LAZRAK Khalid (M)	Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

185. Pr. BENKIRANE Majid*	Hématologie
186. Pr. KHATOURI ALI*	Cardiologie
187. Pr. LABRAIMI Ahmed*	Anatomie Pathologique

Janvier 2000

188. Pr. ABID Ahmed*	Pneumophtisiologie
189. Pr. AIT OUMAR Hassan	Pédiatrie
190. Pr. BENCHERIF My Zahid	Ophtalmologie
191. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd	Pédiatrie
192. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine	Pneumo-phtisiologie
193. Pr. CHAOUI Zineb	Ophtalmologie
194. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer	Chirurgie Générale
195. Pr. ECHARRAB El Mahjoub	Chirurgie Générale
196. Pr. EL FTOUH Mustapha	Pneumo-phtisiologie
197. Pr. EL MOSTARCHID Brahim*	Neurochirurgie
198. Pr. EL OTMANY Azzedine	Chirurgie Générale
199. Pr. GHANNAM Rachid	Cardiologie
200. Pr. HAMMANI Lahcen	Radiologie
201. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim	Anesthésie-Réanimation
202. Pr. ISMAILI Hassane*	Traumatologie Orthopédie
203. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss	Gastro-Entérologie
204. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim*	Anesthésie-Réanimation
205. Pr. TACHINANTE Rajae	Anesthésie-Réanimation
206. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida	Médecine Interne

Novembre 2000

207. Pr. AIDI Saadia	Neurologie
208. Pr. AIT OURHROUI Mohamed	Dermatologie
209. Pr. AJANA Fatima Zohra	Gastro-Entérologie
210. Pr. BENAMR Said	Chirurgie Générale
211. Pr. BENCHEKROUN Nabiha	Ophtalmologie

212.	Pr. CHERTI Mohammed	Cardiologie
213.	Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma	Anesthésie-Réanimation
214.	Pr. EL HASSANI Amine	Pédiatrie
215.	Pr. EL IDGHIRI Hassan	Oto-Rhino-Laryngologie
216.	Pr. EL KHADER Khalid	Urologie
217.	Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah*	Rhumatologie
218.	Pr. GHARBI Mohamed El Hassan	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
219.	Pr. HSSAIDA Rachid*	Anesthésie-Réanimation
220.	Pr. LACHKAR Azzouz	Urologie
221.	Pr. LAHLOU Abdou	Traumatologie Orthopédie
222.	Pr. MAFTAH Mohamed*	Neurochirurgie
223.	Pr. MAHASSINI Najat	Anatomie Pathologique
224.	Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae	Pédiatrie
225.	Pr. NASSIH Mohamed*	Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale
226.	Pr. ROUIMI Abdelhadi	Neurologie

Décembre 2001

227.	Pr. ABABOU Adil	Anesthésie-Réanimation
228.	Pr. BALKHI Hicham*	Anesthésie-Réanimation
229.	Pr. BELMEKKI Mohammed	Ophtalmologie
230.	Pr. BENABDELJLIL Maria	Neurologie
231.	Pr. BENAMAR Loubna	Néphrologie
232.	Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
233.	Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
234.	Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
235.	Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
236.	Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
237.	Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
238.	Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
239.	Pr. BOUCHIKHI IDRISSI Med Larbi	Anatomie
240.	Pr. BOUHOUCH Rachida	Cardiologie
241.	Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
242.	Pr. CHAT Latifa	Radiologie
243.	Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
244.	Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
245.	Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
246.	Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
247.	Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
248.	Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
249.	Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophtalmologie
250.	Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
251.	Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
252.	Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
253.	Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
254.	Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique

255.	Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
256.	Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
257.	Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
258.	Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
259.	Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
260.	Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
261.	Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
262.	Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
263.	Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
264.	Pr. NOUINI Yassine	Urologie
265.	Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
266.	Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
267.	Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie

Décembre 2002

268.	Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
269.	Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
270.	Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
271.	Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
272.	Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
273.	Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
274.	Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
275.	Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
276.	Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
277.	Pr. BICHRA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
278.	Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
279.	Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
280.	Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
281.	Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
282.	Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
283.	Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
284.	Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
285.	Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
286.	Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
287.	Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
288.	Pr. IKEN Ali	Urologie
289.	Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
290.	Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
291.	Pr. KRIOUILE Yamina	Pédiatrie
292.	Pr. LAGHMARI Mina	Ophtalmologie
293.	Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
294.	Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
295.	Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
296.	Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
297.	Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie

298. Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
299. Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
300. Pr. RGUIBI IDRISSI Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie
301. Pr. RHOU Hakima	Néphrologie
302. Pr. SIAH Samir *	Anesthésie Réanimation
303. Pr. THIMOU Amal	Pédiatrie
304. Pr. ZENTAR Aziz*	Chirurgie Générale

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

305. Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophtalmologie
306. Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
307. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
308. Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
309. Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
310. Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
311. Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
312. Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
313. Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
314. Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
315. Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
316. Pr. EL HANCHI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
317. Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
318. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
319. Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
320. Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
321. Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophtalmologie
322. Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
323. Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
324. Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
325. Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
326. Pr. NAOUMI Asmae*	Ophtalmologie
327. Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
328. Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
329. Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale
330. Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie

Janvier 2005

331. Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
332. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
333. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
334. Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
335. Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
336. Pr. AZIZ Noureddine*	Radiologie

337.	Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
338.	Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
339.	Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
340.	Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
341.	Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie
342.	Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
343.	Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
344.	Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
345.	Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
346.	Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
347.	Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
348.	Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
349.	Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
350.	Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
351.	Pr. KENDOUSSI Mohamed*	Cardiologie
352.	Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
353.	Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
354.	Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
355.	Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
356.	Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
357.	Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam	Ophtalmologie
358.	Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

400.	Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
401.	Pr. AKJOUJ Said*	Radiologie
402.	Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra	Dermatologie
403.	Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
404.	Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
405	Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
406.	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
431. Pr. SEFIANI Sana	Anatomie Pathologique
432. Pr. SOUALHI Mouna	Pneumo – Phtisiologie
434. Pr. TELLAL Saida*	Biochimie
435. Pr. ZAHRAOUI Rachida	Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

436. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid	Anesthésie réanimation
437. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid	Anesthésier réanimation
438. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *	Anesthésie réanimation
439. Pr. BAITE Abdelouahed *	Anesthésie réanimation
440. Pr. TOUATI Zakia	Cardiologie
441. Pr. OUZZIF Ez zohra *	Biochimie
442. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
443. 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
450. Pr. GHARIB Noureddine	Chirurgie plastique
451. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
452. 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
459. Pr. MRANI Saad *	Virologie
460. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
461. 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
470. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
471. 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
478. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
479. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
480. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
481. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
482. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
483. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Décembre 2008

484. Pr TAHIRI My El Hassan*	Chirurgie Générale
485. Pr ZOUBIR Mohamed*	Anesthésie Réanimation

<u>Mars 2009</u>

486. Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
487. Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
488. Pr. BELYAMANI Lahcen *	Anesthésie Réanimation
489. Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
490. Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
491. Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
492. Pr. MARMADE Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
493. Pr. AMAHZOUNE Brahim *	Chirurgie Cardio-vasculaire
494. Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
495. Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
496. Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
497. Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
498. Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
499. Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
500. Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
501. Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
502. Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
503. Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
504. Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
505. Pr. ABOUZAHIR Ali *	Médecine interne
506. Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne

507. Pr. EL OUENNASS Mostapha	Microbiologie
508. Pr. ZOUHAIR Said*	Microbiologie
509. Pr. L'KASSIMI Hachemi*	Microbiologie
510. Pr. AKHADDAR Ali *	Neuro-chirurgie
511. Pr. AIT BENHADDOU El hachmia	Neurologie
512. Pr. AGADR Aomar *	Pédiatrie
513. Pr. KARBOUBI Lamya	Pédiatrie
514. Pr. MESKINI Toufik	Pédiatrie
515. Pr. KABIRI Meryem	Pédiatrie
516. Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani *	Pneumo-phtisiologie
517. Pr. BASSOU Driss *	Radiologie
518. Pr. ALLALI Nazik	Radiologie
519. Pr. NASSAR Ittimade	Radiologie
520. Pr. HASSIKOU Hasna *	Rhumatologie
521. Pr. AMINE Bouchra	Rhumatologie
522. Pr. BOUSSOUGA Mostapha *	Traumatologie orthopédique
523. Pr. KADI Said *	Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

524. Pr. AMEZIANE Taoufiq*	Médecine interne
525. Pr. ERRABIH Ikram	Gastro entérologie
526. Pr. MOSADIK Ahlam	Anesthésie Réanimation
527. Pr. ALILOU Mustapha	Anesthésie réanimation
528. Pr. KANOUNI Lamya	Radiothérapie
529. Pr. EL KHARRAS Abdennasser*	Radiologie
530. Pr. DARBI Abdellatif*	Radiologie
531. Pr. EL HAFIDI Naima	Pédiatrie
532. Pr. MALIH Mohamed*	Pédiatrie
533. Pr. BOUSSIF Mohamed*	Médecine aérotique
534. Pr. EL MAZOUZ Samir	Chirurgie plastique et réparatrice
535. Pr. DENDANE Mohammed Anouar	Chirurgie pédiatrique
536. Pr. EL SAYEGH Hachem	Urologie
537. Pr. MOUJAHID Mountassir*	Chirurgie générale
538. Pr. BOUAITY Brahim*	ORL
539. Pr. LEZREK Mounir	Ophtalmologie
540. Pr. NAZIH Mouna*	Hématologie
541. Pr. LAMALMI Najat	Anatomie pathologique
542. Pr. ZOUAIDIA Fouad	Anatomie pathologique
543. Pr. BELAGUID Abdelaziz	Physiologie
544. Pr. DAMI Abdellah*	Biochimie chimie
545. Pr. CHADLI Mariama*	Microbiologie

**** Enseignants Militaires***

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	Biotechnologie
17.	Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18.	Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19.	Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20.	Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSI M^{ed}	Chimie Organique
21.	Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22.	Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23.	Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

REMERCIEMENTS

A notre Maître et Président du jury,

Professeur ADNAOUI Mohamed

Vous nous faites l'honneur de présider notre jury de thèse. Vos hautes fonctions ne vous ont jamais départi de votre disponibilité, et votre

présence nous ravit du fait de votre sensibilité aux problématiques liées à la pandémie due à l'infection au VIH . Nous sommes persuadés que votre savoir et votre rigueur scientifique, conjugués à vos talents didactiques nous aiderons à trouver une chute bénéfique à notre travail.

Nous vous sommes reconnaissants.

A notre Maître et Rapporteur,

Professeur MRANI Saad

En arrivant dans le laboratoire de Virologie, j'étais en proie au difficile choix du sujet de thèse. Vous n'avez pas vu en moi le stagiaire hésitant et inexpérimenté. Mieux, vous m'avez fait confiance en me permettant de travailler sur un sujet, qui je sais, vous tenait à cœur. Par le truchement de vos compétences scientifiques, de votre rigueur dans le travail et de votre humanité, vous m'avez inculqué une méthodologie de travail. Sous votre direction, j'ai pu parfaire ma formation, car au-delà de la thèse, j'ai acquis une méthode, un style. Si la reconnaissance pouvait s'écrire, je saisirais alors ces mots pour qu'à travers leur calligraphie, vous soyez remerciée. Je ne saurai donc exprimer toute ma gratitude, sinon le vœu que vous ayez une longue et belle carrière afin que de nombreux autres comme moi, puissent bénéficier de votre finesse d'esprit. Merci !

A notre Maître et Juge,

Professeur MAHASSIN Fattouma

Nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de juger cette thèse.

Nous avons pu apprécier vos qualités professionnelles, votre dynamisme, votre rigueur et votre extrême sympathie.

Veuillez trouver ici, cher maître, l'expression de notre vive reconnaissance et notre gratitude.

A notre Maître et Juge,

Professeur BELMEKKI Abdelkader

Nous ne saurions être plus honorés que de pouvoir vous compter parmi les membres de notre jury. Aussi, nous vous sommes reconnaissants pour l'amabilité que vous nous avez témoignez toutes les fois où nous avons eu recours à vos lumières. Nous vous prions d'accepter en ces termes, nos remerciements sincères et l'assurance de notre estime. Merci !

A notre Maître et Juge,

Professeur RABHI Monsef

Grande a été notre joie et profonde notre gratitude lorsque vous avez accepté de siéger dans le jury de notre thèse en mettant votre confiance en notre travail.

Nous vous présentons tout notre respect devant vos compétences professionnelles, vos qualités humaines et votre disponibilité.

Très sincères remerciements.

A notre Maitre et juge,

Professeur ZOUHAIR Said

Vous avez aimablement accepté de juger notre thèse.

Nous vous remercions de l'attention que vous portez à ce travail.

Trouvez ici cher maitre, le témoignage de notre reconnaissance et de nos sincères remerciements

Merci !

Au Docteur HICHAM El Annaz

Biologiste au laboratoire de virologie HMIMV

Je vous remercie de l'attention que vous portez à cette thèse, d'avoir accepté de suivre tout le déroulement de ce travail.

L'exigence de vos fonctions ne vous a jamais départi de votre disponibilité. Soyez assuré de toute ma respectueuse reconnaissance. Je suis ravi de votre sensibilité et de votre humanité.

J'adresse mes sincères remerciements :

Au technicien Hicham

Pour votre aide précieuse dans l'explication des techniques utilisées au laboratoire de virologie et pour toute la courtoisie dont vous m'avez fait preuve.

A tout le personnel du laboratoire de Virologie de l'HMIMV de Rabat

Pour m'avoir donné un cadre adéquat de travail.

A l'Agence Marocaine de Coopération Internationale (AMCI)

Pour les efforts fournis afin de rendre agréable le passage des étudiants étrangers au Maroc.

Au Bureau des Bourses, des Etudes et Stages à Bujumbura (BBES)

Pour le soutien et l'accompagnement permanent aux boursiers étudiant à l'étranger. Vous faites un bon travail et vous me rendez la fierté d'être burundais.

A la Communauté des Etudiants Burundais au Maroc (CEBM) et particulièrement celle de Rabat

Vous constituez ma famille ici dans cette terre d'adoption et d'hospitalité. Pour la fraternité et l'épaulement dont vous m'avez témoigné dans moult occasions, je ne vous oublierai jamais.

A l'Union des Etudiants Rwandais au Maroc (UNERMA)

Nous nous sommes connus au Maroc nous étions des inconnus, aujourd'hui nous sommes des frères. Merci pour les bons moments partagés.

A tous mes amis d'ici et d'ailleurs

En fin, que la fameuse question : « quand est-ce que tu la soutiens cette thèse ? », trouve sa réponse. Loin d'être sources d'angoisse, vos interrogations m'ont permis d'aller au bout de ce travail.

Vos conseils et vos prières m'ont accompagné tous le temps de mon parcours. Je vous en remercie du fond de cœur

DEDICACES

A mes parents :

NGEZE François et MBONIHANKUYE-NDABATEYINZIGO Marcelline

Mes remerciements ne peuvent s'achever, sans une pensée pour ceux dont la présence est, du fond de mon âme, le pilier fondateur de ce que je peux prétendre de bon en moi, pour ce que je suis et ce que je fais.

Pour votre infaillible soutien, votre implication matérielle et moral, et votre enthousiasme contagieux à l'égard de vos enfants comme de la vie en générale ; à jamais vous êtes mon modèle.

Vous avez supporté mes écarts et en m'inspirant de vos personnes, vous avez contribué à l'aboutissement de ce travail. Tous fruits de ce travail sont les votres.

A mes sœurs et frère :

M. Patience, M. Trinité, M. Gloria, N. M. François et M. A. Gratia

J'ai été loin de vous ces dernières années, mais vous avez toujours été là. Pour tous les moments d'évasions et de bonheur que vous me procurez je vous dédie tendrement ce travail.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

LISTE DES ANNEXES

INTRODUCTION…… 1

PARTIE THEORIQUE

I Généralités sur le virus de l'immunodéficience humaine…….. 5
I -1- Historique…….…….... 7
I -2- Origines du VIH…….……. 8
I -3- Epidémiologie mondiale du VIH…..…….. 9
I -4- Epidémiologie du VIH au Maroc……. 11
I -5- Caractéristiques virologiques……..... 11
I -5-1- Classification…….…….... 11
I -5-2- Structure……..……... 13
I -5-3- Organisation génomique……..……..... 15
I -5-4- Variabilité génétique……..……..... 17
I -5-5- Cycle de réplication…….…….. 24
I -5-6- Physiopathologie……..... 29
I -6- Pouvoir pathogène du VIH……... 29
I -6.1- La primo-infection ou phase d'invasion ou phase aigüe…… 30
I -6.2- La phase asymptomatique ou chronique…….…….. 31
I -6.3- La phase SIDA……..……. 32
II- Classification clinique de l'infection……... 33
III- Diagnostic virologique……...……...…… 35
III-1- Diagnostique sérologique ou indirect……...……..... 35
III-1-1- Dépistage des anticorps…….……..... 35
III-8-1-1- ELISA……..…….……..... 35
III-8-1-2- Test de dépistage rapide……..…… 38
III-1-2- Test de confirmation par WESTERN BLOT……..……. 39
III-2- Diagnostique direct……..…… 44
III-2-1- L'antigénémie p24……..…….……..... 44
III-2-2- Détection de l'ARN Viral…….……...…. 45
III-2-2-1- Principe de la RT PCR…….....…. 46
III-2-2-2- Etapes de la RT PCR……..……..…….. 49
III-2-3- Isolement du virus en culture cellulaire……..... 51
III-3- Cas particulier du dépistage de l'infection du nouveau-né…….…….. 52

IV- Suivi virologique……..……. 53
IV-1- Mesure de la charge virale……..…... 54
IV-2- Mesure du taux de lymphocytes T CD4+……..…… 55
IV-3- Tests de résistance aux ARV……..…... 58
V- Thérapie antirétrovirale……..……..……..... 59

PARTIE PRATIQUE

I-Objectif de l'étude…….. 62
II-Patients et méthodes
II-1- Patients……..……..…… 64
II-2- Méthodes……..……..…… 64
II-2-1- Test de dépistage ……..……..... 66
II-2-2- Test de confirmation par Western Blot ……..……..... 68
II-2-3- Test de mesure de la charge virale par RT PCR……..……..... 71
II-2-4- Test de mesure du taux de CD4 par COULTER EPIC XLTM……..……..… 74

III- Résultats
III-1- Résultats obtenus…… 78
III-1-1- Caractéristiques anthropométriques des patients…….....…… 78
III-1-2- Résultats de la confirmation par Western Blot……..... 80
III-1-3- Résultats de la Charge virale……... 82
III-1-4- Résultats de la numération des CD4……..…… 82
III-2- Synthèse des résultats……..……. 83
III-3- Analyse statistique des résultats……..…… 92
III-3-1- Variabilité analytique des bandes positivées par rapport aux autres tests de diagnostic…….. 92
III-3-2- Analyse de la corrélation entre différents tests de diagnostic……..... 95

IV- Discussion
IV-1- Analyse des résultats du Western Blot……... 101
IV-2- Interdépendance de la réactivit des bandes, la Charge Virale, Nombre de CD4+ et le Stades Cliniques…… 105
IV-3- Forces, limites et perspectives de cette étude……..……... 109

V- Conclusion……... 111

REFERENCES……//……..... 112

ANNEXE……..…… 121

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Arbre phylogénétique des différents types de VIH et de SIV..... 7

Figure 2. Estimation mondiale par région de personnes vivant avec le VIH en 2009..... 9

Figure 3. Surveillance sentinelle du VIH au Maroc, 1993-2010..... 10

Figure 4. Structure du VIH-1..... 13

Figure 5. Organisation génomique du VIH-1 et VIH-2..... 15

Figure 6. La fusion membranaire entre le VIH-1 et la cellule cible..... 19

Figure 7. Cycle de réplication..... 22

Figure 8. Entrée et dissémination virale durant la transmission sexuelle du HIV-1..... 25

Figure 9. Histoire naturelle typique de l'infection du VIH..... 29

Figure 10. Tests de diagnostic pratiqués en fonction d'apparition de marqueurs du VIH ... 34

Figure 11. Différentes approches de diagnostic du VIH..... 34

Figure 12. Variantes de la technique de l'ELISA..... 36

Figure 13. Algorithme d'interprétation des tests de dépistage rapide du VIH..... 39

Figure 14. Etapes du Western Blot..... 41

Figure 15. Evolution des marqueurs virologiques du VIH et tests de diagnostic..... 45

Figure 16. Principe de la PCR..... 47

Figure 17. Principe « cycle seuil » de la PCR en temps réel..... 48

Figure 18. Rero-Transcription et Amplification au cours de la RT PCR..... 49

Figure 19. Détection grâce à la Sonde Taqman dans la technique de la RT PCR..... 51

Figure 20. Evolution de la charge virale et des lymphocytes TCD4+ au cours de l'infection du VIH-1..... 53

Figure 21. Principe de la Cytométrie en flux..... 57

Figure 22. Tests de résistances aux anti-rétroviraux..... 58

Figure 23. Cible des médicaments ARV..... 59

Figure 24. Algorithme de diagnostic du VIH à l' Laboratoire de virologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V de Rabat..... 65

Figure 25. Etapes de la technique ELISA réalisée sur l'automate BEP® 2000..... 67

Figure 26. Exemple de réactivité des bandelettes WB pour le VIH-1..... 70

Figure 27. Exemple d'une fiche logarithmique des résultats de la Charge virale VIH-1..... 74

Figure 28. Pourcentage des patients par catégorie d'âge..... 78

Figure 29. Pourcentage par origines des patients et proportions par type de VIH..... 79

Figure 30. Répartition des patients recrutés dans les différents services..... 79

Figure 31. Nombre de patients en fonction de profils WB..... 80

Figure 32. Nombre de cas en fonction des bandes positivées..... 81

Figure 33. Répartition des patients selon les intervalles de charge virale..... 82

Figure 34. Répartition des patients par tranche du taux de CD4/µl 83

Figure 35. Evolution du nombre de cas par profil WB en fonction de la catégorie de charge virale..... 84

Figure 36. Evolution de profils WB des patients en fonction de leurs nombre de CD4..... 86

Figure 37: Evolution des pourcentages des patients par catégorie de la charge virale en fonction du taux de CD4..... 89

Figure 38. Droite de régression dans la corrélation entre les Stades Cliniques et les CD4.... 95

Figure 39. Distribution des cas : PCR en fonction des CD4 (A) et PCR en fonction des Stades Cliniques (B)……. 96

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I. Produits d'expression des gènes de structure…….. 14

Tableau II. Classification de l'infection à VIH selon la symptomatologie…… 32

Tableau III. Classification de l'infection à VIH selon l'état immunologique (CDC1993) 33

Tableau IV. Différents critères pour l'interprétation du WB…….. 43

Tableau V. Profils WB rapportés à la charge virale…… 84

Tableau VI. Réactivité aux différents protéines des gènes en fonction de leur statuts WB et PCR…….. 85

Tableau VII. Résultats de WB rapportés aux tranches de CD4…… 86

Tableau VIII. Réactivité aux différents protéines des gènes en fonction de leur statuts WB et Nombre de CD4……... 87

Tableau IX. Profils Western Blot rapportés aux stades cliniques……... 88

Tableau X. Résultats Western Blot rapportées aux stades cliniques CDC93…….. 88

Tableau XI. Le nombre de cas par catégorie de CD4 en fonction de la charge virale.... 90

Tableau XII. Stades cliniques CDC93 rapportés aux tranches de charge virale..... 91

Tableau XIII. Taux de CD4 des patients rapportés aux stades cliniques CDC93..... 91

Tableau XIV. Variation des bandes réactives par rapport à la charge virale..... 92

Tableau XV. Variation des bandes réactives par rapport au statut immunitaire..... 93

Tableau XVI. Variation des bandes réactives par rapport aux Stades Cliniques..... 93

Tableau XVII. Variabilité des bandes positivées au Western Blot en fonction des paramètresbiologiques et cliniques..... 94

Tableau XVIII. La fréquence des bandes WB positivées rapportées à la charge virale et au nombre de CD4..... 105

Tableau XIX. Les bandes les moins fréquentes selon les trois stades cliniques des patients..... 106

LISTE DES ABREVIATIONS

- Ac : anticorps
- ADN : Acide Désoxyribonucléique
- ADNc : Acide Désoxyribonucléique complémentaire
- AES : accident d'exposition au sang
- Ag : antigéne
- ALT : Asymptomatics Long Time = sujets asymptomatiques à long terme
- ARN : Acide Ribonucléique
- ARNm : Acide Ribonucléique messager
- ARNp : Acide Ribonucléique polymérase
- ARNt : Acide Ribonucléique synthétase
- ARV : Antirétroviral
- ARS : Acute Retroviral Syndrome
- bDNA : ADN branché
- CCR5 : chimiokines C-C motif receptor 5
- CD4 : classe de différenciation des Lymphocyte T4
- CD8: classe de différenciation des Lymphocyte T8
- CDC: Centers for Disease Control and Prevention
- CRFs : Formes Circulantes Recombinantes
- CV : Charge Virale
- CXCR4 ; chimiokines CXC motif receptor 4
- DC-SIGN : récepteur de lectine de type c
- DO : Densité Optique
- ECP : effets cytopathiques
- EDTA : Ethylène Diamine Tétraacétique
- ELISA : Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
- env : enveloppe
- gag : groupe antigénique

- GP = Gp= gp : glycoprotéine
- HMIMV : Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V
- HIV : Humain Immuno Deficiency Virus
- HSH : Hommes ayant des rapports Sexuels avec des Hommes
- HTLV : human T leukemia lymphoma virus
- IB: Immuno Blot
- IDU=UDI : usagers de drogues injectables
- IF : inhibiteurs de fusion
- IFA : l'irmnunofluorescence Asssay
- IgG: immunoglobuline de type G
- Ig M: Immunoglobuline de type M
- INNTI : Inhibiteur Non Nucléotidique de la Transcriptase Inverse
- INTI : Inhibiteur Nucléotidique de la Transcriptase Inverse
- IP : Inhibiteur de la Protéase
- LAV : lymphadenomaty associated virus
- LIA: Line Immunoassay
- LTR: long terminal repeat
- NASBA: nucleic acid sequence based amplification
- nef : negative expression factor
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- ONUSIDA : Organisation des Nations Unies pour la lutte contre le SIDA
- p: protéines
- PBMC: peripheral blood mononuclear cells
- PC: profil complét
- PI: profil indétérminé
- PIC : Post-intregative complex
- PIC: profil incomplete
- pol : polymérase
- PS : professionnelles de sexe
- rev : regulateur

- RIPA : radioimmunoprécipitation assay
- PCR : Polymérase Chain Réaction
- RT-PCR : Reverse Transcriptase Polymérase Chain Réaction
- SIDA : Syndrome d'Immuno Déficience Acquis
- SIV: Simian Immunodeficiency Virus
- SIVcpzPtt : Simian Immunodeficiency Virus du chimpanzé Pan troglodytes troglodytes
- SIV_{gor}: Simian Immunodeficiency Virus du gorille
- SIVsmm : Simian Immunodeficiency Virus sooty mangabey
- TAR : Trans-Activating response Region
- TARV : Traitement Anti Retroviral
- tat : transactivateur
- TDR:Test de diagnostic rapide
- T CD4: lymphocytes T CD4
- T CD8 : lymphocytes T CD8
- TI = RT: transcriptase inverse (Fr) / reverse transcriptase (Eng)
- TNF: tumor necrosis factor
- vif : viral infectivity factor
- VIH : Virus de l'Immuno Déficience Humaine
- vpr : viral protein r
- vpu : viral protein u
- vpx : viral protein x
- WB : Western Blot

LISTE DES ANNEXES

Annexe I. Fréquence en pourcentage des bandes positivées au test WB

Annexe II. Bandes positivées au WB rapportées aux catégories de charge virale

Annexe III. Bandes positivées au WB rapportées au nombre de CD4

Annexe IV. Fiches techniques des kits et appareils utilisés dans l'étude

Annexe V. Antirétroviraux commercialisés en janvier 2010

Introduction

INTRODUCTION

L'épidémie mondiale de l'infection au Virus d'Immunodéficience Humaine (VIH) compte à ce jour plus de 33 millions de personnes infectées dans le monde et causant 5700 décès par jour. La majorité de ces infections vivent en Afrique subsaharienne où les moyens socio-économiques ne permettent pas d'y faire face efficacement.

Au Maroc on estime à plus de 25 000 personnes vivant avec le VIH et certaines données suggèrent la possibilité d'une épidémie concentrée parmi les populations les plus exposées.

Le dépistage de l'infection par la recherche des anticorps VIH revêt une importance capitale pour la prévention et aussi le traitement de cette épidémie VIH/SIDA. A titre d'exemple, un schéma de thérapie antivirale de courte durée administré aux femmes enceintes séropositives réduit le taux de transmission mère-enfant du VIH-1 de 38% à 50%. Le cotrimozaxole administré dans le cadre d'une thérapie antituberculeuse standard réduit de 40 à 45% la mortalité et la morbidité chez les tuberculeux infectés par le VIH. Pour que les personnes atteintes d'une infection à VIH puissent bénéficier de ces thérapies, il faut qu'elles soient bien diagnostiquées.

Le diagnostic sérologique de l'infection à VIH repose sur un algorithme à tests multiples destinés à détecter les anticorps anti-VIH. Les tests de dépistage fournissent une identification présomptive des échantillons contenant des anticorps contre le VIH. Ces tests immuno-enzymatiques (TIE) sont choisis pour leur accessibilité et leur sensibilité en matière de détection des anticorps anti-VIH. Des tests complémentaires ou de confirmation, tels que Western blot (WB), sont utilisés pour confirmer l'infection dans des échantillons qui présentent une réaction positive. Une fois l'infection confirmée, la prise en charge des patients et leur suivi font appel à des tests plus sophistiqués, notamment la PCR en temps réel et la détermination des génotypes de résistance. L'utilisation de ces tests de dernière génération nécessite un personnel qualifié et des équipements très coûteux, rarement disponibles ou accessibles dans les pays à ressources limitées à l'exemple des pays africains subsahariens.

Entre l'intérêt de ces tests performants, pour un meilleur suivi des patients, et les difficultés d'accessibilité, nous nous sommes proposé d'étudier le caractère d'interprétabilité interdépendante entre les différents tests de diagnostics du VIH et d'en déterminer la valeur

prédictive qu'un test facilement réalisable aurait sur les paramètres des autres tests en cas de leur inaccessibilité pour le suivi des patients séropositifs dans ce contexte de moyens limités.

Ainsi, nous avons mené une étude rétrospective dans le laboratoire de virologie de l'HMIMV de Rabat dont le recrutement des patients est très diversifié, d'une part, des différentes régions du Maroc, et d'autre part, des pays du continent Africain.

Notre étude prend en compte, d'une manière générale, les différents types d'examens utilisés en routine pour le diagnostic et le suivi du VIH, et qui sont recommandés par l'OMS, à savoir le dépistage de l'infection, la confirmation de la positivité sérologique, le suivi de la charge virale, la numération des CD4; en complément de l'évaluation clinique du patient.

Enfin cette étude permettra de matérialiser concrètement la variabilité du spectre de bandes positivées par la technique Western Blot et d'en interpréter la significativité par rapport aux résultats des différents paramètres biologiques et cliniques liés à l'infection au VIH.

Partie :

Rappels et Généralités

I. GENERALITES SUR LE VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE

I.1- Historique

1930 : Apparition supposée du HIV-1, d'après « l'horloge moléculaire », par passage à l'homme d'un virus de l'immunodéficience simienne du chimpanzé (SIV_{cpz}) [72].

1959 : La plus ancienne souche caractérisée rétrospectivement par PCR sur du matériel anatomique conservé remonte à cette année

1981 : Le « gay syndrome », appelé ainsi car découvert dans la communauté homosexuelle aux USA est décrite pour la première fois. Il se réduit par une immunodéficience sévère accompagnée d'une pneumonie rare due au Pneumocisis carinii[50]

1982 : Des chercheurs français cherchent à mettre en évidence la présence d'une activité de la transcriptase inverse et observent pour la première fois l'effet cytopathogène du virus dans les cellules ganglionnaires en culture[14].
Dans un premier temps, aux USA, l'équipe du Pr Gallo pense que le virus responsable du SIDA serait un mutant ou un variant du HTLV-1 (Gallo et al., 1983).

1983 : Le virus est isolé et les premières preuves qu'il s'agisse d'un rétrovirus différent des HTLV 1 et 2 sont apportées puis baptisé LAV (Lymphoadenopathy Associed Virus) en 1983, grâce à Françoise BARRÉ-SINOUSSI, à Jean-Claude CHERMANN et à leurs Collègues Cliniciens, Virologues et Immunologistes œuvrant autour de Luc MONTAGNIER de l'Institut Pasteur.

1984 : Mise au point des tests immuno-enzymatiques pour la détection des anticorps anti-VIH-l[22,23].
Le virus « découvert » par Robert GALLO, qu'il baptisa HTLV-III, n'était autre que cette même souche, reçue de L. MONTAGNIER[14].

1985 : Le LAV est séquencé (Wain-Hobson et al., 1985).
Le premier test de dépistage est commercialisé et est rendu obligatoire chez les donneurs de sang, d'organes, ou de sperme[22, 24]. Il s'agit de la technique ELISA 1ère génération[40].

1986 : Un deuxième type du HIV est découvert en France chez patient en provenance du Cap-Vert par une équipe sous la direction de Françoise BRUN-VÉZINET, et

caractérisé comme HIV-2 par François CLAVEL de l'Institut Pasteur, en raison de différences sensibles dans la structure du virus[49].
Homogénéisation entre différentes équipes qui travaillent sur le même sujet mais publient sous des noms différents (LAV, HTLV-III, ARS).

1987 : La séquence du VIH-2 est publiée (Franchini et al 1987) et son test de dépistage est commercialisé par l'Institut Pasteur. Il s'agit de l'ELISA 2ème génération[22, 40].

1988 : A partir de 1988, sont apparues des techniques de dépistages alternatives aux ELISA mixtes anti-VIH : le dosage par agglutination et l'immunorévélation sur support solide (dotblot) [28].

1989 : La technique ELISA type Sandwich est mise au point. Il s'agit de l'ELISA 3ème génération[40]

1990 : Découverte du groupe O du VIH-1

1993 : Classification cliniques de l'infection à VIH CDC/OMS[88]

1995 : L'existence des réservoirs latents dans les cellules TCD4+ est mise en évidence in vivo (Chun et al., 1995).

1996 : La présence obligatoire des co-récepteurs CCR5 dans l'infection des VIH est découverte[2]

1997 : La technique ELISA dite combinée (Ag/Ac) est mise au point. C'est l'ELISA 4ème génération[22].

2000 : Standardisation à l'échelle de toute l'Union Européenne de l'utilisation systématique de la technique l'ELISA 4ème génération lors du dépistage[46]

2009 : Découverte et caractérisation d'un quatrième groupe du VIH-1, le groupe P[51].

2010 : Révision des outils statistiques utilisés par l'OMS qui réévalue en même temps la proportion estimative de la population mondiale séropositive effective à la baisse[42].

I.2- Origines du VIH

La plus ancienne souche du VIH caractérisée rétrospectivement par PCR a été trouvée sur des échantillons sanguins provenant de l'Afrique centrale en 1959. Des chercheurs ont retracé l'origine du virus du SIDA en isolant, chez deux espèces de singes africains, deux souches de virus distinctes qui se sont combinées chez les chimpanzés pour former le VIH qui infecte les humains depuis les années 1930[68].

Des virus apparentés appelés Simian Immunodeficiency Virus (SIV) ont été détectés chez plus d'une trentaine d'espèces de singes en Afrique[71,72].

Le SIVcpzPtt (chimpanzés Pan troglodytes troglodytes), à l'origine du VIH-1 des groupes M et N, est toujours présent dans les populations de chimpanzés Pan troglodytes troglodytes du Sud-Cameroun.

L'énigme du réservoir du VIH-1 groupe O a été levée quelques mois après la découverte de celui des souches M et N et résulte d'une transmission entre chimpanzé et gorille de l'Ouest du Cameroun[73].

Le quatrième groupe P, le dernier avoir été découvert, en 2009, est proche du SIV infectant le gorille (SIV_{gor})[51].

Quant au VIH-2, au moins huit transmissions inter-espèces de SIVsmm (sooty mangabey) ont eu lieu entre l'homme et le mangabey enfumé, correspondant aux huit groupes HIV-2[75].

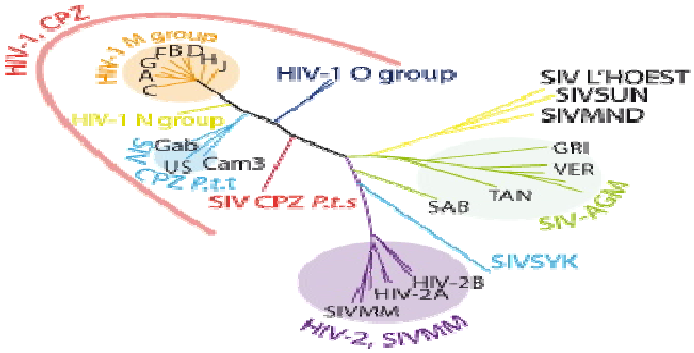


Figure 1. Arbre phylogénétique des différents types de VIH et de SIV[89]

La transmission du singe à l'homme s'est probablement produite au contact du sang des singes au cours de braconnage au moment de dépeçage et de la consommation de la viande. Puis, avec la multiplication des échanges entre les villes devenues mégalopoles et les villages reculés, les mouvements de populations ont augmenté et ainsi ont contribué à la propagation de la pandémie à l'échelle mondiale[74].

I.3- Epidémiologie mondiale du VIH

Le nombre de personnes vivantes avec le VIH dans le monde n'a jamais été aussi élevé que dans ce début du XXIème siècle tout comme le nombre de décès[42.]

En décembre 2010, *Le point sur l'épidémie de SIDA OMS/ONUSIDA,* estimait à 32,8 millions le nombre de personnes séropositives dans le monde. Cela à cause d'un relâchement au niveau de la prévention, compte tenu de la disponibilité des thérapies antirétrovirales.

Il a été constaté néanmoins que le nombre de décès annuels liés au SIDA diminue régulièrement à travers le monde[3] d'un pic de 2,1 millions en 2004 à un chiffre estimé à 1,8 million en 2009, soit 5700 décès par jour. Cela grâce à l'amélioration des traitements antirétroviraux, des soins et de l'appui pour les personnes vivant avec le VIH, notamment dans les pays en voie de développement. Ainsi que d'une diminution de l'incidence notée depuis la fin des années 1990.

L'Afrique subsaharienne étant la région la plus touchée avec ses 22.5 millions de cas soit environ 68% de personnes avec VIH de par le monde et de 1.3 millions de décès par an.

En 2009, on estimait à 2,6 millions[3] le nombre annuel de personnes nouvellement infectées par le VIH soit 6 800 nouveaux cas par jour; toutes fois inférieur aux 3,2 millions en 1997, année où le nombre de nouvelles infections a atteint son pic.

Plus de la moitié du nombre total de personnes vivant avec le VIH au monde étant des femmes. La proportion de femmes séropositives, néanmoins, s'est stabilisée ces dernières années à environ 52 %.

Dans de nombreuses régions du monde, les nouvelles infections au VIH sont largement limitées aux jeunes dans la tranche d'âge de 15-24 ans soit 40%.

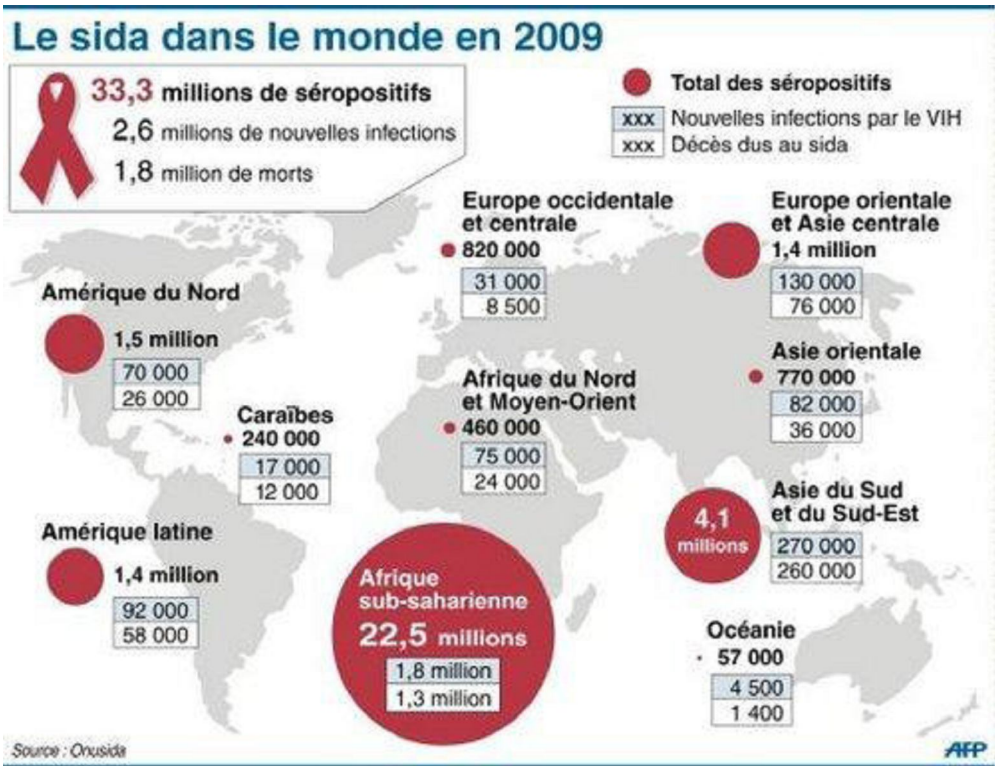


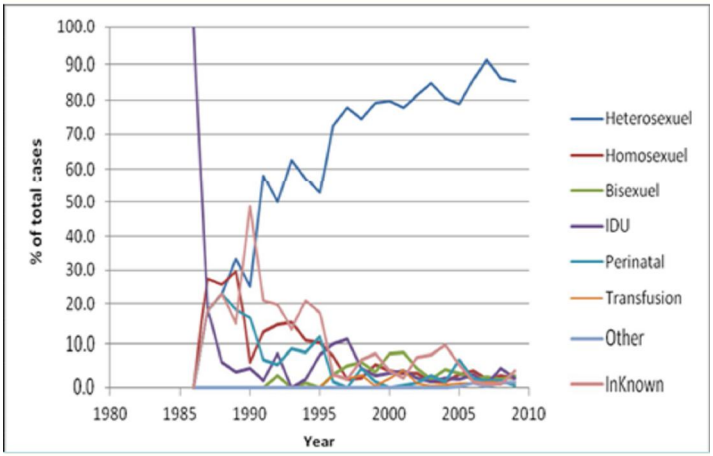
Figure 2. Estimation mondiale par région de personnes vivant avec le VIH en 2009[42]

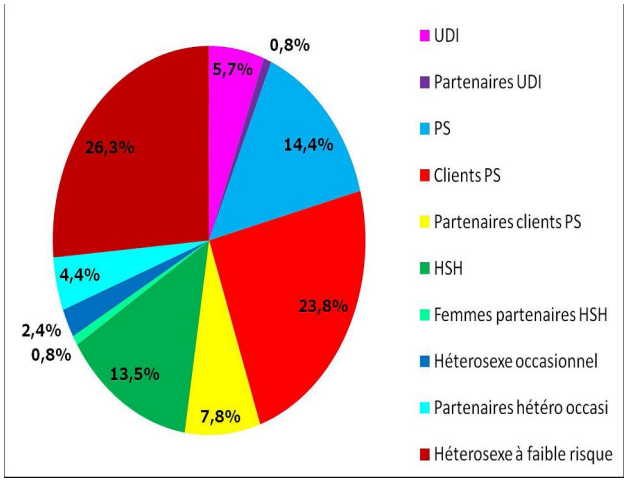
I.4- Epidémiologie du VIH au Maroc

Au Maroc on a notifié le premier cas de VIH en 1986 et depuis le nombre de cas est en nette progression. En Décembre 2009, le Maroc comptait 3303 personnes séropositives officiellement déclarés mais on estimait à plus de 25 000 personnes vivant avec le VIH[42,43 ,45]. Les tranches les plus concernées sont celles des adultes jeunes, respectivement : 15 à 24 ans (8% des cas), 25 à 29 ans (15%), 30 à 34 ans (23%), 35 à 39 ans (18%) et les >40 (28%).

Si la part des femmes ne représentait qu'environ 18% entre 1986 et 1990, elle est de 40% entre 2004 et 2008. Cette progression s'expliquant par le multi- partenariat sexuel actuellement retrouvé dans 76% des cas et le conjoint atteint dans 11% des cas (6% des cas chez l'homme et 19% des cas chez la femme)[43].

La prévalence du VIH par groupe de population surveillé et par mode de transmission *(Fig. 3)* montre les taux les plus élevés chez les HSH (hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes) 4,4%, chez les professionnelles du sexe 2,1%, chez les CDI[45] (consommateurs de drogues injectables) 1,6%, mais le mode de transmission reste largement prédominé par la seule voie hétérosexuelle, près de 87%.





A. Prévalence du VIH par groupe de population surveillé

B. Répartition de nouveaux cas par mode d'exposition

Figure 3. Surveillance sentinelle du VIH au Maroc, 1993-2010 Ministère de la Santé, 2010[45]

IDU=UDI : usagers de drogues injectables
PS : professionnelles de sexe
HSH : Hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes

Géographiquement, le SIDA au Maroc se focalise dans cinq régions sur les seize que compte le Royaume. Ces régions englobent presque les deux tiers des cas déclarés. Il s'agit en premier lieu de Souss Massa Drâa (22% des cas), Marrakech Tensift Al Haouz (16% des cas), le Grand Casablanca (14% des cas), Doukkala Abda (8% des cas) et Rabat Salé Zemmour Zaers (7% des cas). Cependant, la proportion des cas de nationalité marocaine étant de 95%, la majorité d'entre eux réside en milieu urbain (83%)[45].

I.5- Caractéristiques virologiques

I.5.1- Classification

Les virus de l'immunodéficience humaine VIH appartiennent à la famille des Retroviridae (responsables de leucémies, lymphomes et sarcomes pour les diverses espèces animales) [1, 26, 46]. Les rétrovirus sont caractérisés par une enzyme appelée la transcriptase inverse : TI ou *reverse transcriptase : RT en anglais*, et sont classés selon des critères morphologiques et/ou phylogénétiques en trois sous familles ou genre[68] :

-Les spumavirus sont les moins bien caractérisés.

-Les oncovirus, rétrovirus les plus anciennement connus, sont actuellement subdivisés en cinq groupes en fonction des espèces atteintes et de l'existence ou non d'oncogènes. Par exemple de HTLV-I et HTLV-II (human T leukemia lymphoma virus) identifiés chez l'homme en 1980.

-Les lentivirus sont impliqués dans des maladies non tumorales et à évolution trop lentes (conséquence de leur période d'incubation très longue). Le VIH appartient à ce dernier genre[3].

I.5.2- Structure

En microscopie électronique le VIH présente les caractéristiques morphologiques des lentivirus[1, 25, 26] :

-une enveloppe avec des spicules.

-un core excentré tronculaire et formé du génome et de trois protéines.

-un génome fait de deux molécules d'acide ribonucléique (ARN) simple brin

-une enzyme caractéristique de leur mode de réplication : la reverse transcriptase (RT), qui rétrotranscrit le génome à ARN en un ADN simple brin, puis double brin appelé «ADN proviral», qui s'intègre dans l'ADN de la cellule hôte.

En prenant exemple du VIH-1, il s'agit de particule de 80-120 nm de diamètre[68] faite de l'extérieur vers l'intérieur (*Fig. 4)* :

a) Enveloppe ou péplos

C'est une enveloppe membranaire dont la bicouche lipidique provient de la membrane cytoplasmique de la cellule hôte. Elle se trouve hérissée de spicules glycoprotéiques comportant une partie interne, la gp41 ou glycoprotéine transmembranaire (TM) de poids moléculaires 41 kd et une partie externe, la gp120 (SU pour surface) de 120 kd. C'est grâce à ces glycoprotéines que le Virus pourra se lier à la membrane de la cellule à infecter puis fusionner et en fin déverser son contenu à l'intérieur de la cellule[2].

b) Matrice

La face interne de l'enveloppe est tapissée d'une matrice protéique faite de la protéine p17 (MA) nécessaire à l'import cellulaire et l'incorporation des glycoprotéines gp120 et gp41 dans l'enveloppe des virions matures[2].

c) Capside

La capside virale en forme de cône tronqué est faite de la protéine p24 (CA). À l'intérieur se trouve l'ARN, entouré de la protéine de nucléocapside (NC).

d) Nucléocapside

La nucléocapside est faite des protéines p7 avec les deux brins d'ARN monocaténaires. Le rôle de ces protéines est de réunir les deux brins d'ARN et de les protéger contre l'activité des enzymes cellulaires. Elles sont également essentielles lors de l'assemblage des protéines virales.

e) Les protéines encapsidées

La transcriptase inverse : TI ou rétro-transcriptase : RT (p66 et p51), qui intervient en début de cycle viral, est à l'intérieur de la nucléocapside. L'intégrase (IN) : est faite de la protéine p32, qui est enzyme nécessaire à l'intégration de l'ADN proviral dans l'ADN cellulaire. La protéase (Prot) : p11.

Il y a aussi la protéine p6, les peptides p1 et p2 dites accessoires Vprn Vif et Nef ; et les molécules de la cellule hôte d'origine de la particule virale (ARNt synthétase, actine, ARNt lys, cyclophiline A, Ubiquitine, …)

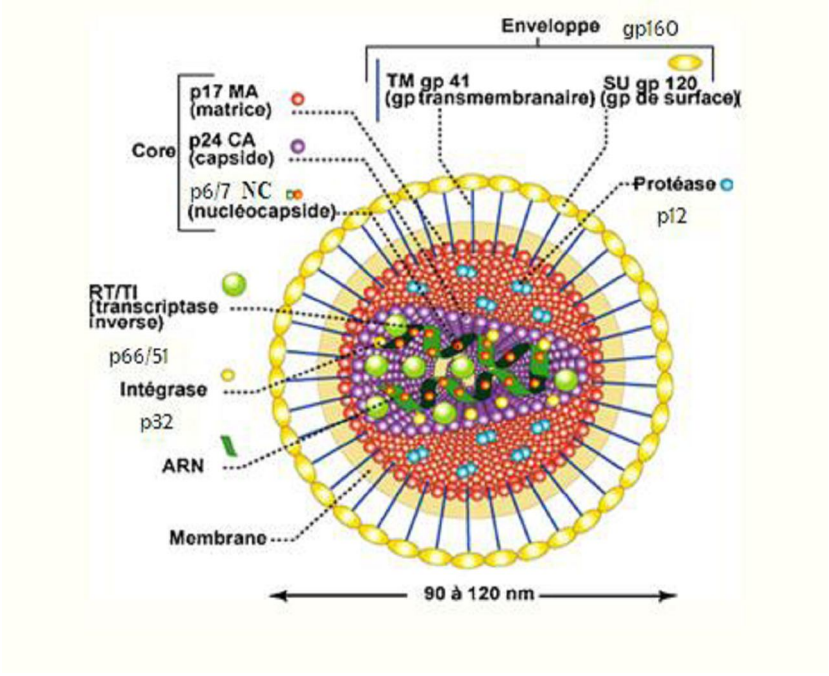


Figure 4. Structure du VIH-1 Traité de virologie médicale, Pr J.-M. Huraux.

I.5.3- Organisation génomique

Le génome viral se trouve en deux exemplaires homologues d'ARN (+), d'une longueur d'environ 9,6 kilobases pour chaque brin, que l'on analyse ici sous forme d'ADN proviral comporte[1, 3,25, 46] :

- trois gènes dits de structure car codant pour les protéines de structure (*gag*, *pol* et *env*)
- six gènes dits de régulation car codant pour des protéines régulatrices (*tat*, *rev)* et les protéines dites auxiliaires (Vpr, Vif, Vpu, Nef) [68].

L'ARN viral est flanqué de chaque côté par des séquences longues et répétées appelées long terminal repeat (LTR) non codantes mais qui jouent un rôle essentiel dans l'intégration du virus et sa transcription. De l'extrémité 5' vers l'extrémité 3', on distingue ainsi les gènes gag, pol et env, codant respectivement pour les protéines internes, les enzymes virales (protéase, transcriptase inverse et intégrase) et les glycoprotéines d'enveloppe *(Tab. 1)*.

Tableau I. Exemples de produits d'expression des gènes de structure[28]

Gènes rétroviraux	Protéines produites	Fonction de chaque protéine
GAG (groupe antigèniques) codant pour les protéines de la nucléocapside	p17 ou p18	forme la couche protéique externe du core = matrice
	p24 ou p25	forme la couche interne du core
	p55	composant du core
	p40 ou p39	composant du core
	p9	composant de l'ARN viral
	p7	se lie directement à l'ARN viral
ENV (Enveloppe) codant pour les glycoprotéines de l'enveloppe	gp160	précurseur des glycoprotéines gp120 et gp 41
	gp120	elle saillie au niveau de l'enveloppe et se lie au CD4
	gp41	protéine membranaire associée à la gp120 nécessaire à la fusion
POL (Polymèrase) codant pour des enzymes	p66 ou p64	elle a une activité de transcriptase inverse et une activité ARNase
	p52 ou p51	elle a une activité de transcriptase inverse
	p11 ou p10	protéase qui clive le précurseur (gp160) des protéines codées par le gène gag (gp120 et gp41)
	p32 ou p31	Intégrase

Ce qui caractérise le génome du VIH, c'est son grand nombre de gènes régulateurs, codant pour des protéines qui régulent la réplication virale dans les cellules infectées. Ces gènes régulateurs sont responsables de la complexité de l'organisation génétique du VIH. Il faut citer les gènes transactivateur (tat), negative expression factor (nef), regulateur (rev), viral infectivity factor (vif), viral protein r (vpr) et viral protein u (vpu) pour le VIH-1 et viral protein x (vpx) pour le VIH-2 *(Fig. 5)*.

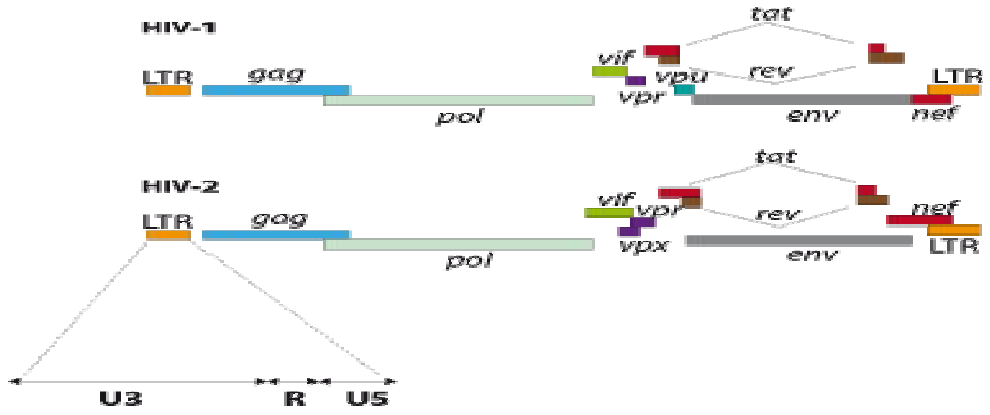


Figure 5. Organisation génomique du VIH-1 et VIH-2 [1]

Organisation génomique du virus de l'immunodéficience humaine sous sa forme d'acide désoxyribonucléique (ADN) proviral intégré dans le génome cellulaire.
gp : glycoprotéine, LTR : long terminal repeat, vif : viral infectivity factor ; vpu : viral protein u ; tat : transactivateur ; rev : régulateur.

I.5.4- Variabilité génétique

Le VIH est un virus qui a une très importante variabilité génétique et présente ainsi une très grande diversité[1, 6, 7, 8].

Deux types ont été découverts :

- VIH-1, avec 30 millions de personnes infectées, il est le plus présent dans le monde
- VIH-2, moins contagieux que VIH-1, il sévit principalement en Afrique de l'Ouest. Il comprend le VIH-2A et le VIH-2B.

L'homologie entre le VIH-1 et le VIH-2 au niveau génomique est de l'ordre de 50-60%[76]. Le génome de VIH-2 contient le gène vpx à la place du gène vpu présent chez le VIH-1.

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

Depuis 1998, le VIH-1 est classé en trois groupes auquel s'ajoute un quatrième découvert en 2009 :

- groupe M (pour *major group*)
- groupe N (pour *non-M, non-O group*)
- groupe O (pour *outlier group*)
- groupe P[51]

Le groupe M, comprend neuf sous-types ou clades A à K auxquels s'ajoutent des formes recombinantes (en anglais *circulating recombinant form* ou CRF) responsable de la multiplicité de l'infection d'une même cellule par des sous-types différents ce qui entraîne des mélanges dans le génome viral aboutissant à ces formes recombinantes (mosaïques A/E, B/C, A/G par exemple) [68]. Le groupe M est le plus important en nombre de personnes contaminées mais également le plus répandu à l'échelle mondiale alors que les autres groupes sont majoritairement basés en Afrique. Le sous-type ou clade B est le plus répandu dans les pays occidentaux (Europe, Amériques du Nord) et l'Australie.
Le groupe O (pour *outlier*) comporte un génome très différent des sous-types du groupe M, rares et surtout localisés en Afrique de l'Ouest et Centrale, au Cameroun notamment[52].

L'HIV-2, qui a pour particularité d'être, de par son origine, localisé à la partie Ouest de l'Afrique noire, d'avoir un potentiel épidémique moindre que l'HIV-1 et d'évoluer plus lentement vers le SIDA, est plus proche du virus de l'immunodéficience du singe (SIV) que ne l'est l'HIV-1[68].
Des études de cohortes au Sénégal suggèrent que le risque de transmission sexuelle du VIH-2 est cinq à neuf fois plus bas que celui du VIH-1.
La transmission du VIH-2 de la mère à l'enfant est significativement moindre que celle du VIH-1. Enfin, chez les sujets infectés, le taux de progression vers le SIDA est plus faible que lors de l'infection à VIH-1[77, 78].
Il existe des réactions antigéniques croisées entre les 2 types du HIV, notamment pour la protéine de capside, p24 pour l'HIV-1 et p26 pour l'HIV-2, mais pas pour l'enveloppe, gp120 et gp 41 ce qui causent des problèmes certains d'interprétation des résultats des tests de VIH.

Des études ont montré que la variabilité génétique du VIH, due entre autre à sa dynamique de réplication, est plus élevée et plus prolongée que dans les infections par d'autres virus à ARN (grippe ou poliovirus par exemple). En effet, dans un seul organisme infecté, il y a plusieurs variantes génétiques présentes sous forme de « microvariants », représentant ainsi une quasi-espèce virale (*quasispecies* en anglais).

Cette variabilité est liée[1]

-aux erreurs que fait la RT, une enzyme ne possédant pas de mécanisme de détection des erreurs de transcription. Le taux de mutation a été estimé à 1 pour 10 000 ou 100 000 bases par cycle de réplication soit 10 mutations par cycle ce qui donne la production, dans l'organisme, d'un nombre important de virus, évaluée à 1000 virions par jour

-aux phénomènes de recombinaison génétique, par échange de matériel génétique entre deux molécules d'ARN au moment de la rétrotranscription. Le taux global de changement par an est estimé à 1 % pour le gène *env* et 0,5 % pour le gène *gag et pol.*

La conséquence de cette variabilité génétique, quoi que sans impact significatif sur la pathogénicité ni la progression de l'infection, est matérialisée par les échecs à répétition lors de la mise au point de vaccins efficaces sur tous les groupes et souches du VIH, par la difficulté de la mesure de la charge virale pour certains groupes du VIH et de la mise au point de tests de diagnostic dans certains cas particuliers : par exemple les tests de dépistage basés sur des antigènes du VIH-1 de sous-type B et du VIH-2 de sous-type A, présentent une sensibilité moindre pour la reconnaissance des autres sous-types, particulièrement lors de la primo-infection ou d'une infection par des variants comme le VIH-1 du groupe O. Elle est aussi responsable de l'émergence des résistances aux antirétroviraux[100].

I.5.5- Cycle de réplication

Le cycle de réplication du virus peut être divisé en deux étapes[1, 4]. La première phase dite pré-intégrative, qui commence par l'attachement du VIH à la cellule et se termine juste avant l'intégration de l'ADN proviral dans le génome cellulaire, s'effectue uniquement par les enzymes virales, sans expression des gènes viraux ni intervention de mécanismes cellulaires. Il s'agit de l'attachement, fusion-lyse et décapsidation ; et d'une deuxième phase dite post-transcriptive, qui comprend la synthèse et la maturation de nouveaux virions, régulée à la fois par des mécanismes cellulaires et viraux *(Fig. 7)*.

I.5.5.1- La phase pré-intégrative

I.5.5.1.1- L'attachement et l'entrée du virus

L'attachement est dû à une interaction très forte entre, du côté viral, la gp120 et, du côté cellulaire, le récepteur cellulaire CD4 (molécules d'un poids moléculaire de 55 000 Da, appartient à la famille des immunoglobulines (Ig) avec quatre boucles extracellulaires) Cette interaction gp120-CD4 est catalysée par un corécepteur, qui est une protéine à la surface de la cellule, types chimiokines, « faufilée » dans la membrane cytoplasmique[2, 46].

Les deux premiers corécepteurs à avoir été identifiés[53] sont :
- CCR5 (récepteurs naturels des chimiokines RANTES, MIP-1a et MIP-1b) sur les monocytes-macrophages infectables par les souches monocytotropes (M-tropes) également appelés R5, souches généralement observés au début de l'infection se répliquent dans les macrophages et les cellules CD4 primaires (mais pas dans les lignées cellulaires)
-CXCR4 (récepteur de la chimiokine SDF1) sur les lymphocytes T infectables par les souches lymphotropes (L-tropes) dites X4, souches qui émergent tardivement au cours de l'infection virale et se répliquent à la fois dans les cellules T primaires ainsi que dans les lignées cellulaires T (in vitro). Leur apparition est associée à une augmentation de la charge virale et laisse présager l'évolution de la maladie vers le stade SIDA[2, 70].

I.5.5.1.2- Fusion-Lyse

Après fixation du Virus à la cellule cible, les interactions gp120-CD4 induisent un changement conformationnel de la gp120 ce qui permet un déplacement du site de liaison vers le co-récepteur CCR5 ou CXCR4 en fonction du type de cellule infectée et conduit à un dégagement puis raccourcissement de la gp 41 (par repliement sur elle-même) entraînant le contact entre enveloppe virale et membrane cytoplasmique avec un phénomène de fusion-lyse qui crée un trou (pore) à travers lequel la capside virale est introduit avec son contenu dans le cytoplasme. La capside est à ce moment dépouillée de sa couverture en bicouche lipidique ou péplos. Ainsi, la gp120 est responsable de l'attachement, et la gp41 de la fusion-lyse[2, 68, 69] *(Fig. 6)*.

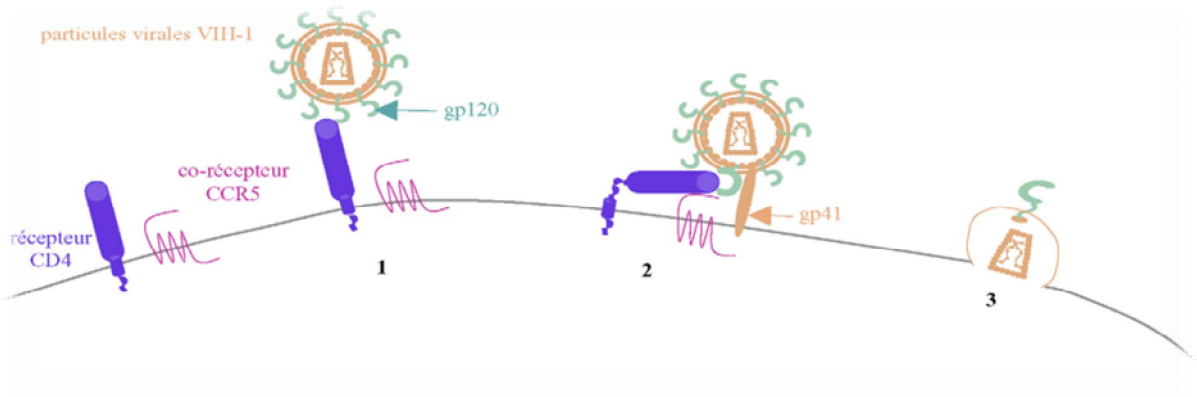


Figure 6. La fusion membranaire entre le VIH-1 et la cellule cible[68]

1 : liaison de la gp120 au récepteur CD4 induisant le démasquage des sites de fixation au co-récepteur, principalement le CCR5
2 : liaison au CCR5 induisant un changement de conformation de la gp41 qui s'ancre dans la membrane cellulaire
3 : fusion et initiation de l'infection de la cellule cible

I.5.5.1.3- Décapsidation

Dans le cytoplasme, la capside se désagrège et libère le génome. La décapsidation est un des phénomènes dynamiques du processus de multiplication virale, donc difficiles à étudier et relativement mal connus[1].

Les dernières études tendent à montrer que la décapsidation aurait lieu après la synthèse de l'ADN viral, une fois le complexe de pré-intégration à proximité des pores nucléaires ; et non avant la retro-transcription comme l'était suggéré depuis des années. En effet la capside intact a été visualisée in vivo après l'entré virale jusqu'à ce que elle atteigne les pores nucléaires.

I.5.5.1.4- La rétrotranscription

Elle va permettre la production d'un ADN double brin encadré par les 2 séquences de LTR et cela se fait grâce à la transcriptase inverse = reverse transcriptase (RT), une enzyme infidèle. Elle procède à 3 opérations complexes : la duplication de cet ARN, l'hydrolyse de la matrice d'ARN et les opérations de transfert d'ADN, notamment pour produire les deux LTR[1, 46].

Le complexe de retro-transcription formé des deux brins d'ARN viral encore associés à des protéines de capside (en particulier p15, p32, p66, p51 ainsi que l'ARNtlys, les protéines de la nucléocapside,…) est transporté jusqu'à la surface cellulaire. C'est là qu'est synthétisé, en début de cycle, avec comme matrice l'ARN génomique, l'ADN proviral ou ADN complémentaire (ADNc) par la RT (ADN polymérase ARN dépendante).
L'activité polymérase permet la formation, en aval de la séquence déjà retrotranscrite, de la suite de l'ADNc. La RT est également responsable de la destruction progressive du rétrotranscrit (ARN viral) grâce à sa fonction RNase H[46].

La RT, qui est aussi une ADN polymérase ADN dépendante, copie l'ADN viral monocaténaire en ADN double brin qui passe dans le noyau de la cellule. Il est à ce moment intégré dans un complexe multi-protéique de pré-intégration avec la p17, p32, p66, p51 ainsi que les protéines de la nucléocapside et la Vpr. La Vpr par exemple qui sert à l'entrée du PIC dans le noyau en provoquant des cassures de l'enveloppe nucléaire.
Le PIC est donc nécessaire au transport de l'ADN double brin vers le noyau et son intégration dans l'ADN de la cellule hôte grâce à l'intégrase virale.

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. Et comme la RT n'a pas de mécanisme de correction, il faut s'attendre à au moins une mutation à chaque cycle viral. Il en résulte que la population virale est un mélange en équilibre instable de virus génétiquement différents mais voisins : on parle de quasi-espèce, d'où vont émerger les variants antigéniques et les mutants résistants aux antiviraux.

I.5.5.2- La phase post-intégrative

I.5.5.2.1- Transcription

Après intégration de l'ADN proviral dans l'ADN cellulaire, la transcription du génome viral en ARN messagers (ARNm) s'effectue par l'ARN polymérase II cellulaire à partir du LTR 5' où se trouve le promoteur. Elle se déroule en deux phases : dans un premier temps celle-ci

dépend des facteurs cellulaires uniquement puis dans un deuxième temps le facteur viral Tat vient transactiver le phénomène[89].

Le transcrit primaire alors obtenu va servir soit d'ARN messager (ARNm) après diverses étapes d'excisions et d'épissages, ou bien d'ARN génomique qui sera intégré dans de nouvelles particules virales nouvellement formées.

I.5.5.2.2- Traduction

Les premiers ARNm transcrits, doublement épissés (environ 2 kilobases) codent pour les gènes régulateurs et en particulier les gènes *tat*, *rev* et *nef* :

- la réplication virale en interagissant avec l'ARNm de la région TAR
- *nef* régule négativement la réplication virale en interagissant avec des séquences régulatrices négatives
-rev favorise le transport des ARNm codant pour les protéines de structures du noyau vers le cytoplasme et ainsi donc déclenche la deuxième étape de la phase post-intégrative, l'étape de la formation des protéines virales de structure[3].

Après, apparaissent des ARNm plus longs codant pour les protéines de structure :*gag*, *pol*, *env*, *vif*, *vpr*, *vpu* (ou *vpx*)[89].

I.5.5.2.3- La maturation

A la fin de la synthèse des protéines virales il s'en suit l'encapSIDAtion et la dimérisation de l'ARN viral. Finalement, les virions sortent de la cellule par bourgeonnement, sous une forme immature (action due à la présence de la protéine vpu et vif).

La maturation extracellulaire est liée à l'action de la protéase virale. C'est l'étape critique qui rend les virions infectieux. Elle fait intervenir les protéases virales qui vont cliver les précurseurs protéiques. Après clivage successifs, les protéines de matrice forment la couche qui tapisse la face interne de l'enveloppe externe de virus, et les protéines de capside se condensent pour former la capside mature entourant la nucléocapside et l'ARN viral. A ce stade, les virions sont matures et capables d'infecter d'autres cellules.

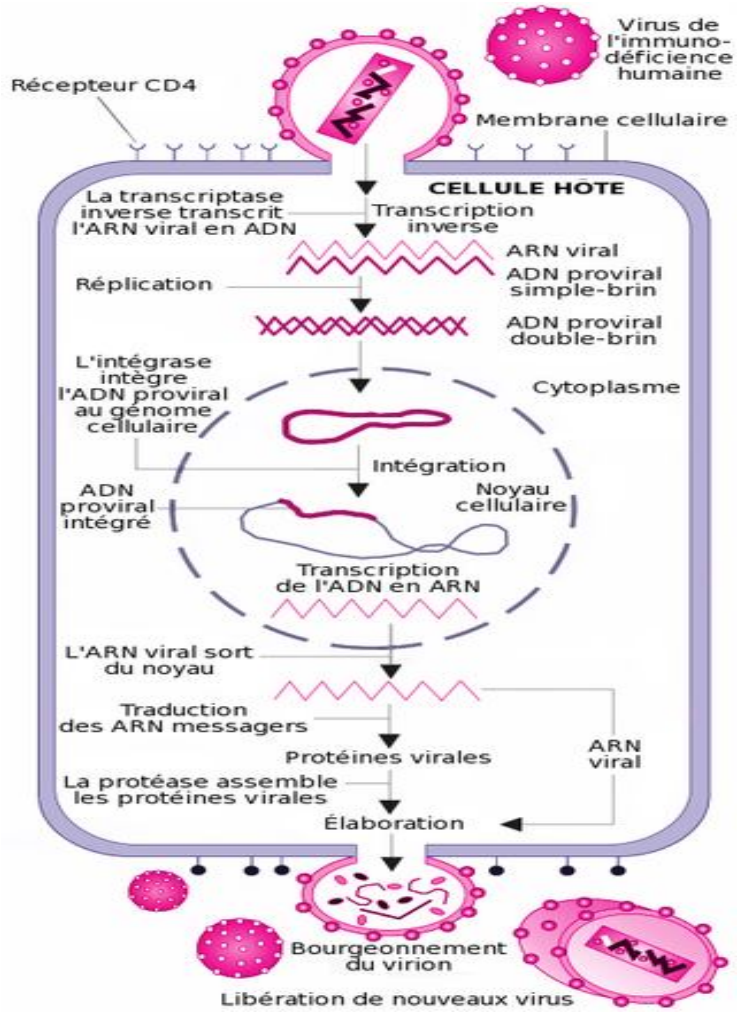


Figure 7. Cycle de réplication[1]

La première partie du cycle débute par l'attachement du virus à la molécule CD4 et se termine par l'intégration de l'acide désoxyribonucléique (ADN) proviral dans le génome cellulaire. La deuxième partie du cycle , débute par la transcription de l'ADN proviral et se termine par la sortie de nouveaux virions par bourgeonnement à la surface de la cellule. ARN : acide ribonucléique

I.5.5.3- Mécanisme de régulation

L'expression du ADNc proviral est soumise à un mécanisme complexe de régulation, pas encore totalement élucidé[1].

Le LTR n'est pas qu'un site d'insertion de l'ADN proviral dans le génome cellulaire. C'est aussi le site d'attachement de l'ARN polymérase cellulaire, où s'initie la transcription. Le

LTR est sensible à différents facteurs de transcription, certains viraux comme les protéines Tat et Rev, d'autres cellulaires comme le facteur nucléaire κB (NF-kappaB). En effet, dans les lymphocytes CD4 activés par d'autres cellules ou par des facteurs solubles (lymphokines ou cytokines), les facteurs transcriptionnels d'activation comme les protéines NF-KB, de même que des cytokines (en particulier *tumor necrosis factor* : TNF) sont capables de déclencher la réplication virale par l'intermédiaire de séquences avec lesquelles ils interagissent au niveau du LTR[46].

I.5.5.4- Dynamique de la réplication

MODÈLE VIH-1

La dynamique de la réplication virale est particulièrement élevée[1, 9]. La charge virale plasmatique est estimée à 10 milliards de virus produits par jour. Le virus est présent dans différents compartiments de l'organisme. À l'état libre dans le plasma, sa demi-vie est calculée à 10 minutes. Ce virus plasmatique provient essentiellement des lymphocytes CD4 infectés produisant les virus et situés dans les tissus lymphoïdes ; la demi-vie de ces cellules serait de 1 jour. Les monocytes-macrophages et cellules folliculaires dendritiques infectés produisent moins de virus et leur demi-vie serait de 14 jours. Enfin, le virus existe à l'état défectif dans les cellules CD4 (demi-vie de 145 jours) et à l'état latent non intégré dans ces mêmes cellules (demi-vie de 85 jours)[46].

Ainsi, chez les sujets traités avec des combinaisons puissantes d'antirétroviraux, et dont la charge virale plasmatique est indétectable pendant plusieurs années, il a été démontré que le virus restait présent dans les lymphocytes CD4 au repos, et que le plus souvent une réplication virale très basse persistait. Toutes les études récentes montrent donc que le virus peut rester dans des réservoirs cellulaires, en particulier au niveau des ganglions lymphatiques, même chez des sujets traités efficacement.

MODÈLE VIH-2

Il a été montré que les patients infectés par le VIH-2 ont une charge virale plus faible que les patients infectés par le VIH-1, à taux de CD4 comparables. Ces résultats virologiques in vivo expliquent les différences épidémiologiques observées entre ces deux infections[34].

Mais l'origine de cette faible pathogénicité du VIH-2 n'est pas connue. L'hypothèse la plus plausible est celle d'une régulation différente de l'expression virale entraînant une efficacité prolongée de la réponse immune cellulaire et non le tropisme de ce virus, ni par sa moindre variabilité génétique[87].

I.5.6- Physiopathologie

I.5.6.1- Transmission

Le VIH est présent dans l'ensemble des secrétions corporelles. Mais, des quantités du VIH assez importantes ont été détectées dans le sang (total, plasma, …), le lait maternel, la cyprine, le sperme, ainsi que dans le liquide précédant l'éjaculation et les sécrétions génitales (sperme, sécrétions au niveau du col de l'utérus)[3].

Les trois modes de contaminations sont :

- ✓ les rapports sexuels non protégés[3, 4], qu'ils soient hétérosexuels ou homosexuels, représentent la part la plus importante des contaminations, 70-80% (Royce et al. 1997). Il pénètre via des brèches et petites lésions occasionnées par le contact étroit lors des rapports sexuelles pour ensuite se propager dans tous l'organisme *(Fig. 8)*
- ✓ la contamination par le sang lors de contact avec du matériel contaminé chez :
  - o les toxicomanes par injection lors des échanges des seringues
  - o le personnel de santé lors d'AES (accident d'exposition au sang)
  - o les transfusés mais quasi nulle grâce au dépistage systématique des dons de sang (le risque résiduel est de 1/500 000)
- ✓ la transmission mère-enfant se fait à un taux d'environ 20% et cela au cours de trois moments :
  - ▪ au cours de la grossesse par passage de cellules infectées ou de virus libres de la circulation maternelle vers la circulation fœtale à travers la barrière placentaire suite à son amincissement et aux potentielles microlésions de celle-ci.
  - ▪ Pendant l'accouchement quand le fœtus entre en contact avec les sécrétions vaginales et le sang maternel.

- Au cours de l'allaitement suite à ingestion du virus présent dans le lait maternel et qui pénètre dans l'organisme via des potentiels lésions de la muqueuse intestinales ou par transcytose dans des cellules possédant des récepteurs spécifiques.

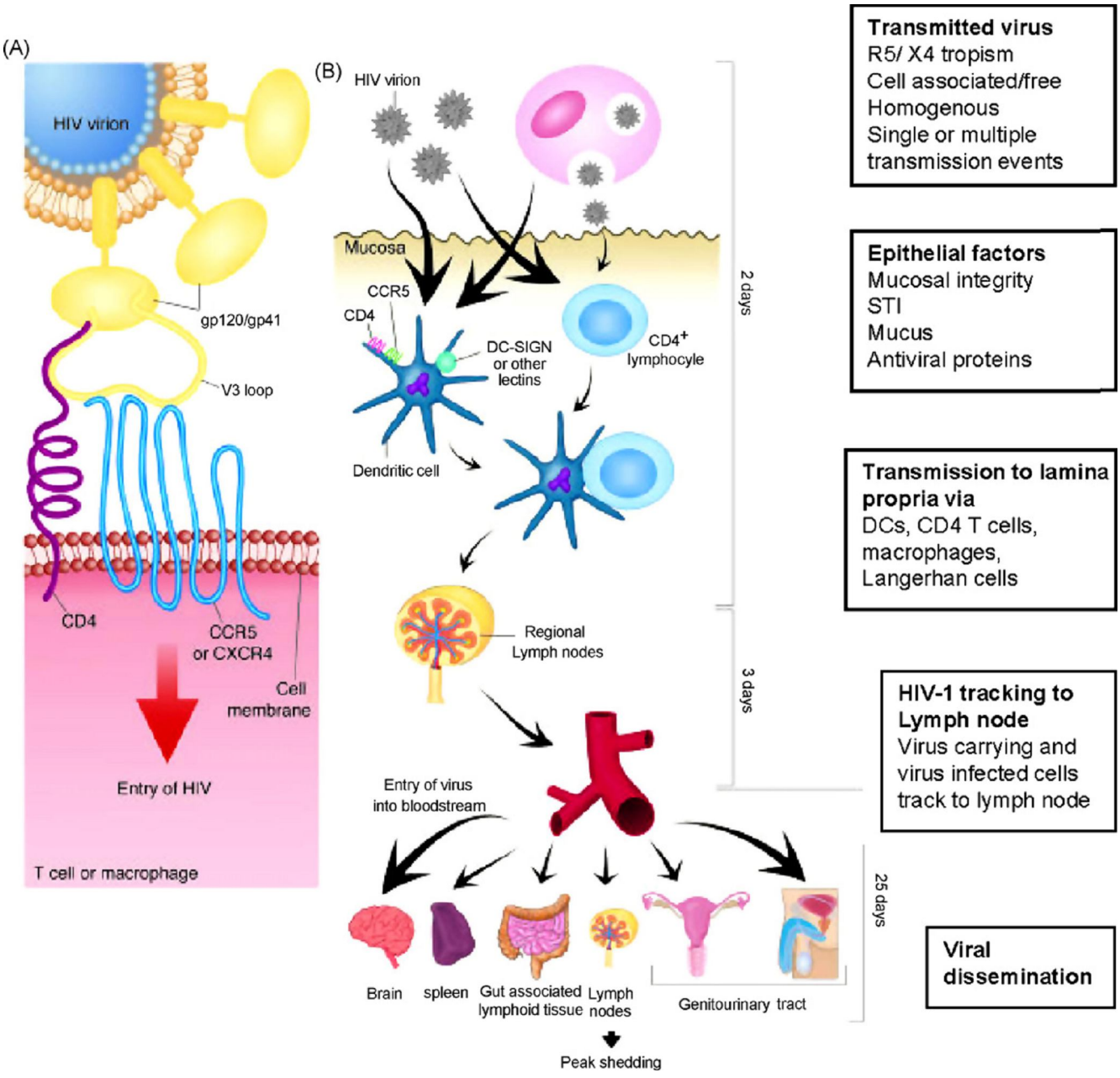


Figure 8. Entrée et dissémination virale durant la transmission sexuelle du HIV-1.

(A) Interactions of HIV-1 envelope glycoproteins, CD4, and CCR5 or CXCR4 coreceptors trigger fusion and entry of HIV-1. (B) Outline of the sequence and time course of events involved in viral dissemination. Adapted from Shattock and Moore (2003)[4].

I.5.6.2- Cibles cellulaires

Une fois les barrières franchies, le processus de dissémination dans l'organisme va toujours suivre le même cheminement. Le système immunitaire étant la première cible du VIH. Le virus va infecter principalement trois catégories de cellules **:** les lymphocytes et les cellules du système monocytes-macrophages dès le début de l'infection et les cellules dendritiques lors de la phase évoluée de l'infection[3, 4, 5, 53].

I.5.6.2.1- Les lymphocytes

Ils constituent la cible première du VIH[48]. Les lymphocytes TCD4+, exprimant la molécule CD4 à un niveau important à leur surface, peuvent être catégorisés en deux groupes selon leur sensibilité face au VIH :

1. Les lymphocytes TCD4+ activés
   Ce sont des lymphocytes naïfs issus du thymus activés suite à leur contact avec l'antigène et les cytokines pro-inflammatoires. La réplication virale y est rapide et importante, et conduit à leur mort du fait des effets cytotoxiques.
2. Les lymphocytes TCD4+ quiescents (en phase G0 de leur cycle cellulaire et les cellules activées types mémoires) ; Ils constituent la population majoritaire chez l'adulte et vont servir de réservoir au virus intégré[54].

Les lymphocytes TCD8+ (responsables de la réponse immunitaire initiale face à l'antigène) et les lymphocytes B (responsables de la production des anticorps) ne sont pas en général attaquées mais certaines études tendent ont monté l'apparition de souches virales utilisant le CD8 comme récepteurs et le CXCR4 comme co-récepteur tandis que pour les lymphocytes B (n'expriment pas de CD4) le VIH semble toutes fois entré dans la cellule mais l'ADN viral demeure non intégré[68].

I.5.6.2.2- Le système monocytes/macrophages

Les monocytes/macrophages sont infectés par le VIH à un niveau moindre que pour les lymphocytes T CD4+, car expriment peu la molécule CD4.Mais ils sont aussi infectés suivant

un autre phénomène de macropinocytose ne faisant intervenir aucun des récepteurs et corécepteurs spécifiques au VIH.

Par ailleurs, les macrophages étant incapables de se diviser et de permettre l'intégration et la réplication virale, le virus va être soit libéré, soit dégradé ou bien resté dans le cytoplasme et constitue alors un réservoir viral. De là, grâce à la capacité migratoire des monocytes /macrophages, le virus va être disséminé dans les organes non lymphoïdes comme le système nerveux central.

I.5.6.2.3- Les cellules dendritiques

Ce sont les activateurs de la fonction immunitaire : la présentation d'antigènes aux lymphocytes T matures. Elles expriment peu les récepteurs et corécepteurs du VIH mais ont toutes fois d'autres récepteurs capables de lier le VIH tel que le DC-SIGN et le transférer aux cellules T[53].

Immatures, elles expriment CCR5 et ne se laissent infecter que par les souches R5. Elles vont seulement permettre la dissémination du Virus dans l'organisme.

Le VIH se réplique également à moindre mesure dans la microglie du système nerveux central, les cellules de Langherans, de la peau et des muqueuses, les syncytiotrophoblastes porteurs de la molécule CD.

Les cellules de Langerhans au niveau des muqueuses génitales [3,4] constitueraient sans doute une des portes d'entrée du virus dans l'organisme. Elles transportent les souches R5 vers les régions T des ganglions où elles les transmettent à des lymphocytes T non infectés dans lesquelles elles vont se répliquer.

I.5.6.3- Propriétés cytopathogènes

L'infection virale a un effet létal sur les lymphocytes T CD4+ qui se traduit en cultures cellulaires, par un ECP matérialisé par apparition d'un syncytia consécutifs à la fusion, médiée par la gp41, de cellules en agrégats géants avec de multiples noyaux et un ballonnement de la membrane cellulaire et qui aboutir à la mort des cellules[1].

Ce sont les souches X4 appelées *syncytium inducing* (SI) qui sont responsables de cet effet cytopathogène, alors que les souches R5, *non syncytium inducing* (NSI) ne le sont pas ou peu. Ce procédé de fusion aboutissant à la destruction des lymphocytes CD4+, a été également observé in vivo dans le système nerveux central. Mais ce mécanisme n'est pas le seul en cause : en plus de la toxicité directe du virus et de ses protéines sur la cellule (apparition de la syncytia) et de la destruction des lymphocytes infectés par les cellules CD8 cytotoxiques, l'apoptose contribue également à la disparition des lymphocytes CD4+. L'apoptose, ou mort cellulaire programmée, se traduit par une fragmentation de l'ADN chromosomique cellulaire. Elle serait déclenchée au cours de l'infection à VIH par la liaison de la gp120 à la molécule CD4, par des cytokines (interleukine), voire par des super-antigènes (mycoplasmes) [44].

En revanche, les monocytes et macrophages peuvent supporter sans ECP et sans dommage l'infection, constituant ainsi un réservoir pour les virus, mais aussi un véhicule pour infecter précocement, dès la primo-infection, divers compartiments de l'organisme, et en particulier le système nerveux central. Les monocytes/macrophages sont moins sensibles aux effets cytotoxiques du virus. L'infection n'entraine pas leur mort, toutes fois elle affecte leurs fonctions présentatrices d'antigène[34]. De plus l'infection augmente leur production de cytokines ce qui crée une inflammation chronique et des dommages aux tissus ainsi que la libération du glutamate au niveau du système nerveux central ce qui entraine la mort des cellules neuronales.

Dans les follicules lymphoïdes (qui sont le principal organe/tissu cible de l'infection virale), les cellules folliculaires dendritiques, élément architectural essentiel de ces follicules, capturent les particules virales et les présentent aux cellules lymphoïdes. À un stade avancé de l'infection, les cellules folliculaires dendritiques sont détruites, ce qui participe à l'atrophie finale des formations lymphoïdes au stade du SIDA.
Chez un individu infecté, les souches virales sont monocytotropes/macrophagetrope (en début d'infection) mais généralement lymphotropes et de plus en plus cytolytiques lorsque l'infection est évoluée.

I.6- Pouvoir pathogène du VIH

Une fois le virus dans l'organisme, l'organe cible principal est constitué par les formations lymphoïdes, mais le cerveau peut être également un organe cible. L'infection évolue au fil du temps en 3 phases [44, 48] : la primo-infection, la phase asymptomatique et la phase SIDA .

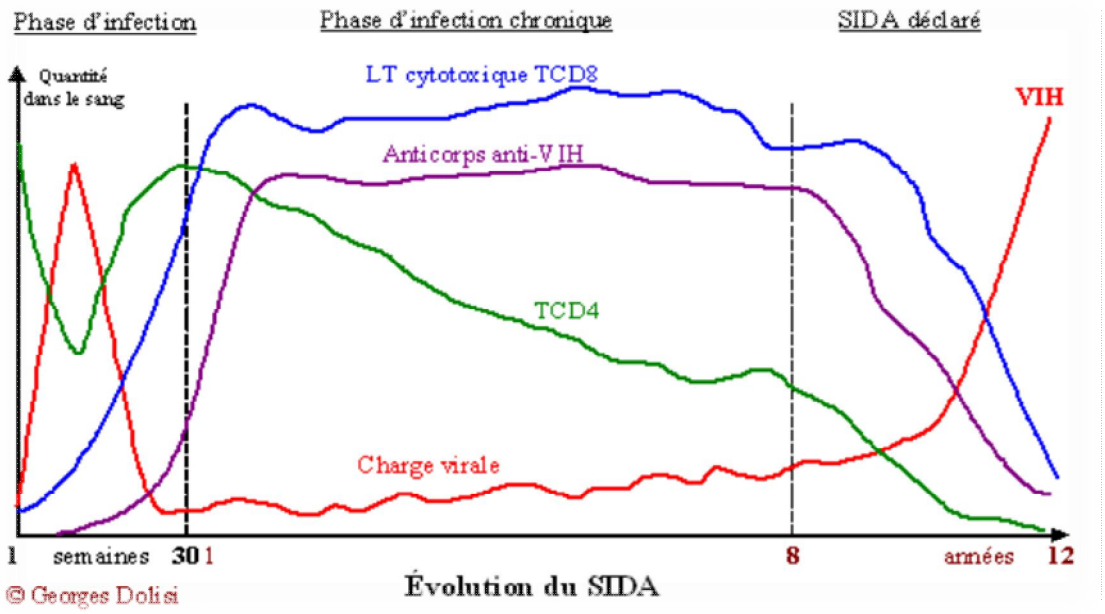


Figure 9. Histoire naturelle typique* de l'infection du VIH[18](Modifié)

** L'évolution de l'infection du VIH au stade SIDA se fait[46]*
-soit entre 8-12 ans : progresseurs typiques
-soit dans une période < 3ans : progresseurs rapides
-soit dans une période > 12ans : non progresseurs à longs terme (NPLT) ; mais différents des « Contrôleurs du VIH (HIC) » dont l'organisme contrôle spontanément la réplication virale et le sujet évolue vers le stade SIDA après une période >20 ans

I.6.1- La primo-infection ou phase d'invasion ou phase aigue

Elle constitue la période entre l'entrée du virus et l'apparition d'une réponse immunitaire spécifique contre le virus. Elle est asymptomatique une fois sur deux environ et passe inaperçu. Sinon elle se traduit par une symptomatologie type grippal, pouvant associer à une fièvre, des adénopathies avec angine, éruption, méningite, voire encéphalite. Tous ces signes vont rétrocéder[1, 46].

Pendant trois à six semaines, cette phase est marquée par un premier pic très élevé de virémie : jusqu'à 10 milliards de virions produits par jour. L'antigénémie p24 se positive et nombreuses copies d'ARN viral sont présentes dans le plasma).

L'infection s'établit dans les ganglions lymphatiques, le virus y étant apporté par les cellules folliculaires dendritiques. C'est là que les deux principales catégories de cellules cibles, les lymphocytes T CD4+ et les monocytes-macrophages viennent s'infecter par le virus.
Pendant cette période d'environ trois à dix jours, le virus se multiplie silencieusement, ce qui conduit à une forte virémie et à des manifestations cliniques de primo-infection dont la durée et la spécificité sont très variables[81].

La conséquence la plus fréquente durant cette phase est la destruction massive des lymphocytes T CD4+. Elle se corrige, néanmoins, une semaine à trois mois suivant l'infection grâce à l'apparition des anticorps neutralisants produits par les cellules B et aux effets cytotoxiques spécifiques du virus des lymphocytes T CD8+. Ce qui permet de rétablir un taux optimal de lymphocytes CD4+ et de diminuer la charge virale à un niveau résiduel. En même temps, les réservoirs des virus se mettent en place et les rendent inaccessibles aux défenses naturelles et aux thérapies.

Le diagnostic de la primo-infection à VIH est important, car la charge virale dans le sang et dans les sécrétions génitales est considérablement plus élevée que lorsque la réponse immunitaire ralentit en partie la réplication du VIH. De ce fait, l'infectiosité en primo-infection est plus élevée[48, 57, 58].

I.6.2- La phase asymptomatique ou chronique

Il s'agit d'une phase de latence clinique qui dure une période de six mois à onze ans[46]. Au cours de cette période, le taux de lymphocyte T CD4 est optimal ce qui maintient l'organisme en bonne santé. Néanmoins, la baisse progressive des lymphocytes T CD4+ dirigés contre le VIH permet la multiplication libre du virus et donc, lentement, l'augmentation de la charge virale qui s'accélère lors de l'évolution au stade de SIDA, où le virus aura fini de prendre le dessus sur le système immunitaire.

Chez certaines personnes infectées, les sujets asymptomatiques à long terme (ALT) cette phase peut durer jusqu'à 20 ans[83, 84].

Il faut noter que la période asymptomatique n'est pas une période d'infection virale latente : le taux de lymphocytes T CD4+ sanguins ne retrouve pas son niveau initial et, si l'antigène p24 a généralement disparu, la virémie n'est pas supprimée : persistance de lymphocytes sanguins circulants infectés et de molécules d'ARN viral dans le plasma. D'ailleurs, durant cette phase d'infection cliniquement asymptomatique, la transmission au partenaire sexuel, ou la transmission par transfusion ou échange de seringue sont toujours possibles[46].

I.6.3- La phase SIDA

Lorsque le taux des lymphocytes T CD4+ circulants descend sous la barre des 200/mm3 de sang (taux normale = 1000), marque l'entrée dans le stade SIDA, en moyenne après 10 ans d'infection[80]. Le système immunitaire s'effondre et la virémie augmente rapidement: l'antigène p24 réapparaît et en parallèle une baisse des anticorps anti-p24. Cette phase de multiplication virale incontrôlée est aussi celle où les souches de virus résistant aux antiviraux deviennent prédominantes.

Le SIDA est caractérisé par la destruction des organes lymphoïdes secondaires provocant une immunodéficience sévère et permettant ainsi la survenue d'infections opportunistes tels que celles dues au Pneumocytis carinii, au Candida… et/ou des tumeurs tels que les lymphomes, sarcome de Kapos, etc... [85].
Certains sujets présentent une encéphalite à HIV (marquée par un état de démence due à la destruction des cellules neuronales). A terme, en absence de traitements les infections opportunistes conduisent à la mort du sujet dans les trois ans.

Chez l'enfant, on distingue deux formes cliniques[1] la forme précoce et rapide, minoritaire, menant en quelques mois à la mort dans un tableau d'encéphalopathie subaiguë liée à une infection *in utero* ; au cours de la grossesse. Et la forme majoritaire, liée à une infection en fin de grossesse ou à l'accouchement, et de symptomatologie tardive, proche de celle de l'adulte.

II- CLASSIFICATION CLINIQUE DE L'INFECTION

La classification en stades cliniques est prévue pour les patients dont l'infection par le VIH a été confirmée par un test anticorps. Elle est utilisée pour mieux évaluer l'évolution de l'infection à VIH chez la personne séropositive, en complément ou non de la numération des CD4 afin de guider les décisions quant à la mise sous prophylaxie des maladies opportunistes et à la mise sous traitement anti-rétroviral.

Deux classifications fondées sur les manifestations cliniques et les anomalies biologiques décrivant la progression de l'infection VIH sont actuellement utilisées[88]. Il s'agit de la classification mise au point par l'OMS et de celle du CDC (Centers for Disease Control and Prevention, en 1987 puis révisée en 1993). La classification selon le CDC étant la plus utilisée à l'échelle mondiale car associant aux critères cliniques des données immunologiques du patient.

Tableau II. Classification de l'infection à VIH selon la symptomatologie[44]

Stades cliniques CDC93	***Stades cliniques OMS***	**Critères**
A	**1**	- asymptomatique / adénopathie persistante généralisée -et/ou degré d'activité 1 : patient asymptomatique, activité normale
B	**2**	- perte de poids< 10% / manifestations cutanéo-muqueuses mineures / zona au cours les 5 dernières années / infections récidivantes des voies respiratoires supérieures - et/ou degré d'activité 2 : patient symptomatique, activité normale
	3	- perte de poids> 10% / diarrhée > 1mois / fièvre > 1 mois / candidose buccale / leucoplasie chevelue/ tuberculose pulmonaire dans l'année précédente / infection bactérienne sévère : pneumopathie - et/ou degré d'activité 3 : patient alité moins de la moitié de la journée pendant le dernier mois
C	**4**	- herpès cutanéomuqueux > 1mois ou viscéral / mycose endémique généralisée / candidose œsophage, trachée, bronche poumon / mycobactériose atypique généralisée / septicémie à salmonelles non typhiques / tuberculose extrapulmonaire / lymphome / Sarcome de Kaposi / encéphalite à VIH - et/ou degré d'activité 4 : patient alité plus de la moitié de la journée pendant le dernier mois.

Tableau III. Classification de l'infection à VIH selon l'état immunologique (CDC1993)[88]

Nombre de CD4/µl	Stade A	Stade B	Stade C
>500	A1	B1	C1
500-200	A2	B2	C2
<200	A3	B3	C3

III- DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE

Le rôle du laboratoire est de permettre, d'une part, un diagnostic précoce et, d'autre part, d'assurer le suivi de l'infection VIH dans le cadre de la vision globale de la politique de la santé publique (dépistage des infections virales, surveillance épidémiologique, sécurité virale pour tous les produits biologiques distribués,…)[44, 47]. Ce diagnostic permet particulièrement d'évaluer la gravité présente ou potentielle pour le patient et son entourage (confirmer une infection virale, mesurer les paramètres de gravité, évaluer le risque de transmission) et de mettre en route une chimiothérapie anti-virale permettant ainsi de diminuer la morbi-mortalité et la transmission au cours de cette infection virale chronique.

Le diagnostic de l'infection au VIH chez l'adulte est basé, dans la très grande majorité des tests réalisés, sur la détection des anticorps également appelée sérologie. Chez l'enfant né de mère séropositive, le diagnostic fait appel à des techniques plus complexes pour la mise en évidence directe du virus (culture cellulaire, charge virale).

Les techniques utilisées dépendent du constituant ciblé. En effet, six stades ont été définis par Fiebig *et al.* Au cours de l'infection par le VIH-1 en fonction de l'apparition des différents marqueurs biologiques. Au total, après une phase initiale d'une durée moyenne de 11 jours au cours de laquelle la réplication virale est limitée aux muqueuses et aux tissus lymphatiques, l'ARN viral peut être détecté à partir de 12 jours en moyenne, l'antigène p24 à partir de 17 jours et les anticorps anti-VIH à partir de 22 jours[48, 60, 62] *(Fig. 9)*.

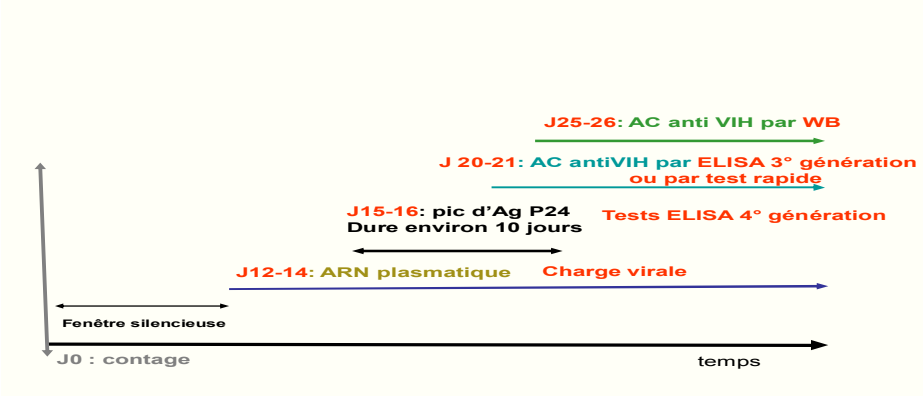


Figure 10. Tests de diagnostic pratiqués en fonction d'apparition des marqueurs du VIH[46](Modifié)

De fait, les examens virologiques du VIH sont basés sur deux approches diagnostiques différentes[21, 22, 48, 90], mais complémentaires et très dépendant avant tout de la qualité des prélèvements:

• **Le diagnostic direct :** vise à révéler et à identifier, à partir de produits pathologiques le virus lui-même et/ou ses constituants : antigènes, ADN, ARN, surtout lors de la primo-infection et au moment de la phase finale de la maladie (SIDA).

• **Le diagnostic indirect :** concerne la mise en évidence de la réponse immunitaire humorale de l'organisme et la détection des anticorps circulants spécifiques du virus au moment de la séroconversion. C'est le diagnostic sérologique. Il occupe la majeure partie dans le panel des différents examens pratiqués lors du diagnostic virologique du VIH.

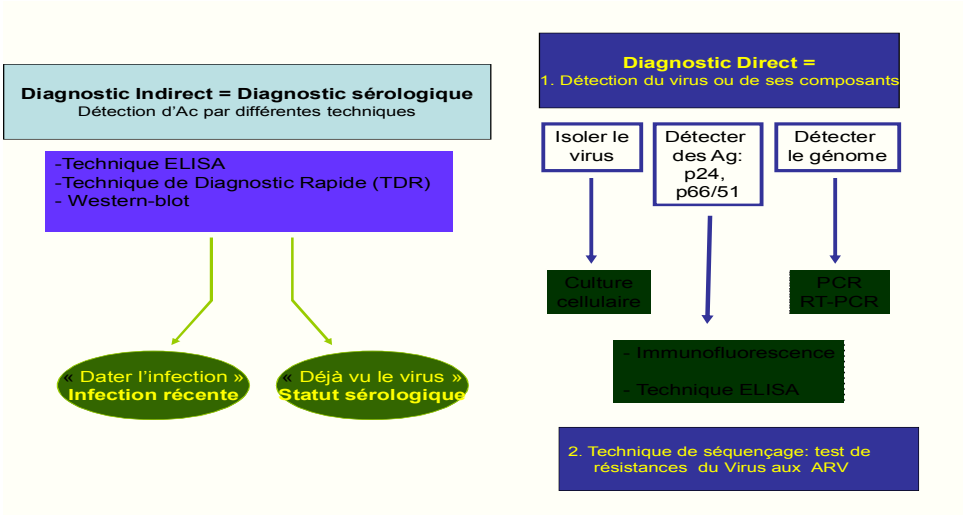


Figure 11. Différentes approches de diagnostic du VIH [96] (Modifié)

III.1- Diagnostique sérologique ou indirect

Le diagnostic indirect du VIH comporte deux étapes : le dépistage des anticorps par la technique ELISA ou par le TDR et la confirmation de la positivité par Western Blot(WB).

III.1.1- Dépistage des anticorps

Le dépistage des anticorps anti-VIH doit s'effectuer par deux tests : soit deux tests Elisa mixtes (détectant à la fois les Ac anti-VIH-1 et VIH-2) soit un test Elisa mixte associé à un test Elisa VIH-1 mono-spécifique, soit un test Elisa mixte associé à un TDR[25, 26, 27, 28].

III.1.1.1- <u>ELISA</u>

L'ELISA ou « Enzyme-Linked Immunosorbent Assay » est un procédé d'immuno-absorption enzymatique qui permet de doser les antigènes et les anticorps dans le sang du patient grâce à l'utilisation d'un marqueur (enzyme).

La détection des anticorps suit actuellement deux principes de dosage : ELISA indirect et ELISA en sandwich double antigène *(Fig.12)*. Dans les deux cas, les antigènes sont adsorbés sur un support solide (billes ou puits de microplaque) puis incubés avec le sérum à tester. Les complexes antigène-anticorps formés sont révélés par un ligand conjugué à une enzyme à substrat chromogène[13, 22].

Pour l'ELISA indirect, le conjugué est une immunoglobuline (Ig) anti-IgG humaine; pour l'ELISA sandwich c'est un antigène recombinant présentant les mêmes épitopes que l'antigène de capture. Dans certains tests ELISA, une capture spécifique des IgG est réalisée au préalable, de manière à augmenter la sensibilité[35].

Lors du dépistage du VIH, son principe est basé sur une réaction entre les Ag viraux/les Ac monoclonaux et polyclonaux anti-VIH du sérum d'un sujet infecté dirigés respectivement contre des Ac monoclonaux anti VIH/des Ag viraux solubles ou intracellulaires après lyse des cellules, déposés dans des puits d'une microplaque ELISA. La sensibilité de cette technique est de l'ordre ng/ml (pg/ml pour l'ELISA 4ème génération) et le temps de réaction varie entre

30-120 minutes en fonction des kits réactionnels[48].Cette fixation Ac-Ag peut être visualisée grâce à une réaction colorée produite par l'action sur un substrat, d'une enzyme préalablement fixée à l'anticorps.

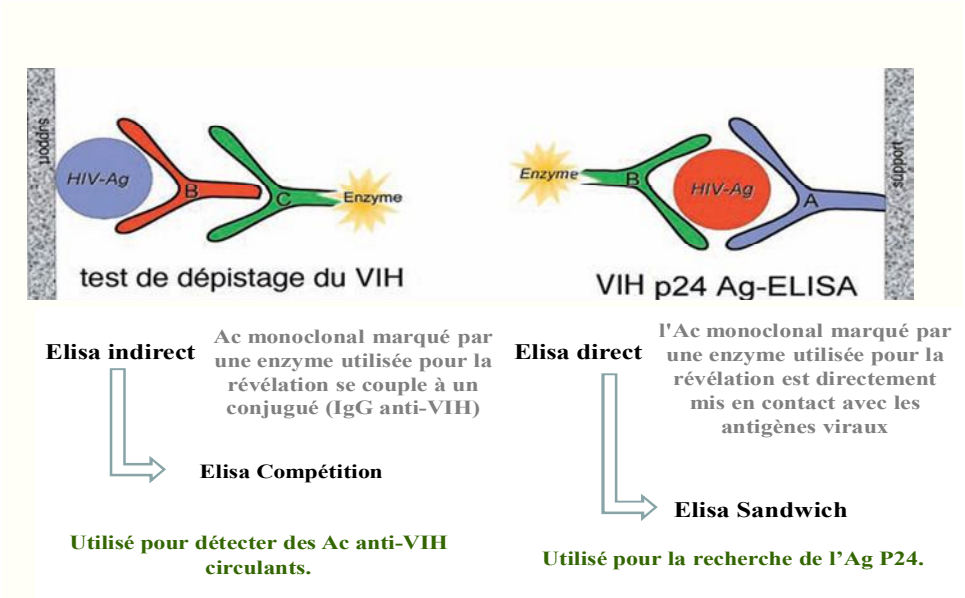


Figure 12. Variantes de la technique de l'ELISA[13](Modifié)

Selon les antigènes viraux utilisés et l'isotype de l'anticorps détecté, on distingue quatre générations des tests ELISA. Les termes de première, seconde et troisième génération ont été appliqués aux tests ELISA anti-VIH selon les améliorations successives apportées. Elles visent à augmenter les performances des réactifs et de réduire au minimum la fenêtre de séroconversion. C'est la période de "sérologie muette" pendant laquelle le sujet infecté peut transmettre le virus, alors qu'aucun anticorps anti-V1H n'est décelable ni par ELISA, ni par Western Blot. Ces améliorations concernent principalement la source d'antigène VIH utilisée et le principe de la technique ELISA mise en œuvre[22, 34, 36, 37, 38, 39, 40, 41, 62]

-1ère génération, 1985 : utilisant des lysats viraux purifiés à partir de cultures de lymphocytes infectés et sont de type indirect. Ces tests ne sont plus utilisés en raison des hautes dilutions de l'échantillon nécessaires pour obtenir une spécificité acceptable.

-2ème génération, 1987 : utilisant des protéines recombinantes ou des peptides de synthèse permettant des améliorations substantielles de la sensibilité et de la spécificité. Ces techniques offrent également une meilleure sécurité d'emploi, évitant la manipulation de cultures infectées. En ce qui concerne le principe, les tests de deuxième génération sont pour la plupart des ELISA indirects.

-3ème génération, 1989 : utilisant des protéines recombinantes ou des peptides de synthèse comme les tests de la génération précédente. Le changement se situe au niveau du principe du dosage : l'ELISA indirect est remplacée par un ELISA en sandwich double antigène, Les avantages immédiats sont la détection des immunoglobulines totales et une diminution des réactions croisées. La réaction de révélation est plus spécifique que la reconnaissance d'une IgG. Ce sont des tests d'immunocapture reconnaissant des anticorps IgG et IgM dirigés contre le VIH-1.

-4ème génération, 1997 : utilisant des protéines recombinantes ou des peptides de synthèse. Largement utilisés actuellement, Ces tests sont des tests mixtes (détectent des anticorps anti- VIH-1 et VIH-2) et combinés (détection des anticorps IgG et IgM dirigés contre le VIH-1, le VIH-2 et l'antigène p24 à un seuil de détection entre 30-50 pg/ml).

La technique ELISA a une envergure d'action large mais n'empêche qu'il puisse donner, de fait, quelques faux positifs (0,5 % dans la population générale), de sorte que tout résultat positif ou douteux (discordance entre les deux tests ELISA systématiques pour une positivité au VIH) exige un 2ème prélèvement de sérum et une confirmation par Western blot HIV, indispensable pour parer à toute erreur (survenue soit lors d'étiquetage sur le premier prélèvement lors de la phase pré-analytique, soit par contamination verticale lors de la phase analytique), compte tenu de la gravité du diagnostic.

III.1.1.2- Test de dépistage rapide (TDR)

À côté des techniques ELISA, des tests unitaires simples et rapides de détection des anticorps anti VIH1 et 2 sont disponibles. Il s'agit de tests de dépistage rapide (TDR) [20, 47].

Selon la Décision de la Commission Européenne du 07 Mai 2002[47] portant sur les spécifications techniques communes des dispositifs médicaux in vitro, un TDR est défini comme « un test pouvant uniquement être réalisé séparément ou pour une série limitée et conçu pour donner un résultat rapide lorsqu'il est pratiqué auprès du patient ».

Moins sensibles que l'ELISA combiné (pas de détection de l'Ag p24 par exemple) mais rapides car réalisables en moins de 30 minutes et sans nécessité d'aucun équipement spécifique et ayant une interprétation des résultats visuelle subjective, ils sont généralement utilisés pour des situations d'urgence en l'absence d'équipement nécessaire à la technologie Elisa et sont proscrits pour le dépistage du VIH s'il y a eu une situation de prise de risque datant de moins de trois mois c'est-à-dire au cours de la séroconvérsion[15, 21, 62].

Ils sont de quatre types selon leur principe de base : TDR par agglutination, TDR avec membrane de filtration verticale, TDR avec membrane chromatographique de filtration latérale, TDR par méthodes sur carte en forme de peignes (dipstick).
Ce sont le plus souvent des tests de filtration verticale à travers une membrane sur laquelle sont immobilisés des antigènes recombinants et peptides de synthèse.

Leur principe est en général le même :

1. Antigènes recombinants et peptides de synthèse immobilisés sur une membrane
2. Dépôt du sérum, plasma, sang total ou salive contenant éventuellement des Ac spécifiques
3. Migration du sérum jusqu'aux Ag immobilisés
4. Liaison des Ac avec les Ag donnant une coloration visible à l'œil nu

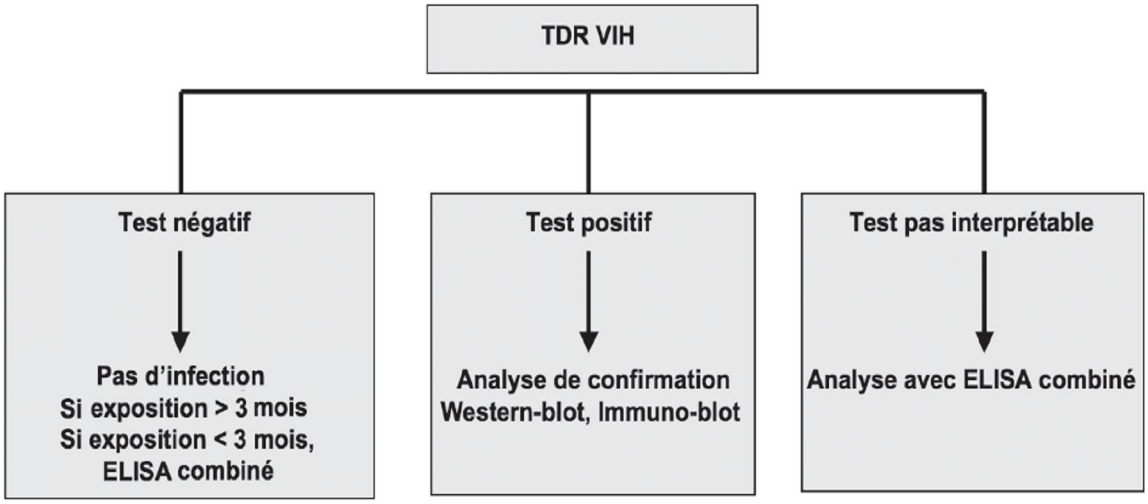


Figure 13. Algorithme d'interprétation des tests de dépistage rapide du VIH [62]

III.1.2- Tests de confirmation par WESTERN BLOT

Lorsque les deux tests lors du dépistage d'anticorps sont positifs ou même discordantes, un test de confirmation est réalisé sur un deuxième prélèvement sanguin.

Les tests de confirmation sont le *western blot* (WB) ou l'*immunoblot* (IB) [90] et permettent d'analyser la spécificité des anticorps présents dans l'organisme et ainsi, d'identifier les protéines virales contre lesquelles ils sont dirigés.

Dans la technique du WB, les protéines virales étant séparées par électrophorèse avant d'être transférées sur membrane. Alors que l'immuno-blot de confirmation utilise des protéines recombinantes et les peptides de synthèses déposés en bandes séparées sur des membranes ou supports[21, 22, 32, 62].

Le principe est basé sur la mise en contact du sérum du sujet et les principaux antigènes viraux séparés les uns des autres par électrophorèse puis transférées (blotting) en bandes sur une membrane de nitrocellulose[31]. Lorsque les anticorps correspondants sont présents dans le sérum: il y a une liaison Ag-Ac qui sera révélée par une anti-Ig marquée par un système

enzymatique et visualisée en forme de bandes colorées dès qu'on ajoute un substrat. La révélation se fait donc par le principe ELISA.

Lors de l'exécution du test de Western Blot, on passe obligatoirement par trois étapes[90] *(Fig.14)*:

1. **Electrophorèse sur gel** : Dénaturation du virus par un détergent (Sodium-dodécyl sulfate par exemple). Les protéines virales (antigènes) sont ensuite séparées selon des critères de masse par électrophorèse sur gel de polyacrylamide puis il y a le transfert (blotting) des protéines sur un buvard (blot) de nitrocellulose.

2. **Incubation** de la bandelette de nitrocellulose avec le sérum du patient à confirmer la présence d'anticorps anti VIH. Si ces derniers sont présents ils se lient aux antigènes fixés au blot.

3. **Révélation** de la liaison Ag-Ac par une deuxième Ac couplé à une enzyme et qui se lie au complexe lors de l'incubation. Les Ac non liés sont rincés et au contact du substrat, les Ac conjugués à l'enzyme laissent apparaitre une coloration.

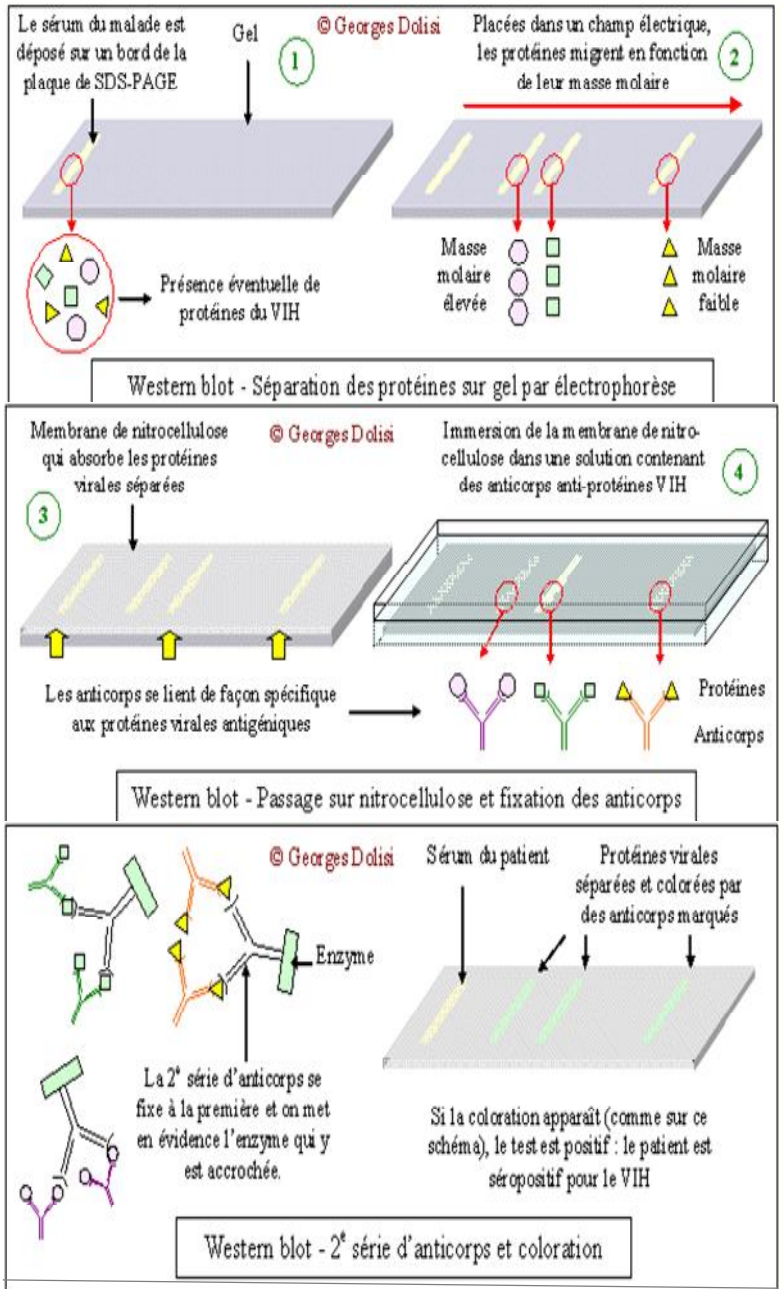


Figure A. Protocole opératoire du Western Blot

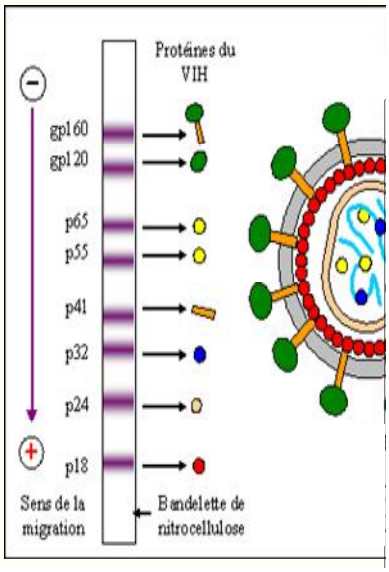


Figure B. Western Blot Positif

Figure 14. Etapes du Western Blot[90]

En théorie, un sujet infecté par le VIH devrait posséder des anticorps spécifiques de chacune des protéines structurales du virus (produits des gènes *gag, pol* et *env).* Mais les sujets infectés n'élaborent pas tous une réponse humorale contre toutes les protéines du VIH. Les

sérums de certaines personnes non contaminées peuvent donner des réactions croisées avec une ou plusieurs protéines du VIH[28, 29].

Le test est lu à l'œil nu. Pour remédier à ces difficultés, une certaine standardisation au niveau de l'interprétation des profils observés a été tentée. Cependant les critères de positivité du WB et de l'IB n'ont pas encore fait l'objet d'un consensus international. Mais la plupart des pays considèrent généralement des critères de positivité définis par l'OMS *(Tab. IV)*.

Néanmoins pour toutes ces organisations internationales, on a un profil dit négatif lorsqu'il n'existe pas de bandes virales (absence d'anticorps) ou s'il n'y a qu'une bande isolée au niveau de la p17 (protéine de la matrice).

Tous les autres profils doivent être considérés comme indéterminés[28, 30]. Les cas de figure possibles de profils indéterminés sont :

- *Profil "p24 isolée" : séroconversion peu probable,*
- *Profil "gp160 isolée" : séroconversion possible,*
- *Profil "p24 + gpl60" : séroconversion probable.*

Un WB VIH-1 indéterminé oblige à un nouveau test trois semaines plus tard et à un Western blot HIV-2 car cette situation peut correspondre à trois éventualités de diagnostics :

-une infection par le VIH-2

-une séroconversion du VIH-1 qui débute qui se complètera en trois semaines.

- infection par un variant du VIH

Lorsque ces trois éventualités ont été éliminées, plus souvent, il faut évoquer la possibilité d'une réaction non spécifique (non liée à l'HIV).

Le profil complet correspond à la présence de GP160, GP120, P66, P55, P51, GP41, P39, P31, P24, P17 (Profil complet)

Tableau IV. Différents critères pour l'interprétation du WB[30](Amélioré)

Organisations	Critères d'interpretation positive de la Western Blot
CDC (Centers for Disease Control), 1989 USA	Au moins 2 bandes parmi : p24, gp41 et gp120/160
CNTS (Centre Nationale de Transfusion Sanguine), France	2 bandes ENV +1 bande GAG ou POL
OMS (Organisation Mondiale de la Santé)	2 bandes ENV + 1 bande GAG ou POL
CRSS (Consortium for Retrovirus Serology Standardisation) , 1988 USA	1 bande ENV + 1 bande p24 ou p31
ARC (American Rd Cross), 1988 USA	1 bande chaque : ENV, GAG et POL
CCDCP (Chinese Center for Desease Control and Prevention), 2004 China	2 bandes ENV ou 1 bande ENV+ 1 bande p24
NRL (National and State Reference Laboratories)	1 bande ENV + 1 bande GAG ou POL
DVV (Société allemande de lutte contre les maladies virales)	1 bande ENV + 1 bande GAG ou POL

Une technique de confirmation alternative : le Line Immunoassay (LIA) ou encore l'immunodosage sur bandelettes est commercialisé depuis 1991, et est classée en 1996 parmi les techniques de confirmation[31]. A la manière d'un Western Blot, le LIA détecte les anticorps spécifiques réagissant avec les antigènes viraux. Les protéines virales sont cependant remplacées par des protéines recombinantes (p24, p17, p31) et des peptides de synthèse (gp41-VIH1, gp36-VIH2), déposés en bandes parallèles sur une membrane en nylon. On peut ainsi déterminer le profil de reconnaissance des anticorps présents dans le sérum. Ce test à caractère analytique permet de standardiser la qualité et la quantité des antigènes présents et minimise les contaminations par des protéines cellulaires.

Des réactifs basés sur ce principe ont été développés au fil des ans qui ont suivi, leur plus grande spécificité permet de résoudre les cas de Western Blot indéterminés[32]. Deux autres méthodes permettent une détection très sensible des anticorps anti-VIH : l'immunofluorescence indirecte (IFA) et la radioimmunoprécipitation (RIPA). Cependant,

elles nécessitent 1' isolement du virus, sa culture *in vitro* et l'emploi de marqueurs fluorescents ou radioactifs. Ce sont des techniques longues et onéreuses qui ne sont pratiquement pas utilisées en diagnostic[22].

Dans le cas particulier de la primo-infection où les Ac anti VIH ne sont pas encore produits, le diagnostic virologique se base sur la recherche du virus lui-même ou de ses constituants (Ag p24, ARN, ADN proviral) [101].

III.2- Diagnostic direct

III.2.1- Antigénémie p24

L'antigénémie p24 a une valeur prédictive positive très élevée : elle se positive 15 à 16 jours après le comptage mais son pic n'a une durée que d'environ 10 jours. Ce pic d'antigénémie p24 coïncide avec le pic de virémie de primo-infection, une période où il y n'a pas encore production d'anticorps (fenêtre sérologique), ce qui fait de l'Ag p24 un excellent marqueur de réplication virale. Haut de là, la sensibilité de ce test reste médiocre, puisqu'il n'est positif que chez 10 à 20 % des personnes asymptomatiques, et 50 à 60 % des patients présentant au stade de SIDA[16, 17, 18].

L'antigénémie p24 est prescrite chaque fois qu'il a un comptage possible, où on craint de se trouver dans une période de fenêtre sérologique[13, 15, 21]. Son intérêt actuel est donc le diagnostic du VIH avant la séroconversion des anticorps détectés par les tests ELISA et Western blot. Elle se fait par la technique ELISA de 4ème génération et permet la détection à la fois des anticorps dirigés contre le VIH et de la protéine p24 virale.
Des tests permettant uniquement le dosage de la p24 du VIH-1 sont aussi disponibles. Des techniques de dissociations des complexes anticorps-antigène p24 sont utilisées pour augmenter la sensibilité des tests[62].

III.2.2- Mesure de la charge virale

Le test de la charge virale mesure le taux du matériel génétique viral (ARN génomique, ADN proviral) contenu dans un millilitre de sang. Il est habituellement effectué suite à un test sérologique positif basé sur la recherche d'anticorps. Il est aussi utilisé pour évaluer la réponse d'un patient à la thérapie au cours du traitement.

En plus d'avoir une sensibilité meilleure que la détection de l'antigénémie p24, la détection du génome viral se positive rapidement. En effet, l'ARN viral est le marqueur le plus précoce: 12 à 14 jours après le contage[18, 19, 60, 62] *(Fig. 15)*.

L'évaluation de la charge virale est basée sur des techniques d'amplification de séquences nucléotidiques, principalement la PCR (Polymerase Chain Reaction ou amplification génique), l'amplification de type isotherme NASBA (nucleic acid sequence based amplification) ainsi que la technique de biologie moléculaire dite de l'ADN branché (bDNA) qui permettent la quantification de l'ADN proviral (intégré dans le génome cellulaire) et, après une étape de rétrotranscription, de l'ARN génomique viral (RT PCR)[13, 55, 56, 62].

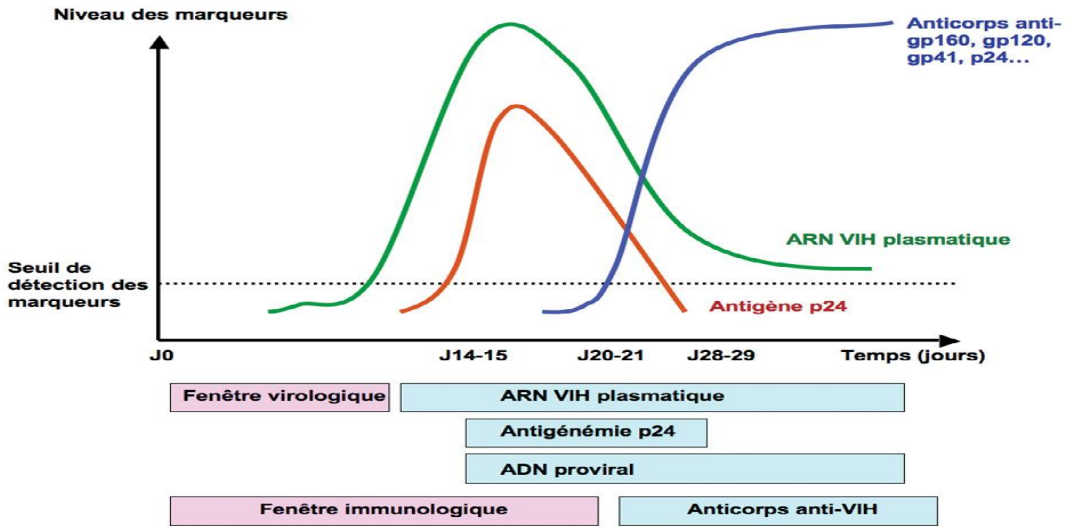


Figure 15. Evolution des marqueurs virologiques du VIH et tests de diagnostic [62]

La quantification de la charge virale se fait couramment soit à partir[93] :

- du plasma à la recherche du génome viral (ARN viral : marqueur de réplication). Elle comporte une étape initiale de rétrotranscription faite grâce à une RT, et l'on parle donc de RT-PCR. C'est la PCR ARN qui est le test de référence dans ce cas.
- des PBMC du patient (PBMC *pour peripheral blood mononuclear cells*) ou cellules mononuclées constituant le réservoir de virus, à la recherche de l'ADN proviral intégré dans la cellule. C'est la PCR ADN par exemple.

III.2.2.1- Principe de l'amplification génique par PCR et la RT PCR

a) La PCR ADN

La PCR classique est basée sur l'appariement des bases de séquences complémentaires d'acides nucléiques, grâce à une enzyme qui amplifie in vitro cet appariement de façon cyclique et exponentielle, entre [90]:

- Une cible : séquence limitée à amplifier du génome viral choisie pour sa pertinence pour avoir un résultat spécifique.
- Une sonde nucléique ADN ou ARN marquée par technique immunoenzymatiques, colorimétriques, fluorescentes, chimioluminescentes, etc.… La sonde est également appelée amorce oligonucléotidique.

Le fragment amplifié est non seulement facile à détecter mais peut être caractérisé de façon plus approfondie (analyse génétique).

Le déroulement de la PCR se fait en plusieurs cycles successifs dont chaque cycle, appelé « cycle thermique », est décomposé en trois étapes : une dénaturation des brins d'ADN, une hybridation d'amorces oligonucléotidiques sur la cible et une élongation des amorces grâce à une ADN polymérase.

A la fin d'un certain nombre de cycles une amplification du nombre de cibles est donc réalisée, d'abord exponentielle puis en plateau (plusieurs millions de copies à partir d'un brin d'ADN) ce qui permet leur détection et leur quantification. La sensibilité de la PCR est évaluée à une copie d'ADN au sein de 10^4 à 10^5 cellules[90] *(Fig.16)*.

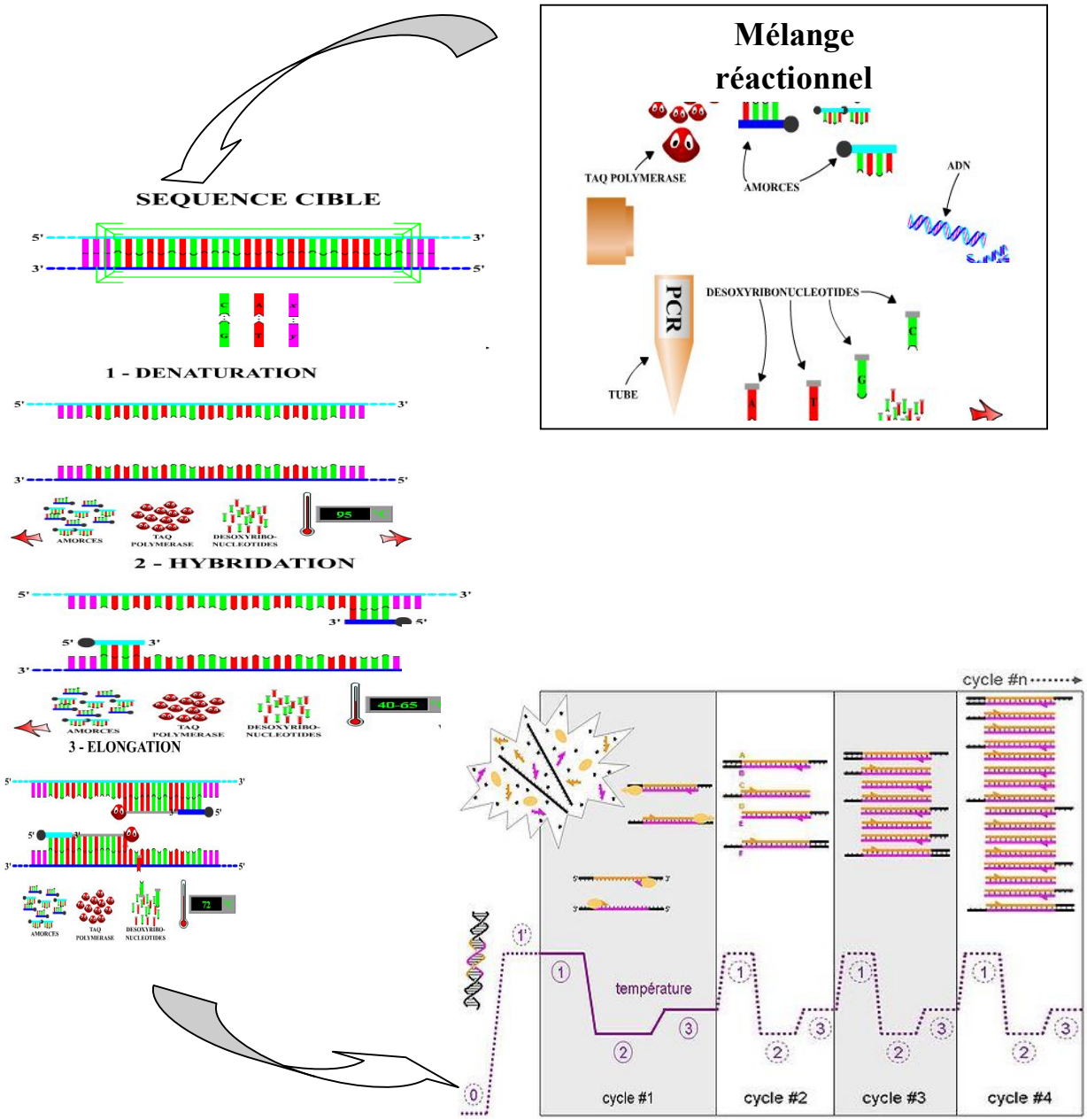


Figure 16. Principe de la PCR[90](Modifié)

1. Dénaturation : digestion des endonucléases de restriction, et puis dénaturation de l'ADN à 94°C
2. Hybridation : préparation des deux sondes nucléotidiques complémentaires des extrémités de la séquence cible, et puis ajout des sondes en excès à 50-60°C
3. Elongation : synthèse des brins à partir sondes hybridées servant d'amorces (=primers) à 60-70°C
4. Dénaturation des duplex néoformés à 95°C puis à 60°C et reprise de la polymérisation du fait de l'excès des amorces. La répétition des cycles de synthèse/dénaturation réalise une augmentation exponentielle de la quantité initiale d'ADN (à chaque cycle le nombre d'exemplaires de la séquence encodée par les deux amorces double)

Les variantes de la technique de la PCR, selon leur évolution sont[18] :

- **PCR quantitative** (travail en point finale qui repose sur le principe de dilution limite ou sur l'utilisation d'étalons internes.)
- **PCR mutliplex** (recherche de virus de structure génomique proche en amplifiant une séquence commune aux virus recherchés, à l'aide d'amorces consensus puis révélation avec des sondes spécifiques de chacun des virus recherchés)
- **PCR emboîtée ou nichée: Nested PCR :** Double amplification au cours de deux PCR successives, la seconde utilisant des amorces situées à l'intérieur du premier fragment amplifié de la 1ère PCR
- **PCR in situ** : sur coupe de tissus (technique très délicate)
- **PCR en temps réel :** même principe que la PCR classique sauf que l'amplification est mesurée non pas en point final mais tout au long de la réaction, donc en temps réel.

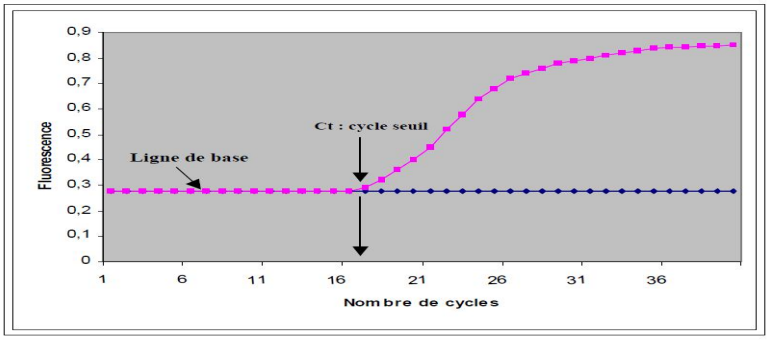


Figure 17. Principe « cycle seuil » de la PCR en temps réel[93]

A chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN est mesurée grâce à un marqueur fluorescent dont l'émission est directement proportionnelle à la quantité d'amplicons produits ce qui permet d'obtenir une cinétique de la réaction et donc la quantification de l'ADN alors que la PCR classique ne donne que la mesure finale. La quantification du signal repose sur le concept de « threshold cycle » ou « cycle seuil» (Ct) où le Ct correspond au plus petit nombre de cycles pour lequel l'intensité du signal fluorescent est supérieure au bruit de fond.

b) La PCR ARN ou RT PCR

La RT PCR qui signifie *Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction*, est une PCR classique, tel que décrit ci haut, qui se déroule après une première phase de transcription

inverse d'un acide ribonucléique (ARN) échantillon en ADN complémentaire (ADNc). Sa variante la plus utilisée est la RT PCR en temps réel.

Lors du diagnostic du VIH, elle est basée sur l'amplification du gène LTR et son seuil de quantification est de 40 à 50 copies/ml[91].

III.2.2.2- Etapes de la RT PRC en temps réel

1. Extraction des ARN viral à partir du prélèvement (plasma EDTA). La lyse des virions se fait par agent chaotropique (une molécule qui détruit la structure spatiale tridimensionnelle) dans les macromolécules biologiques) et sont précipités en présence d'éthanol. L'extraction se fait par adsorption des acides nucléiques (chargés -) sur membrane ou billes de silica-gel (chargées +) puis on procède au lavage et à l'élution de l'extrait[18]

2. Transcription inverse et Amplification de la cible : transformation de l'ARN viral en ADN complémentaire (ADNc) par une transcriptase inverse (RT) et amplification de l'ADNc

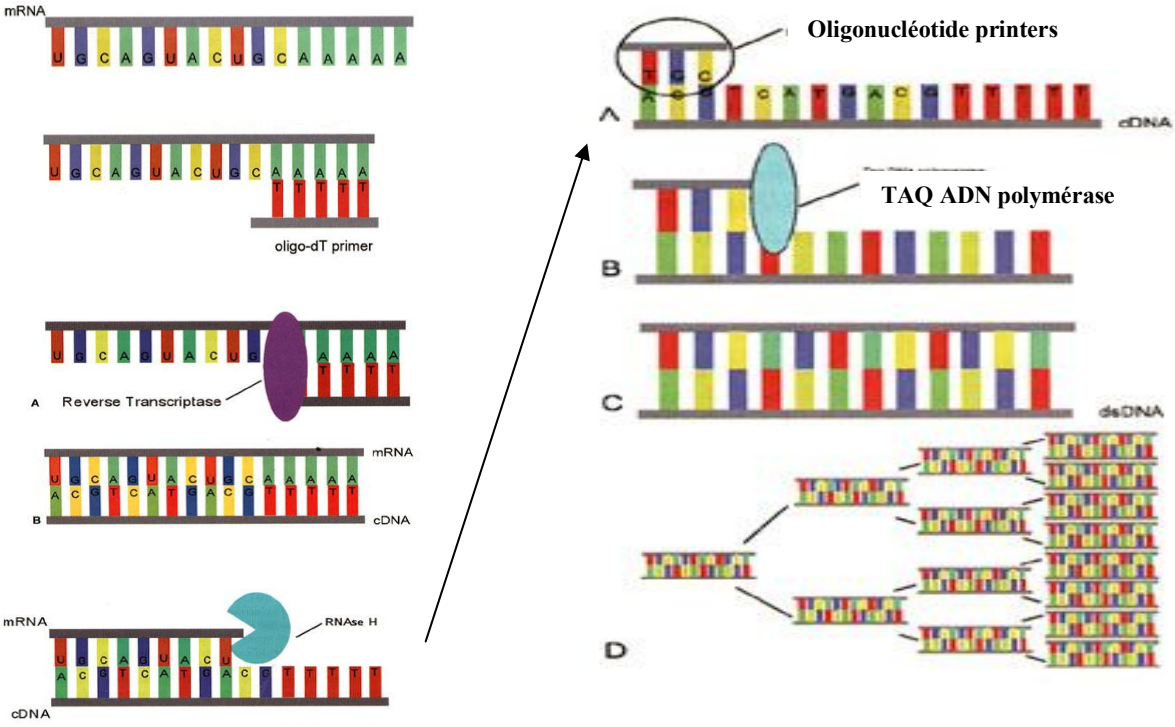


Figure 18. Retro-transcription et Amplification au cours de la RT PCR[92]

3. Détection/Quantification de l'ADNc : après amplification de la cible ou réaction de polymérisation en chaine, la sonde s'hybride avec le brin complémentaire et à chaque fois qu'il y a séparation entre les deux lors de l'extension, une augmentation de signal fluorescent directement proportionnelle au nombre d'amplicons produits est détéctée. Cette détection dite en temps réel se fait soit :

- par **Agents intercalants :** bromure d'éthidium par exemple [Russel Higuchi, années 90]. Il s'agit d'une molécule capable de s'insérer entre les bases appariées d'un acide nucléique. Il est peu fluorescent à l'état libre, mais augmente en fluorescence lorsqu'il est lié à l'ADN double brin

- par utilisation de sondes, par exemple la sonde Taqman marquée à son extrémité 5' par un fluorochrome **émetteur** (reporter) et à leur extrémité 3' par un fluorochrome **suppresseur** (quencher) fluorescent ou non qui inhibe l'émission du reporter lorsqu'ils sont à proximité *(Fig. 19)*. Au cours de la PCR, si la sonde est hybridée sur sa cible, elle est hydrolysée par l'ADN polymérase. Le reporter ainsi séparé du quencher émet un signal proportionnel au nombre de sondes hydrolysées, mesurable au moment de l'élongation[92]**.**

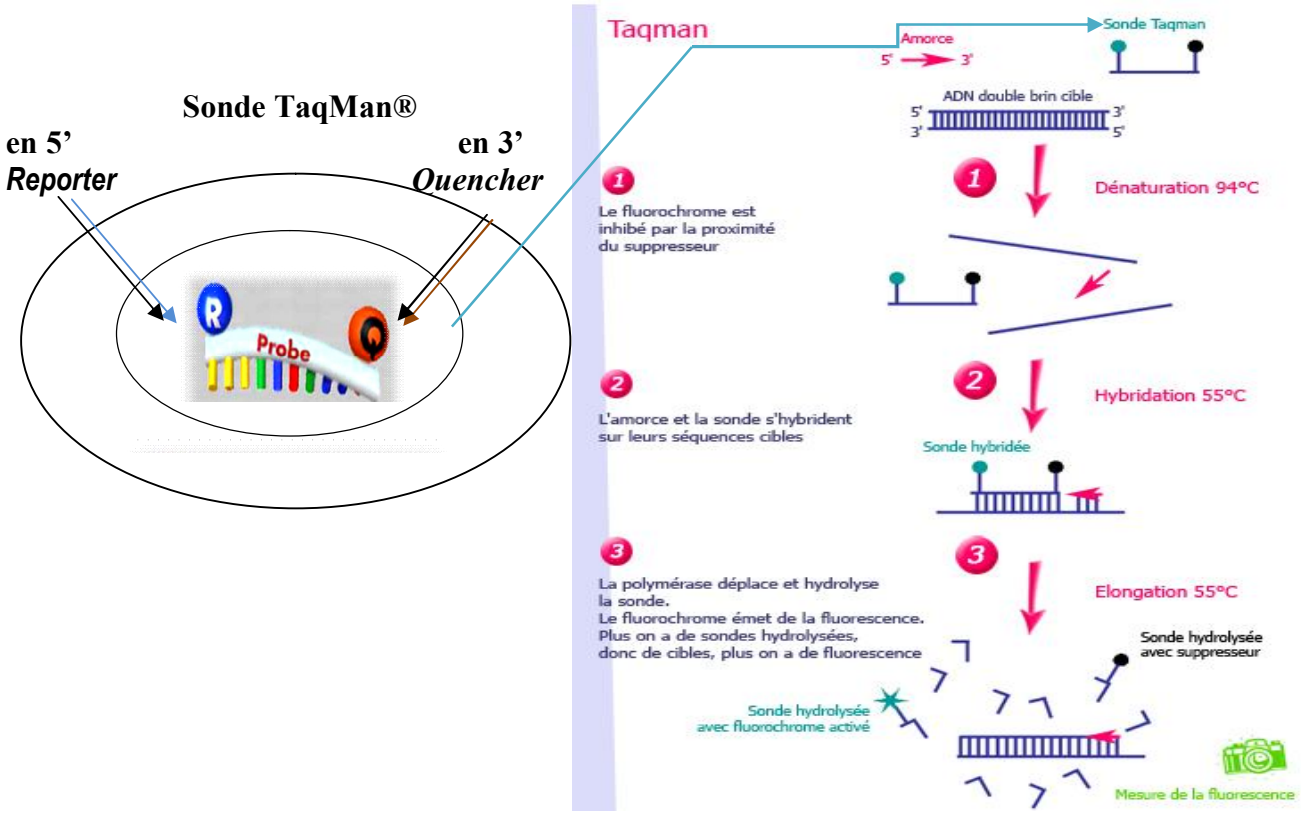


Figure 19. Détection grâce à la Sonde Taqman dans la technique de la RT PCR[92]

III.2.3- Isolement du virus en culture cellulaire

C'est une technique de principe simple mais d'exécution fastidieuse et nécessitant un laboratoire de confinement de haute sécurité L3 à accès contrôlé.

Les principales indications de l'isolement en culture de PBMC sont restreintes[48]

1) aux cas d'infection atypique en ce qui concerne les résultats des examens biologiques, la clinique ou l'épidémiologie dans le cas de variants ou de recombinants non reconnus par les techniques de biologie moléculaire visant à détecter l'ARN viral ou l'ADN proviral.

2) à la mise en place et le suivi de certains essais cliniques pour l'obtention de la souche en vue de l'étude de la sensibilité des souches aux antiviraux.

Le virus est directement recherché soit à partir du plasma, soit à partir des cellules mononucléées sanguines (PBMC) par mise en culture des échantillons préalablement stimulés par la phytohémagglutinine (PHA) en présence de cellules mononucléées du sang d'un donneur sain, qui servent de support pour la multiplication virale.

La multiplication du virus dans cette culture est détectée par l'apparition dans le surnageant de l'antigène p24[18] de l'HIV-1 ou plus universellement par l'apparition d'une activité rétrotranscriptase.

III.3- Cas particulier du dépistage de l'infection du nouveau-né

En l'absence de traitement ARV préventif pour la mère, le risque d'infection de l'enfant est de 15 à 20 % ; un tiers des enfants sont infectés *in utero* alors que deux tiers le sont à la naissance[10, 11, 48].

Aux premiers jours de la vie, il n'existe pas de test de détection des IgM anti-VIH. Le diagnostic de l'infection à la naissance ne peut se faire à partir des analyses sérologiques. L'ELISA pour détection d'anticorps HIV est sans valeur (anticorps HIV maternels transmis persistent jusqu'à l'âge de 15 mois) et l'on doit rechercher le virus soit[1] :

- par PCR ADN dans les PBMC ou RT-PCR ARN dans le plasma
- par isolement du virus à partir du sang de l'enfant nécessitant une coculture avec des lymphocytes d'un donneur séronégatif qui ont été stimulés préalablement 36 à 48 heures avec de la phytohémagglutinine. La réplication virale est révélée par la production d'antigène p24 dans le surnageant des cultures cellulaires.

IV. SUIVI VIROLOGIQUE

Le suivi virologique, auquel s'associent des paramètres biochimiques et hématologiques pour vérifier la tolérance du traitement ARV s'il est présent, joue un rôle primordial dans la prise en charge de l'infection VIH.

Chez le patient traité, il permet d'évaluer l'efficacité du traitement grâce à la mesure de la charge virale et du nombre de lymphocytes CD4 et d'analyser les causes d'un éventuel échec au terme du traitement.

Chez le patient non traité, il permet de déterminer le moment adéquat pour initier un traitement antirétroviral ou la prévention de certaines infections opportunistes[21, 46, 48, 61].

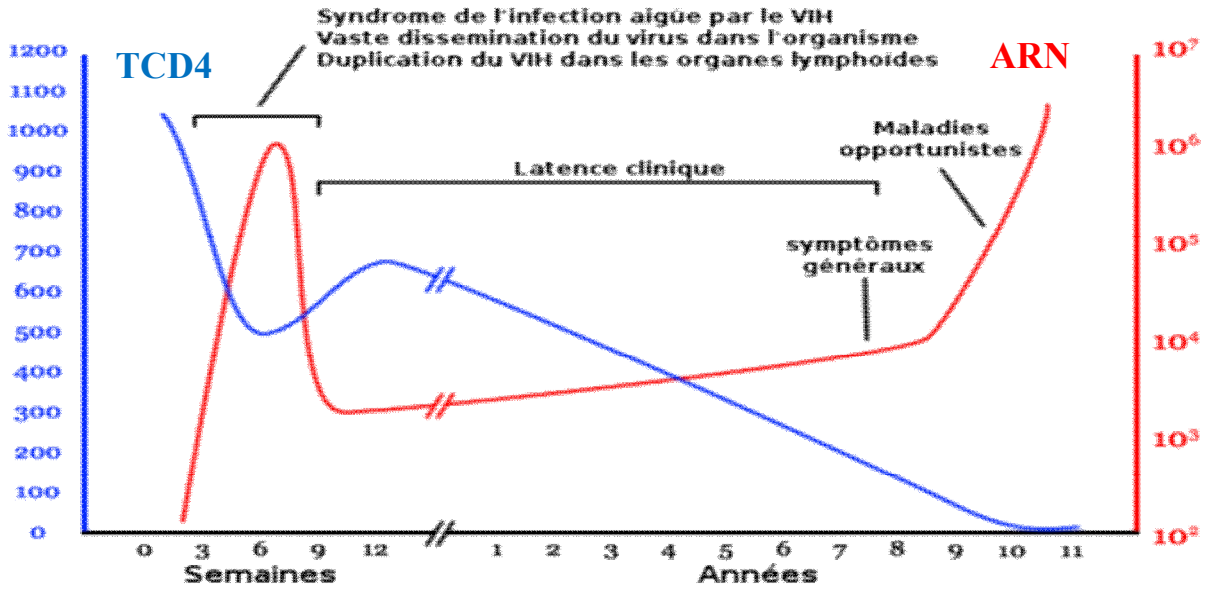


Figure 20. Evolution de la charge virale et des lymphocytes TCD4+ au cours de l'infection du VIH-1[81]

Deux examens virologiques, en complément de la mesure du taux de CD4, sont utilisés pour la prise en charge des personnes infectées par le VIH : la mesure de la charge virale et les tests de résistance aux antirétroviraux[44].

• la charge plasmatique en ARN viral plasmatique, 1 à 4 fois par an en absence de traitement

• la détermination de la sensibilité de la souche aux antiviraux avant mise du TARV en route et en cas d'échec du traitement (charge virale restant ou redevenant élevée).

IV.1- Mesure de la charge virale

La réplication virale a un rôle primordial dans la pathogénie de la maladie. La quantification du virus circulant est, avec la mesure du nombre de lymphocytes CD4 en complément de l'appréciation des signes cliniques, le meilleur marqueur prédictif de la progression de l'infection[18] et renseigne sur la dynamique de multiplication du virus dans le système lymphoïde[99].

Les techniques de biologie moléculaire, permettent de mesurer la charge virale. En effet, la valeur pronostique de ce marqueur de réplication virale s'est avérée chez des patients suivis en moyenne 8 à 10 ans après la séroconversion, le marqueur le plus étroitement associé à une progression clinique, et ceci indépendamment du nombre de lymphocytes CD4 .
Chez les patients traités, il a été montré au cours d'essais thérapeutiques que la diminution initiale de l'ARN plasmatique était le marqueur le plus significativement associé à une diminution du risque de progression clinique[87].

En majorité des tests utilisés pour la quantification de la de la charge virale lors du suivie virologique fait appel à des techniques de PCR en temps réel [63, 64], dont le seuil de quantification est de 20 à 50 copies/ml[47]. L'expression des résultats se fait en nombre de copies d'ARN par millilitre de plasma ou en logarithme (log10) du nombre de copies par millilitre. On considère qu'il y a une variation significative de la charge virale que si cette dernière atteint un facteur de 3 en expression arithmétique ou de 0,5 log10 en logarithmique[62].
Il est important de souligner l'existence d'une corrélation positive entre le taux de détectabilité et le stade de la maladie ou la prise en charge thérapeutique.

Après initiation du traitement, il est recommandé de faire une mesure un mois après pour vérifier la diminution (au moins 1 log) de la charge virale, puis une surveillance régulière tous les trois mois après l'initiation ou le changement d'un traitement antirétroviral. Il est également recommandé de toujours utiliser la même trousse pour l'étude séquentielle des

titres d'ARN plasmatique chez un même patient car il existe des divergences entre les titres lorsqu'un même plasma est analysé par des trousses différentes et d'avoir recours à l'utilisation de tests différents si l'on soupçonne une sous-estimation de l'ARN VIH, tels que :
- un taux de CD4 bas associé à un taux d'ARN VIH bas ;
- un taux d'ARN VIH indétectable chez un sujet non traité ;
- un taux d'ARN VIH bas et l'absence de restauration immunitaire sous traitement[48, 61].
Cette mesure de la charge virale plasmatique sera associée à une quantification du nombre de lymphocytes CD4+ circulants dans le sang.

Il faut noter qu'il y a des difficultés de quantification de certains sous-types VIH-1, par exemple les sous-types non-B, la rareté de tests mesurant de l'ARN VIH-1 plasmatique des groupes O, alors que la quantification des VIH-2 est réalisée dans quelques laboratoires spécialisés[65, 67, 68].

IV.2- Mesure du taux de lymphocytes T CD4

Le taux de CD4 est un paramètre essentiel au suivi de l'infection au HIV[12, 44]. En effet, il reflète l'importance de la destruction du système immunitaire par le VIH.
Le nombre de lymphocytes CD4 est corrélé au risque d'évolution clinique ainsi qu'à la valeur de la charge virale : de très faibles taux de CD4 indiquent un stade avancé de la maladie et une immunodéficience du mécanisme de défense et une charge virale assez conséquente.

Chez les patients infectés par le VIH, la surveillance du taux de lymphocytes T CD4 du sang périphérique permet[94] :
- d'évaluer le degré de détérioration immunitaire et de la progression vers le stade SIDA
- de définir, à l'aide des manifestations cliniques, le moment propice de l'initiation de la prophylaxie des infections opportunistes ou un TARV généralement à partir de moins de 200 lymphocytes CD4/mm3 chez les patients symptomatiques et 350/mm3 chez les patients asymptomatiques.
- d'évaluer l'efficacité thérapeutique

Chez les sujets adultes, on mesure le taux absolu de lymphocytes T CD4 alors que chez les jeunes enfants et les nourrissons la proportion de lymphocytes T CD4 (pourcentage par rapport aux lymphocytes totaux) est plus instructive[99].

Actuellement, on trouve deux catégories de techniques de numération CD4 : les méthodes manuelles et les méthodes automatisées. Les méthodes automatisées comprennent la cytométrie en flux et les cytomètres spécialisés. Les méthodes manuelles regroupent les essais qui nécessitent l'utilisation du microscope ou du lecteur ELISA[94].
En raison de la justesse, de la précision, de la reproductibilité de cette méthode et du grand nombre d'échantillons analysés, la cytométrie de flux est considérée comme la méthode de référence pour la mesure des taux de lymphocytes T CD4.

Principe de la cytométrie de flux

La cytométrie de flux permet l'étude précise de cellules isolées (taille, granularité, complexité interne relative, intensité relative de fluorescence) en suspension dans un flux laminaire liquide. Dans le cadre du suivi de l'évolution de l'infection à VIH, le paramétre contrôlé est le marquage moléculaire de la membrane des lymphocytes (CD4, CD8, CD19, CD3 et cellules natural killer)[95].

Les cellules, alignées les unes derrière les autres et séparées d'au moins 1 mm, défilent à grande vitesse (plus de 30 km/h) devant une source lumineuse qui diffuse soit dans l'axe (laser), soit à 90° ; permettant leur analyse dans un temps très court, de l'ordre de quelques microsecondes.
Les signaux lumineux de diffusion et de fluorescence, obtenus après l'excitation de molécules fluorescentes de la cellule, sont captés par des détecteurs qui les transforment en signaux électriques, traités par un système informatique. L'ordinateur calcule les données statistiques associées aux distributions des paramètres mesurés pour chaque cellule et est ainsi transformée en un " évènement électrique " avec plusieurs coordonnées (taille, granularité, fluorescence 1, fluorescence 2…). Les évènements électriques forment alors des nuages de points (sur des cytogrammes) autour desquels on dessine des fenêtres électroniques.

Les paramètres biologiques sont évalués sur des sous-populations cellulaires, et sont exprimés en pourcentages ou en unités arbitraires (canaux de fluorescence).

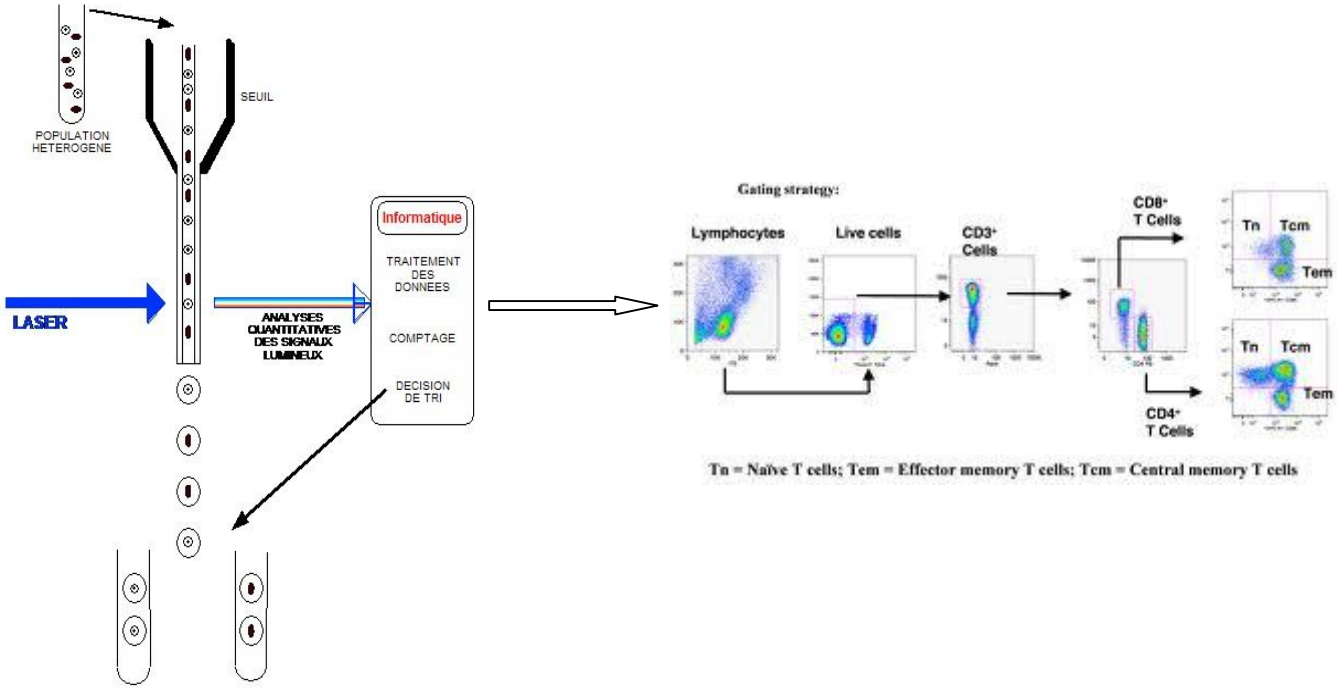


Figure 21. Principe de la Cytométrie en flux[97]

IV.3- Tests de résistance aux ARV

Actuellement, la réalisation de tests génotypiques de résistance aux antirétroviraux par RT-PCR et de séquençage nucléotidique de certaines parties du génome du VIH (pour la détermination du sous-type viral) est recommandée dans le bilan biologique dès le diagnostic de la primo-infection et infection récente, avant l'initiation du traitement, en cas d'échec thérapeutique et dans le suivi et le traitement de femmes enceintes infectées afin d'adapter au mieux le traitement antirétroviral[1,13].

La résistance est liée à l'apparition de mutations dans les gènes codant ces enzymes virales, entraînant une diminution de l'affinité de l'enzyme pour son inhibiteur (ARV) conduisant à une modification de leur sensibilité aux antirétroviraux concernés[86].

Pour tester les résistances aux ARV deux concepts principaux ont été développés[86]:
-la génotypisation à partir des acides nucléiques par séquençage des gènes impliqués (RT et protéase) à la recherche de mutations de résistance
-la phénotypisation fonctionnelle par calcul de la concentration inhibitrice 50 % de l'antiviral testé (CI 50 %) qui n'est pas pratiquée qu'aux laboratoires très spécialisés car fastidieuse.

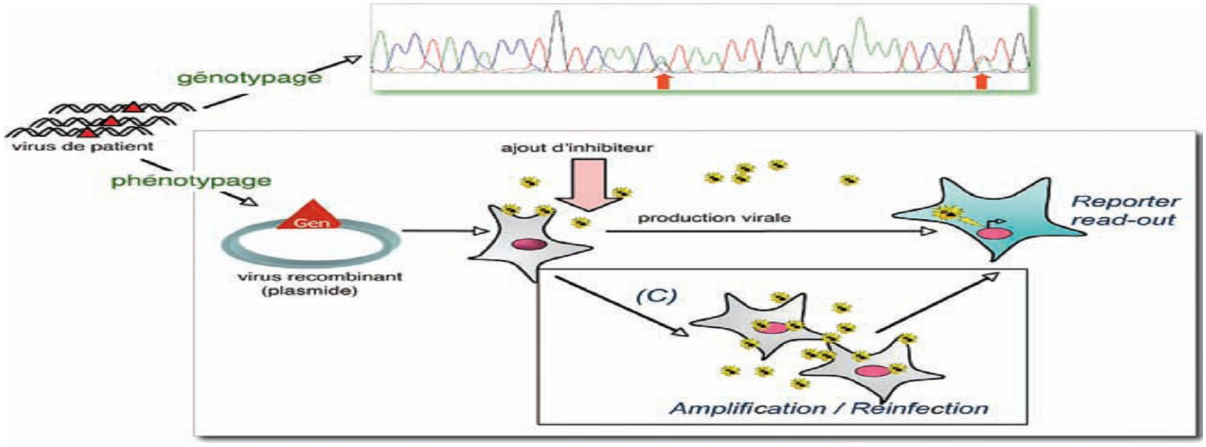


Figure 22. Tests de résistances aux anti-rétroviraux[13].

*La résistance est établie soit génotypiquement, par détermination de sa séquence soit phénotypiquement, par inoculation un virus avec le gène d'intérêt **(triangle rouge)** puis analyse de son action sur des cellules humaines, en présence d'un ARV; parfois après plusieurs cycles de multiplication, dans le cas de systèmes plus sensibles (détour par l'encadré (C)). Grâce à un gène rapporteur présent dans les cellules, on peut lire le résultat ainsi établi au moyen d'un virage de colorant.*

V- THERAPIE ANTIRETROVIRALE

L'objectif du traitement antirétroviral (TARV) est de maintenir le taux d'ARN VIH plasmatique le plus bas possible et le plus longtemps possible (freinage de la charge de viral d'1 log après un mois de traitement et l'indétectabilité de cette charge virale au bout de 6 mois) et de prévenir la diminution de nombre de CD4, sinon de restaurer leur nombre et leurs fonctions chez les patients ayant un déficit immunitaire ; ainsi que d'éviter, par une association de trois antiviraux, l'apparition de résistances, qui est inévitable en cas de monothérapie[96].

Le traitement de l'infection par le VIH repose essentiellement sur les médicaments antirétroviraux qui inhibent la réplication virale à différentes étapes du cycle du VIH. Ils sont virostatiques et ne permettent pas l'éradication du virus. Les familles thérapeutique des molécules actuellement disponibles sont classées en fonction de leur site d'action[96]:

1) les inhibiteurs nucléosidiques de la rétrotranscriptase (INTI) « analogues de nucléosides »
2) les inhibiteurs non nucléosidiques de la rétrotranscriptase (INNTI)
3) les inhibiteurs de la protéase (IP)
4) les inhibiteurs de l'intégrase (IN)
5) les inhibiteurs de fusion (IF)
6) les inhibiteurs d'entrée : « agonistes des corécepteurs »

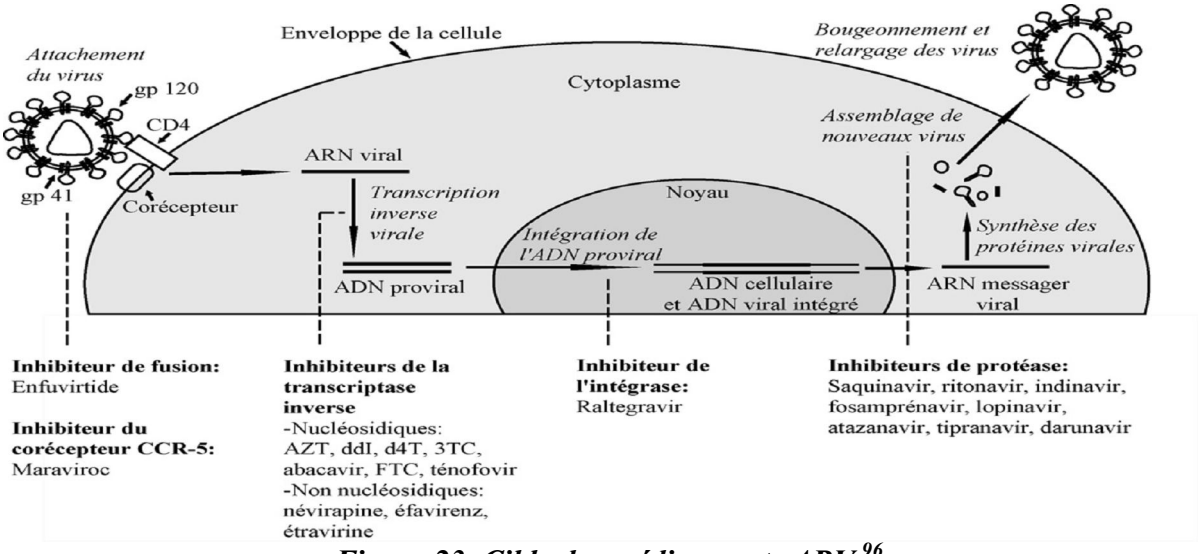


Figure 23. Cible des médicaments ARV [96]

PARTIE PRATIQUE

I. OBJECTIFS DE L'ETUDE

En 2006, l'OMS dans son programme de renforcement des services de santé pour combattre le VIH/SIDA[44] plaidait en faveur d'un plus large accès à des tests de numération des CD4 et de la charge virale plasmatique, ceci dans le but d'aider à la prise en charge de patients séropositifs en situation de ressources limitées. En effet, ces deux paramètres biologiques restent jusqu'à aujourd'hui les meilleurs marqueurs de l'évolution de la maladie vers le stade SIDA et permettent ainsi l'identification et l'indication du moment opportun pour initier le traitement ARV.

Mais encore, certaines études récentes établissent que l'interprétation des résultats du test de confirmation WB peut être considérée comme un outil prédictif du stade clinique de l'infection à VIH, essentiellement au stade précoce ou au stade très évolué de l'infection; en rapportant que le suivi de la charge virale n'est pas réalisable à un usage à grande échelle dans un cadre de santé publique. Ces études suggèrent néanmoins de corréler les résultats WB à une classification combinant les données cliniques et le statut immunitaire des sujets malades[104].

Notre travail qui a été réalisée au niveau du Laboratoire de virologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V de Rabat a pour objectif principal d'étudier le caractère d'interprétabilité interdépendante entre les différents tests de diagnostics du VIH et d'en déterminer la valeur prédictive qu'un test facilement réalisable, dans un contexte où il serait le seul accessible, qu'il aurait sur les paramètres des autres tests en cas de leur inaccessibilité pour le suivi des patients séropositifs.

Autrement dit, il s'agit de déterminer la corrélation qui existerait entre les résultats des différents outils de diagnostic du VIH : test de confirmation réalisée par la technique WB, la mesure charge virale réalisée par la RT PCR, le dénombrement de CD4 réalisé par la Cytométrie de flux et l'évaluation clinique des patients.

Ensuite, il est question de matérialiser concrètement la variabilité du spectre de bandes positivées par la technique Western Blot et d'en interpréter la significativité par rapport aux résultats des différents paramètres biologiques et cliniques liés à l'infection du VIH.

II. PATIENTS ET METHIODES

II.1. Patients

Nous avons mené une étude transversale au laboratoire de virologie de l'HMIMV de Rabat, portant sur 128 patients recrutés au niveau des différents services de cet hôpital entre Janvier 2008 et Juin 2011.

Critères d'inclusion :

Ces patients devraient avoir une sérologie VIH positive réalisée par technique ELISA (ELISA BEP® 2000) et confirmée par le test WB (HIV Blot 2.2 et INNO-LIA ® HIV Innogenetics). Ils devraient avoir la mesure de la charge virale ainsi que la quantification des taux de CD4.

Pour l'interprétation des résultats du test WB, nous avons utilisé les critères de l'OMS. Les résultats de la charge virale sont exprimés en nombre de copies d'ARN viral par ml et les résultats du taux de CD4 sont exprimés en nombre absolue (nombre de CD4 /µl) et en pourcentage.

Les données anthropométriques, cliniques, biologiques et l'évolution de la maladie ont été recueillies auprès des dossiers médicaux des patients.

II.2. Méthodes

Le diagnostic virologique du VIH au niveau du Laboratoire de virologie de HMIMV de Rabat suit un protocole d'analyse bien soigné consistant en deux phases : la phase pré-analytique et la phase analytique.

La phase pré-analytique englobe la totalité des actes réalisés entre la prescription de l'analyse par le médecin et la réalisation du test par le technicien : prélèvement sur le patient, choix du

tube, enregistrement, centrifugation, conservation). C'est une étape très importante car elle conditionnera la réussite de l'étape analytique.

La phase analytique qui est la phase de diagnostic proprement dit consiste d'abord en un test de dépistage réalisé par technique ELISA. Si celle-ci est positive, on réalise un deuxième test ELISA sur l'échantillon conservé. On aura recours, en cas d'une deuxième positivité de l'ELISA, à la confirmation par WB sur un deuxième prélèvement. La charge virale et le taux des CD4 se font à la demande du médecin traitant.

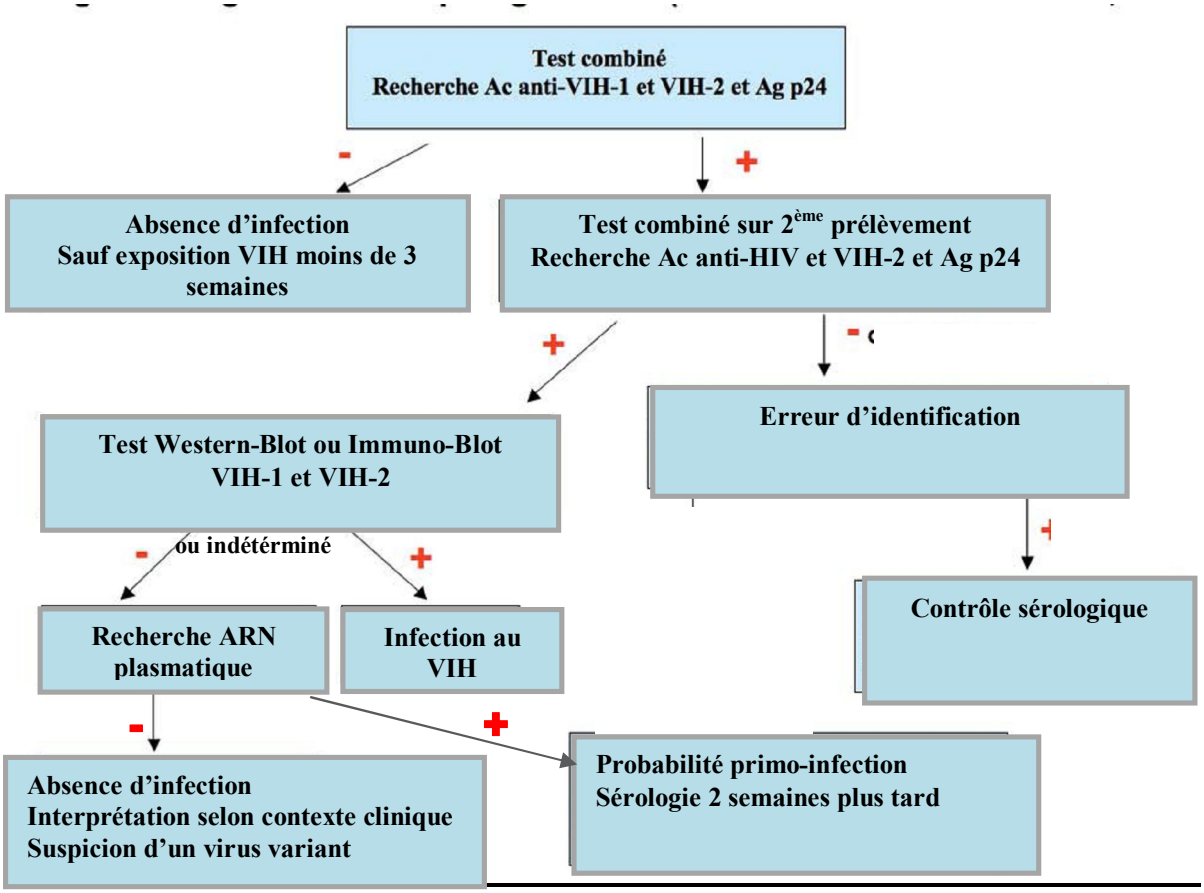


Figure 24. Algorithme de diagnostic du VIH au Laboratoire de virologie de l'Hôpital Militaire d'Instruction Mohamed V de Rabat

Nous avons suivi le même protocole au cours de notre étude en procédant en :

- une détermination du statut sérologique au VIH (dépistage) par ELISA

- une confirmation de la positivité au VIH par Western Blot
- une détermination de la charge virale par RT PCR
- une numération du nombre de CD4 par Cytométrie de Flux

II.2.1. Test de dépistage

Le test de dépistage au Laboratoire de virologie de HMIMV de Rabat est réalisé sur un automate BEP® 2000 de Siemens utilisant les kits « Enzygnost^R HIV Integral II ou Biorad»
Il s'agit d'un test immunoenzymatique pour la détection qualitative d'une infection à VIH basée sur la mise en évidence dans le sérum ou le plasma humain de l'antigène VIH p24, des anti-corps anti-virus de classe 1 et 2.

- **Principe de la méthode :**

Les anticorps spécifiques du VIH présents dans l'échantillon à tester se lient aux protéines recombinantes et peptides synthétiques VIH1 et VIH2 fixés à la surface de la plaque de microtitration. Simultanément, l'antigène VIH p24 présent dans l'échantillon peut se fixer aux anti-corps anti VIH p24 monoclonaux également fixés dans les cupules de la plaque.
Après élimination des éléments non liés de l'échantillon, une deuxième étape permet de marquer les anti-corps spécifiques liés aux peptides synthétiques VIH1, VIH2 et VIH1 sous-type O conjugués à la biotine. Simultanément l'antigène VIH lié est marqué par l'anti-corps monoclonal anti VIH p24 conjugué à la biotine (techniques sandwich anti-corps) .
Après élimination de l'excès de conjugué à la biotine non liés, et dans la troisième étape, le conjugué 2 POD (peroxydase) réagit avec les conjugués à la biotine spécifiques, liés à la phase solide. Après élimination du conjugué 2 on mesure la réaction enzymatique du conjugué lié (réaction colorée bleue). La transformation enzymatique du chromogène est interrompue par l'addition de la Solution d'arrêt POD (réaction colorée jaune). L'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration d'anticorps anti VIH et de l'antigène VIH p24 dans l'échantillon.

- **Protocole :**

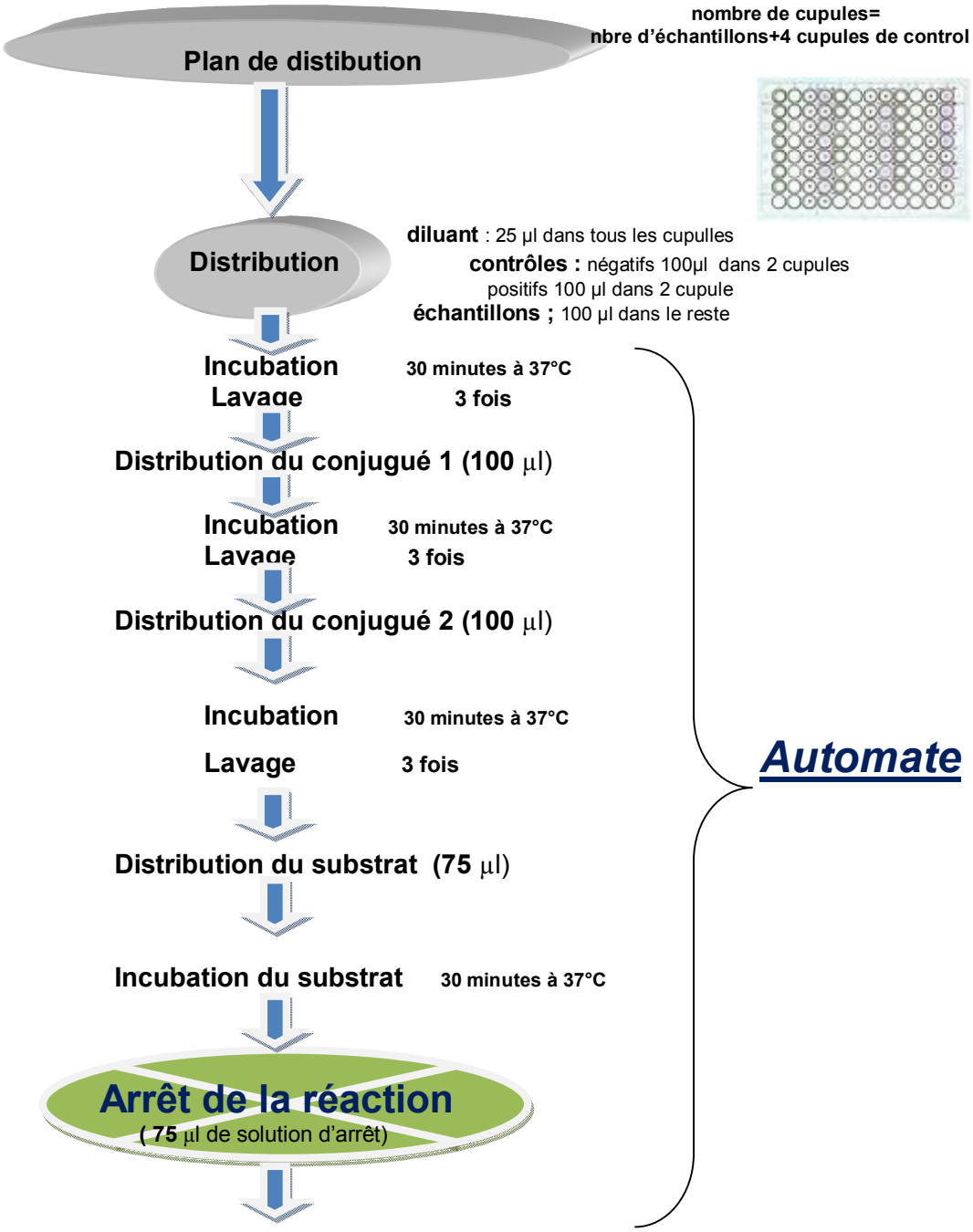

nombre de cupules=
nbre d'échantillons+4 cupules de control
Plan de distibution
Distribution
diluant : 25 µl dans tous les cupulles
contrôles : négatifs 100µl dans 2 cupules
positifs 100 µl dans 2 cupule
échantillons ; 100 µl dans le reste
Incubation 30 minutes à 37°C
Lavage 3 fois
Distribution du conjugué 1 (100 µl)
Incubation 30 minutes à 37°C
Lavage 3 fois
Distribution du conjugué 2 (100 µl)
Incubation 30 minutes à 37°C
Lavage 3 fois
Distribution du substrat (75 µl)
Incubation du substrat 30 minutes à 37°C
Arrêt de la réaction
(75 µl de solution d'arrêt)
Automate

Figure 25. Etapes de la technique ELISA réalisée sur l'automate BEP® 2000

- **Validation du test**

Les critères suivants doivent être remplis pour valider le test :
-0,010 ≤D.O.neg. ≤0,200
0,500≤D.O.pos. ≤2,600
D.O.neg. <valeur seuil

- **Résultats du test**

D.O.échanillon < valeur seuil ➡ *résultat négatif (pas de changement coloration)*
D.O.échanillon > valeur seuil ➡ *résultat positif (coloration jaunatre)*

II.2.2. Test de confirmation par Western Blot

Un échantillon positif au test de dépistage est systématiquement confirmé au Laboratoire de virologie de HMIMV de Rabat par le test WB INNO-LIA ® HIV. Il s'agit d'un test immuno-enzymatique qualitatif réalisé sur bandelette destiné à la détection des anticorps dirigés contre le virus du VIH-1 /2 dans le sérum humain. Il permet également la différenciation entre les infections dues à VIH-1 ou VIH-2.

- **Principe de la technique**

Des protéines recombinantes et des peptides synthétiques HIV-1 et HIV-2 sont fixés sous formes de fines bandes sur une bandelette de nylon adhérant à un support plastique.
Cinq antigènes HIV-1 sont fixés : GP120, GP41, p31, p24, p17 et cinq autres du HIV-2 : GP36, GP105, p31, p24, p17 pour la détection des anticorps HIV-1 /2. Egalement quatre bandes de contrôle sont fixées sur chaque bandelette.

L'échantillon à tester est incubé dans un compartiment avec une bandelette sensibilisée avec l'ensemble des antigènes ci-haut cités. Les anticorps anti VIH éventuellement présents dans l'échantillon vont se lier aux différentes bandes d'antigènes HIV fixées sur la bandelette. Ensuite, un conjugué anti-anticorps humains d'origine caprine couplé à la phosphatase alcaline est ajouté et se fixe au complexe antigène-anticorps précédemment formé. L'incubation avec le substrat de l'enzyme produit une couleur marron dont l'intensité est proportionnelle à la quantité d'anticorps anti-VIH liés aux bandelettes d'antigènes. Le développement de la coloration est arrêté par addition de l'acide sulfurique.

En absence d'anticorps anti-VIH, l'anticorps anti-humain marqué ne pourra se fixer à aucun complexe antigène –anticorps.

- **Protocole du test**

Prendre une quantité requise de compartiments, tenant en compte que pour chaque série un contrôle négatif et un contrôle positif doivent être effectués. Identifier chaque compartiment pour les contrôles et les échantillons, et le placer dans le support.

Ajouter 1 ml de **Diluant Echantillon** à chaque compartiment.

Ajouter 10 µl de l'échantillon

↓

Retirer la quantité requise de **Bandelettes LIA** et placer une bandelette par compartiment (la bandelette doit être complètement immergée)

↓

Incuber sous agitation pendant une nuit à température ambiante.

Laver chaque bandelette 3 fois 5 minutes avec 1 ml de **Solution de lavage**

Ajouter 1 ml de **Conjugué** à chaque compartiment puis incuber sous agitation pendant 30 minutes à température ambiante

Laver chaque bandelette 3 fois 5minutes avec 1 ml de **Solution de lavage**

Ajouter 1 ml de **Substrat** à chaque compartiment

Aspirer. Ajouter la **Solution d'arrêt** à chaque compartiment. Incuber sous agitation pendant 10 minutes à température ambiante

↓

Retirer les bandelettes puis les placer sur un papier absorbant ou accélérer le séchage par un sèche-cheveux et observés les résultats aussi tôt que les bandelettes sont sèches.

- **Validation du test**

-La bandelette de contrôle positif doit présenter un score au moins égal à 1+ pour les bandes GP120, GP41, p31, p24, p17
-Toutes les bandes d'antigènes HIV de la bandelette Contrôle négatif doivent être négatives (absence de réactivité)

-Les bandes de contrôle + /- doivent être visibles sur toutes les bandelettes**.**

- **Résultats du test**

	Profil
Positif	**2 ENV ± GAG ± POL ou 1 ENV + 2 GAG ou 1 ENV + 2 POL ou 1 ENV + 1 GAG + 1 POL**
Indéterminé	**1 ENV ± GAG ou 1 ENV ± POL ou GAG + POL ou GAG ou POL**
Négatif	**Aucune bande ou bandes non répertoriées ± p17**

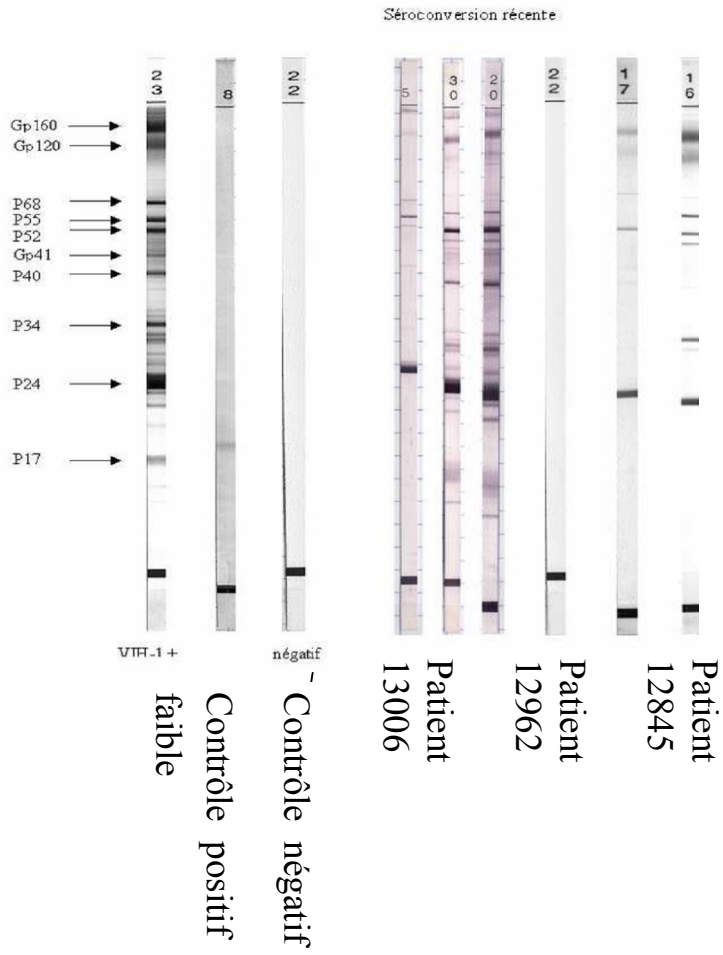


Figure 26.

Exemple de réactivité des bandelettes WB pour le VIH-1

II.2.3. Test de quantification de la charge virale par RT PCR

Lors du suivi des patients séropositifs, la mesure de la charge virale est réalisée par le Test COBAS TaqMan® HIV-1 de Roche Diagnostics, destiné à être utilisé en complément au tableau clinique et d'autres marqueurs indiquant l'évolution de maladie en vue du traitement des patients atteints par le VIH1.Il permet d'évaluer le pronostic du patient en déterminant le niveau de base d'ARN viral ou d'examiner les effets du traitement antirétroviral en fonction du changement des taux de plasma en ARN du virus.

Le Test COBAS TaqMan® HIV-1 n'est utilisé comme test ni de dépistage du VIH-1 ni de diagnostique pour confirmer la présence d'une infection à VIH-1.

- **Principe de la technique**

Le Test COBAS TaqMan® HIV-1est un test d'amplification de l'acide nucléique, qui fait la mesure quantitative de l'ARN du VIH-1 dans le plasma humain. Le test permet la préparation automatique des échantillons, des contrôles et des standards de quantification (QS) suivie de transcription inverse, d'amplification par PCR et de détection de l'ARN cible du VIH-1. Le mélange réactionnel contient des amorces et des sondes spécifiques à la fois de l'ARNviral et du QS du VIH-1. La détection de l'ADN amplifié est réalisée par l'utilisation des sondes oligonucléitidiques doublement marqués spécifiques de la cible et du QS permettant l'identification indépendante des amplicons du VIH-1 et du QS du VIH-1.
Le QS est ajouté à chaque échantillon dans toutes les étapes de préparation, de transcription inverse, d'amplification par PCR et de détection. L'analyseur COBAS TaqMan® calcule les concentrations de l'ARN du VIH dans les spécimens à doser en comparant le signal émis par le VIH-1 au signal émis par le QS du VIH-1 pour chaque spécimen et chaque témoin.

- **Réactifs et consommables utilisés**

  -Cassette de réactifs de particules magnétiques VHI-1 *:* particules de verre magnétique à 90% d'isopropanol.
  -Cassette de réactifs de lyse : dihydrate de citrate de sodium, thiocyanate de guanidine, polydocanol, dithiothréitol.
  -Cassette de réactifs spécifiques au test VIH-1 : standard de quantification du VIH-1, solution de manganèse, mélange réactionnel.
  -Témoins positifs : séquences non infectieuses du VIH-1.
  -Témoins négatifs : plasma négatif humain.
  -Réactifs de lavage COBAS TaqMan® HIV-

- **Réalisation du test**

1. **Préparation des échantillons : réalisée sur l'automate Cobas AmpliPrép.** Le test recours à l'aide d'une technique générique de capture basée sur la silice. Il s'agit de l'extraction de l'acide nucléique et préparation du mélange réactionnel qui se font au niveau de Cobas AmpliPrép.

   Avec 850 µl de plasma, les particules de VIH-1 sont lysées grâce à une protéase et d'un tampon de liaison qui libèrent les analyses et protège l'ARN VIH-1 contre les RNAses du plasma. La protéase et une quantité de QS du VIH-1 sont introduites dans

chaque échantillon avec le réactif de lyses et des particules magnétiques en verre. Ensuite le mélange est incubé et l'ARN VHI et l'ARN QS du VIH se lient à la surface des particules magnétique en verre. Les particules non liées son retirées par lavage comme ça les acides nucléiques sont élués par une solution aqueuse. Les échantillons ainsi préparés sont ajoutés au mélange d'amplification et transférés dans l'analyseur COBAS TaqMan où la suite sera réalisée.

2. **Transcription inverse :** La transcription inverse est effectuée grâce à un ADN polymérase recombinante en présence de manganèse et sous de conditions de tampon appropriées. Le mélange réactionnel est chauffé pour permettre à l'amorce antisens de s'hybrider spécifiquement à l'ARN VIH-1 et à l'ARN du QS du VIH-1 en présence de Mn2+ et d'un excès de déoxynucléotides triphosphates (Adenosine, Guanosine, Cytidine, Uridine, Thymidine)

3. **Amplification :** l'amplification est assurée par l'ADN polymérase et grâce à l'utilisation de l'enzyme **AmpErase® et de déoxyuridine triphosphate.** L'AmpRase reconnait et catalyse la destruction des brins d'ADN contenant de la désoxyuridine mais non pas le brin contenant de la désoxythymidine. Le thérmocycleur des analyseurs COBAS TaqMAn® chauffe le mélange réactionnel afin de dénaturer l'hybride ARN :cADN et d'exposer les séquences cibles de l'amorce spécifique. Pendant que le mélange refroidit les amorces s'hybrident à l'ADN cible. L'analyseur COBAS TaqMan répète automatiquement cette opération pendant un nombre défini de cycles, chaque cycle doublant effectivement la quantité d'amplicons ADN.

4. **Détection :** L'utilisation des sondes fluorescentes **(Sondes TaqMan®)** permet la détection en temps réel de l'accumulation des produits de la PCR par la mesure de l'intensité de l'émission de fluorophores rapporteurs libérés durant la procédure d'amplification. La fluorescence s'opérant au moment où le fluorophore rapporteur et le fluorophore quencher se séparent et sont libérés lors de l'extension pendant de la transcription-amplification (voire principe de la PCR en temps réel) ;

Les deux appareils sont gérés par un ordinateur équipé d'un logiciel simplifiant le travail des différentes étapes : AMPLILINK® 3.0.

- **Résultat :**

Plus le titre du VIH-1 d'un échantillon est élevé, plus tôt la fluorescence du fluorophore rapporteur de la sonde VIH-1 dépasse le niveau de fluorescence de base. La concentration est ajustée en conséquence dans les échantillons. Et l'appareil donne la quantité de charge virale calculé sur le maximum (plateau) de la courbe de l'évolution de la charge virale du patient sur fiche logarithmique **(3.7E+5copies/mL dans notre exemple ; voir Fig. 27)**.

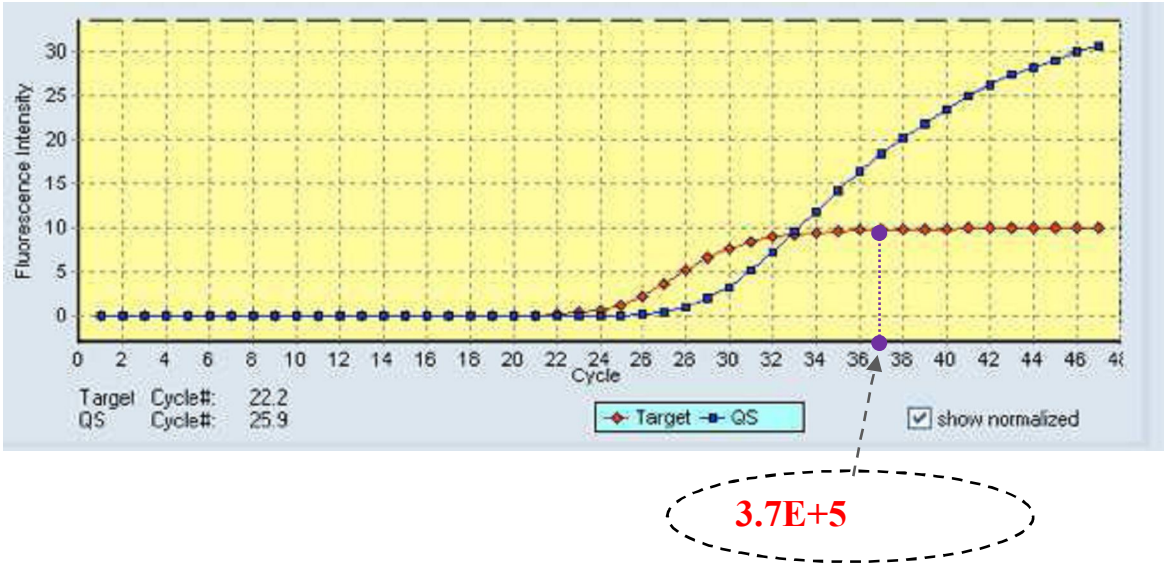


Figure 27. Exemple d'une fiche logarithmique* des résultats de la Charge virale VIH-1

-(log 10 = copies/mL)*

- La courbe en rouge représente l'évolution de la charge virale du patient (Target) et celle en bleu le standard de quantification interne (QS)

II.2.4. Test de mesure du taux des CD4

La détermination du taux de CD4 par la technique COULTER EPIC XLTM se fait grâce à une méthode dite directe faisant intervenir de fluorosphères « Flow-Count (sous forme de suspension de billes fluorescentes) » permettant la détermination directe des valeurs absolues et des pourcentages des populations lymphocytaires et des sous-populations dans le sang périphérique.

- Principe

L'utilisation du Flow-Count Fluorospheres (méthode directe) est une alternative à la méthode standard (indirecte) de calcul des valeurs absolues et fournit cette mesure en utilisant directement la plate-forme unique d'analyse d'immunophénotypage cytométrique en flux.
Lorsque les volumes de l'échantillon biologique et de Flow-Count Fluorospheres sont identiques, un rapport entre le nombre de cellules de l'échantillon et les fluorosphères est établi. Les cellules d'intérêt et les fluorosphères sont ensuite comptées sur EPICS XL/XL-MCL.
Puisque la concentration de fluorosphères est connue, la valeur absolue des cellules peut être déterminée grâce à la formule suivante :

$$\text{Valeur Absolue (Cellules/}\mu\text{L)} = \frac{\text{Nombre Total de Cellules Comptées}}{\text{Fluorosphères total comptées}} \times \text{Fluorospheres total testés}$$

- Réactifs

Les Flow-Count Fluorospheres se composent de fluorosphères en polystyrène de 10 µm (diamètre nominal) en suspension dans un milieu aqueux contenant un surfactant et du formaldéhyde à 1 %. Chaque fluorosphère contient un marquage présentant une plage d'émission de fluorescence de 525 nm à 700 nm lorsqu'il est excité à 488 nm.

- Réalisation du test

***Préparation des échantillons:**

Les fluorosphères Flow-Count sont utilisées directement, telles quelles, sans dilution. Un mélange adéquat (vortexer 10 à 12 secondes) est néanmoins nécessaire avant pipetage dans le flacon. Les échantillons préparés avec ajout de Flow-Count
Fluorospheres sont stables pendant 2 heures ou moins.

***Analyses hématologiques:**

Les prélèvements sanguins ont été réalisés sur des tubes EDTA. Ils sont conservés à température ambiante et acheminés le plus rapidement possible au laboratoire de virologique. La numération sanguine est faite sur le BECKMAN-COULTER.

La valeur absolue des leucocytes donnée par l'automate est utilisée ensuite pour le calcul des valeurs absolues des sous-populations lymphocytaires séparées en cytométrie en flux. Une formule leucocytaire est systématiquement faite pour vérifier le taux de lymphocytes périphériques.

*** Analyse cytométriques :**

Pour les analyses en cytométrie en flux nous avons utilisé un cytomètre EPICS XL (BECKMAN-COULTER) avec un laser Argon (Excitation à 488 nm).

Pour réaliser un double marquage nous avons utilisé les opticlones (BECKMAN COULTER) contenant en même temps deux anticorps monoclonaux directement marqués, l'un à la fluorescéine (FITC), l'autre à la phycoérythrine (PE).

La technique utilisée est la méthode de l'immunofluorescence directe : après lyse des globules rouges par une solution hypotonique, un volume de 20µl de chaque anticorps est ajouté à 100 µl de sang total ajusté à 5000/mm3, puis incubé pendant 20 minutes à l'obscurité et à 4°C. Une fois l'incubation terminée. Les cellules sont prêtes à l'analyse après passage dans l'automate IMMUNOPREP qui permet de faire automatiquement une lyse des globules rouges.

Le panel utilisé pour ces bilans immunitaires est l'un des panels recommandés par le CDC (Centers for Disease Control) [98]. Les cellules T sont définies par l'expression du CD3. Pour les sous-populations lymphocytaires T, seules les cellules doublement marquées sont considérées comme positives, c'est-à-dire les cellules CD3/CD4+ pour les cellules T4 et les cellules les CD3+CD8 pour les cellules T8.

- Etapes de cytométrie en flux :

1. Se munir du tube contenant l'échantillon préparé.

2. Vortexer Flow-Count Fluorospheres pendant 10 à 12 secondes, tout en évitant tout mélange excessif pour minimiser la formation de bulles d'air.

3. Ajouter 100 µl de Flow-Count Fluorospheres dans le tube

4. Vortexer le tube à 50 % de sa hauteur pendant 5 secondes. Vortexer de nouveau immédiatement avant l'analyse en cytométrie en flux.

5. Vérifier que le cytomètre en flux est correctement aligné et standardisé pour la diffraction laser et l'intensité de fluorescence, et que la compensation de couleur est ajustée.

6. Créer un histogramme bi-paramètrique à deux paramètres puis tracer un contour d'intérêt rectiligne autour de Flow-Count Fluorospheres et le nommer sous l'appellation "CAL".

7. Entrer la concentration de Flow-Count Fluorospheres indiquée sur la feuille de valeur cible.

III. RESULTATS

III.1- Résultats obtenus

III.1.1- Caractéristiques anthropométriques des patients

Notre étude a porté au total sur 128 patients dépistés positifs durant une période allant de Janvier 2008 à Juin 2011, l'infection à VIH ayant été confirmée par la technique WB grâce à deux Kits de réactifs se commutant au cours au de la période de l'étude.: le Kit New LAV Blot I et le Kit de INNO-LIA SCORE HIV I/II.

L'âge des patients variait entre 4 et 62 ans avec une moyenne de 37 ans et dont 76% sont âgés de plus de 30 ans soient 90 patients et 3% seulement âgés de moins de 20 ans. On note une prédominance masculine avec 92 hommes et 36 femmes, le sexe ratio homme/femme (H/F) = 2,62. La figure 30 résume la répartition des patients selon la tranche d'âge.

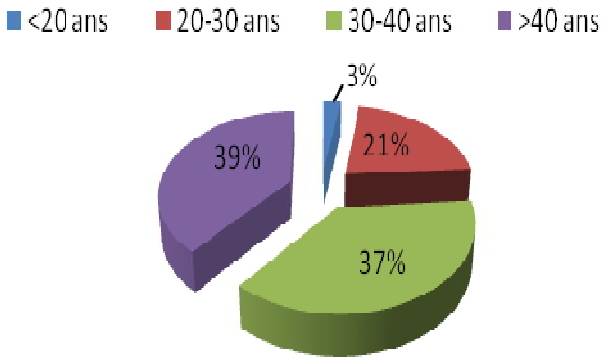


Figure 28. Répartition des patients par tranche d'âge

Les patients recrutés étaient à 82% (104/127) des nationaux et la part des étrangers était de 18% (23/127). La majorité de nos patients, soit 98 % (124/128) présentaient une infection au VIH 1 tandis que 2 % (3/127) avaient une infection au VIH 2. Nous avons notifié deux cas de coïnfection VIH-1 et VIH-2.

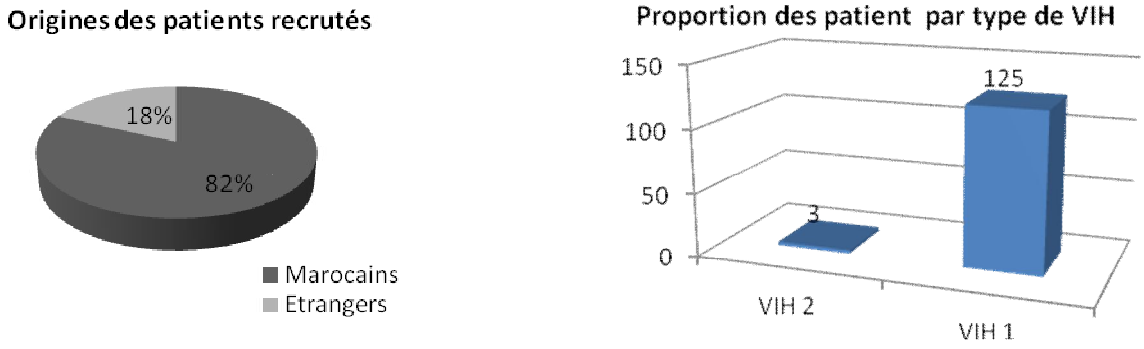


Figure 29. Pourcentage par origines des patients et proportions par type de VIH

Les patients diagnostiqués étaient suivis principalement au service de dermatologie soient 63/128 patients et au niveau des consultations externes soient 16/128 patients tandis que le service de Neurologie, de Chirurgie viscérale et de Radiologie n'ont reçu qu'un patient chacun durant la période de l'étude. La Figure 32 résumé la répartition des patients selon le service d'admission.

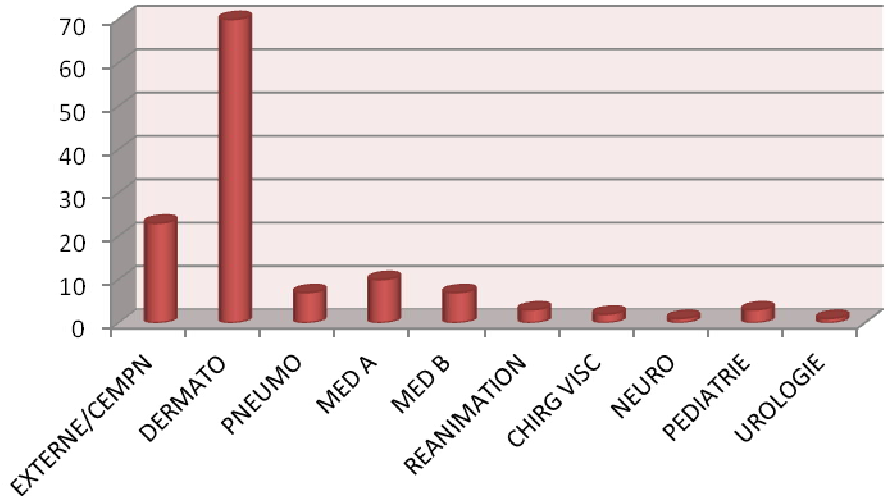


Figure 30. Répartition des patients recrutés dans les différents services

III.1.2- Résultats de la confirmation par Western Blot

Pour la confirmation par la technique WB, nous avons utilisé les critères de positivité recommandés par l'OMS (voir Tableau IV).

Une série de tests de confirmation WB (69 tests) a été réalisée par le Kit « New LAV Blot I » de Biorad dont les bandes réactivables sont : **GP160, GP120, GP41, P66, P55, P52, P39, P34, P24 et P17**.

L'autre série (59 tests), le premier kit de réactifs ayant été épuisé, a été réalisée par un autre kit de réactifs « INNO-LIA SCORE HIV I/II Innogenetcis » permettant une immunoréactivité positive des protéines du VIH-2 simultanément à la réactivité des protéines du VIH-1 soient : **GP120, GP41, P34, P24, P17, GP105 et GP36**. Les deux dernières bandes concernent le VIH-2.

Selon les critères de positivité recommandés par l'OMS, 119 (93%) échantillons étaient positifs, alors que 9 échantillons avaient un profil indéterminé. Parmi les échantillons positifs, la majorité présentaient un profil incomplet (PIC) 49,2% (63/128) tandis que les patients

présentant un profil complet (PC) étaient de 43,8% (56/128). Nous avons eu 9 cas de profil indéterminé (PI), soit 7%.

Sur les 9 patients ayant présenté un PI, six étaient étrangers (Sub-saharien) et cinq étaient de moins de 30 ans (25 ans de moyenne d'âge).

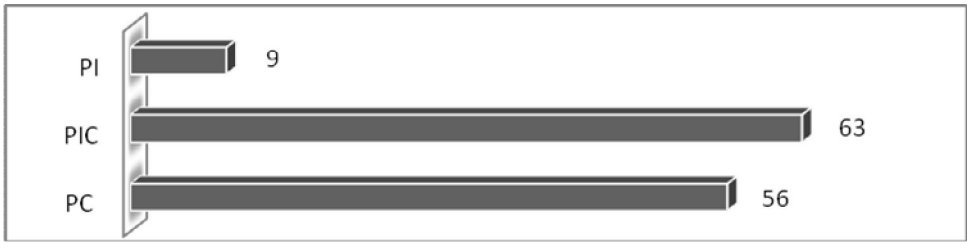


Figure 31. Nombre de patients en fonction de profils WB

Les résultats de la première série (69 échantillons) réalisée par le kit New LAV Blot I ont montré que la bande P39 manquait le plus. Elle n'a été positivée que dans 49,9% des cas (34/69). Par contre, la GP160, la P66, la GP120 et la P24 sont les plus présentes, respectivement de l'ordre de 97% (66/69), 95,6% (65/69), 92,6% (63/69), 92,6% (63/69) des cas.

Pour la seconde série (59 échantillons), le kit WB INNO-LAV HIV I/II SCORE a montré ; d'une part, que la protéine P17 n'était présente que 57,6% (34/59) des cas, alors que la protéine GP120 était présente dans 96,6% (57/59), la GP41 dans 91,5%(54/59) et la P24 dans 88,1%(52/59) des cas. Par ailleurs, ce kit a permis de confirmé trois cas d'infection au VIH-2. La figure 34 décrit la répartition des résultats du WB selon les bandes réactivées.

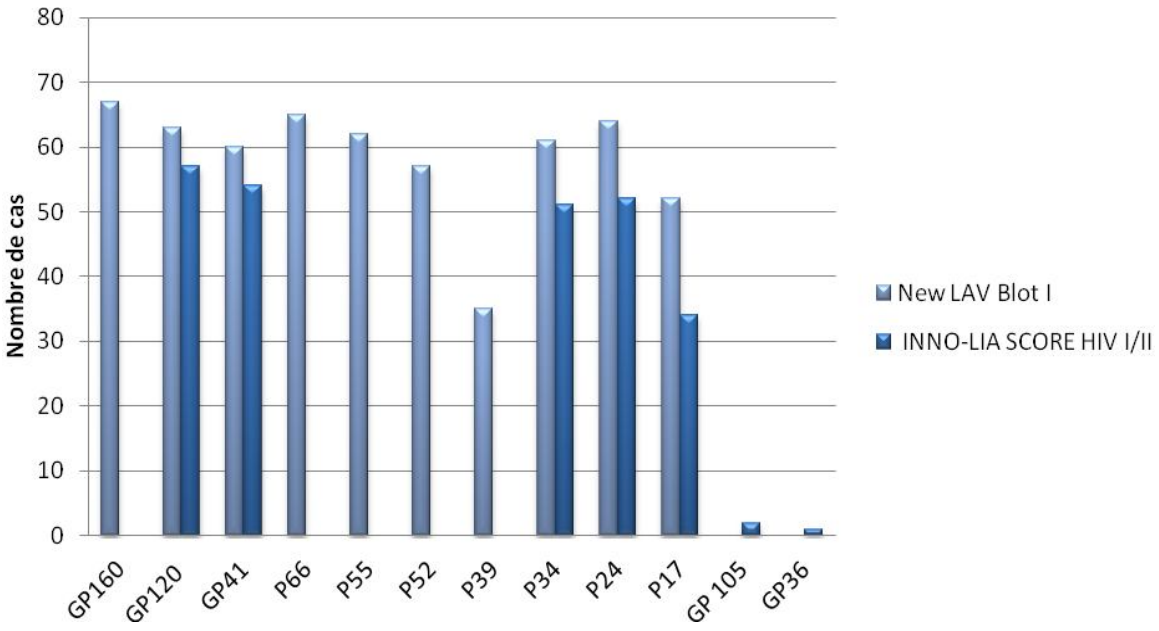


Figure 32. Nombre de cas en fonction des bandes positivées

Les résultats WB des deux séries de tests, une fois mis ensemble, montrent que la bande du GP 160 est la plus présente 97,1% suivie de la bande P66, GP120 et la P24 tandis que les bandes les moins fréquentes sont la P39 et la P17, pour la confirmation du VIH-1. Concernant le VIH-2 la bande GP105 représente le taux le plus élevé, soit 2/3 cas.

III.1.3- Résultats de la quantification de la Charge virale

Comme le stipule l'algorithme des tests pratiqués lors du diagnostic virologique du VIH (*Fig.24)*, après la confirmation par la technique WB, nous avons réalisé la quantification de la charge virale sur 107 patients en utilisant la technique de la RT PCR en temps réel sur le système COBAS AmpliPrép/COBAS TaqMan®.

Les résultats obtenus, montrent que 102 cas étaient positifs avec un nombre élevé de patients ayant une CV supérieure à 100 000 copies/ml [45,8% (49/107)], suivie de ceux avec une CV comprise entre 100 000-10 000 copies/ml [39,3% (42/107)], alors que les patients ayant une CV inférieure a 10 000 copies/ml ne représente que 10.3% (11/107). Le nombre de cas où la charge virale était inférieure au seuil de détectabilité c'est-à-dire <40 copies/ml est de 4.6% (5/107). (Figure 35)

Sur les 5 patients ayant présenté une CV<40 copies/ml, 4 sont étrangers (Sub-saharien) et cinq sont de moins de 30 ans (25 ans de moyenne d'âge).

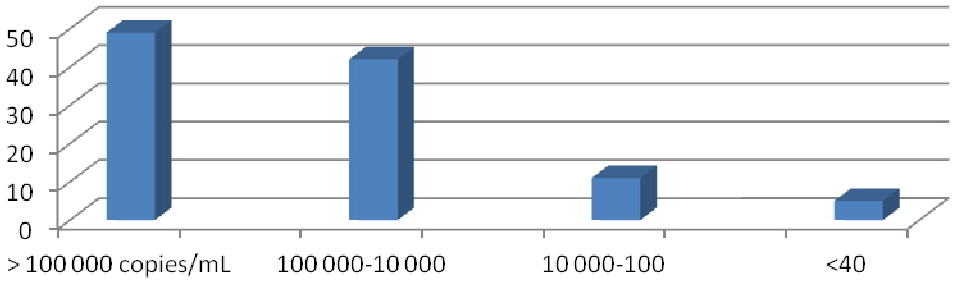


Figure 33. Répartition des patients selon les intervalles de charge virale

III.1.4- Résultats de la numération des CD4

En complément des tests de dépistage et de confirmation et tel qu'il est couramment pratiqué lors du suivi virologique à la demande du médecin traitant, nous avons réalisé en parallèle de la mesure de la charge virale, le dénombrement de LTCD4 sur 102 patients grâce à l'appareil BECKMAN COULTER EPIC XLTM.

Une forte concentration de nos patients est localisée au niveau des tranches de CD4 présentant les taux les plus bas c'est-à-dire la tranche où les CD4 compris entre 350-200 /µl et la tranche où les CD4 < 200 /µl. En effet, 37 patients (36,3%) ont un taux < 200CD4 /µl, pour 25 patients (24,5%) le taux étaient compris entre 500-350CD4 /µl, pour 20 patients (19,6%) il était compris entre 350-200CD4 /µl et 20 patients (19,6%) ont un taux >500CD4 /µl.

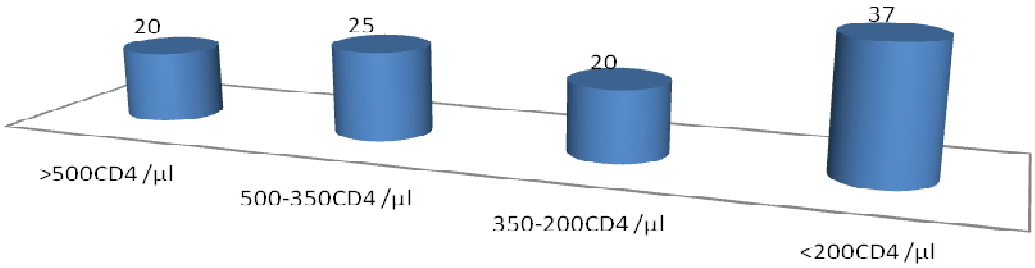


Figure 34. Répartition des patients par tranche du taux de CD4/µl

III.2- Synthèse des résultats obtenus

III.2.1- Résultats du Western-Blot rapportés à la Charge virale

Quand nous rapportons les profils WB de nos patients à leurs charges virales *(Tableau VI)*, nous observons que la majorité des patients ayant des PIC et le PC ont une charge virale supérieure à 100 000 copies/ml et représente 48,2% et 44,8% des cas respectifs, alors que 71,4% de patients ayant un PI ont une charge virale est inférieure au seuil de détectabilité.

Il est à noter aussi que le PIC est le plus représenté de tous les profils WB. Visiblement, plus de la moitié de nos patients ayant étaient sujet à la quantification de la charge virale possèdent un PIC soit 50,5% (54/107) :

Tableau V. Profils WB rapportés à la charge virale

		Tranche de charge virale				**Total WB: 107**
		$>10^5$	10^5–10^4	10^4–100	<40	
Profil Western Blot	PIC	**26** **48.2%**	**24** **44.4%**	**4** **7.4%**	**0** **0%**	**54**
	PC	**22** **47.8%**	**17** **37.0%**	**7** **15.2%**	**0** **0%**	**46**
	PI	**1** **14.3%**	**1** **14.3%**	**0** **0%**	**5** **71.4%**	**7**
Total PCR: 107		**49** **(45.8%)**	**42** **(39.3%)**	**11** **(10.3%)**	**5** **(04.6%)**	

Sept patients sur les neuf présentant un PI ont bénéficié de la mesure de la charge virale. Parmi eux, cinq patients avaient une charge virale le sous le seuil de détectabilité (<40copies/ml), un seul patient présentait une charge virale >100 000 copies/ml et chez un autre patient elle était comprise entre 100 000 et 10 000 copies/ml.

Les cinq patients ayant un PI et avec CV<40 copies/ml sont d'origine sub-saharienne et sont âgés entre 20-30 ans.

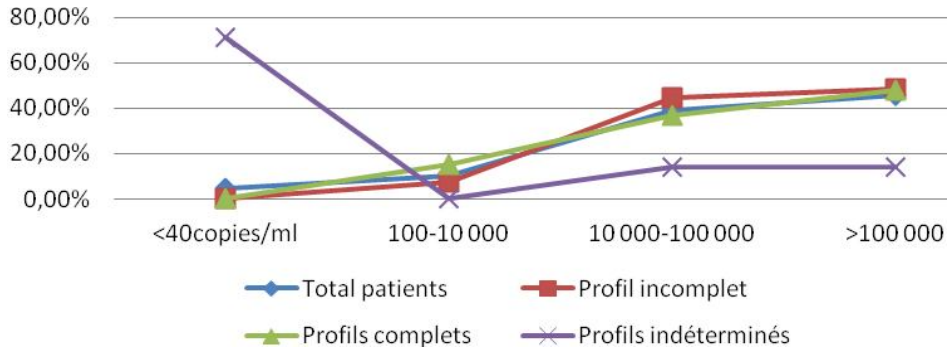


Figure 35. Evolution du nombre de cas par profil WB en fonction de la catégorie de charge virale

Le nombre de patient ayant un PC et celui ayant un PIC dans chaque portion de charge virale augmente autant que de la charge virale augmente, tandis que le nombre de cas de PI diminue quand la charge virale devient importante.

Quand nous rapportons les bandes positivées lors de la confirmation WB aux résultats de la charge virale *(Tableau VI)*, nous obtenons les résultats suivants :

Tableau VI. Réactivité aux différents protéines des gènes en fonction de leur statuts WB et PCR

Protéines des gènes		Western-Blot		Charge Virale							
		PI	Positifs (PC & PIC) (+)	>10^5		10^5-10^4		<10^4		<Seuil de 40 copies/mL	
				PI	PC&PIC	PI	PC&PIC	PI	PC&PIC	PI	PC&PIC
ENV	gp160	2/3	52/52	.	42,30%	.	46,15%	.	11,55%	100%	.
	gp120	2/7	98/100	.	47,95%	50%	40,82%		11,23%	50%	.
	gp41	.	97/100	.	47,42%	.	41,23%	.	11,35%	.	.
GAG	p55	.	49/52	.	42,85%	.	44,90%	.	12,25%	.	.
	p39	.	25/52	.	40%	.	44%	.	16%	.	.
	p24	3/7	92/100	33,34%	46,73%	.	41,30%	.	11,97%	66,66%	.
	p17	1/7	70/100	.	45,71%	.	42,85%	100%	11,43%	.	.
POL	p66	.	52/52	.	42,30%	.	46,15%	.	11,54%	.	.
	p52	.	45/52	.	42,22%	.	46,66%	.	11,12%	.	.
	p34	2/7	89/100	.	48,31%	50%	39,32%	.	12,36%	50%	.

III.2.2- Résultats du Western-Blot rapportés au statut immunitaire

Des résultats WB conciliés à ceux du comptage de CD4, se dégagent trois constats :

1. d'abord, le type de profil WB le plus fréquent dans chaque catégorie de CD4 est le PIC.
2. ensuite, la forte concentration de notre cohorte, en combinant ces deux paramètres, est confinée chez les patients à PIC ou PC présentant des taux de CD4 les plus bas c'est-à-dire la tranche où les CD4 sont compris entre 350-200/µl (18,5% des PIC et 25,6% des PC) et la tranche où les CD4 < 200 /µl (38,8% des PIC et 32,6% des PC) *(Tableau VIII)*.
3. en fin, le nombre de cas de PIC et de PC augmente quand le taux de CD4 décroit ; à l'exception de celui de PI qui, au contraire, diminue *(Fig.38) :*

   En effet, les patients ayant un taux>500CD4/µl représentent, respectivement 18,5% des PIC et 18,62% des PC, alors que ceux détenant un taux de CD4 inférieur à 200/mL se représentent 38,8% des PIC et 32,6% des PC.

   Par contre pour le PI, 80% des patients ont un taux de CD4 supérieur à 350/µl :

Tableau VII. Résultats de WB rapportés aux tranches de CD4

	Catégorie par nombre de CD4	**Total WB:**

		>500	500-350	350-200	<200	102
Profil Western Blot	PIC	**10** 18.5%	**13** 24.00%	**9** 18.5%	**22** 38.8%	54
	PC	**8** 18.6%	**10** 23.2%	**11** 25.6%	**14** 32.6%	43
	PI	**2** 40%	**2** 40%	**0** 0%	**1** 20%	5
Total catégorie CD4 : 102		**20** (19.6%)	**25** (24.5%)	**20** (19.6%)	**37** (36.3%)	

Une forte concentration de patients se trouve au niveau des tranches présentant les taux de CD4 les plus bas c'est-à-dire la tranche où les CD4 sont < 350/µl. Ces deux tranches représentent ensemble 57,7% des patients ayant le PIC et PC. Par contre, la majorité de cas de PI se trouve dans les tranches où les taux de CD4 sont élevés c'est-à-dire les tranches >350 CD4/µL. Elles totalisent 80% des cas de PI (4/5).

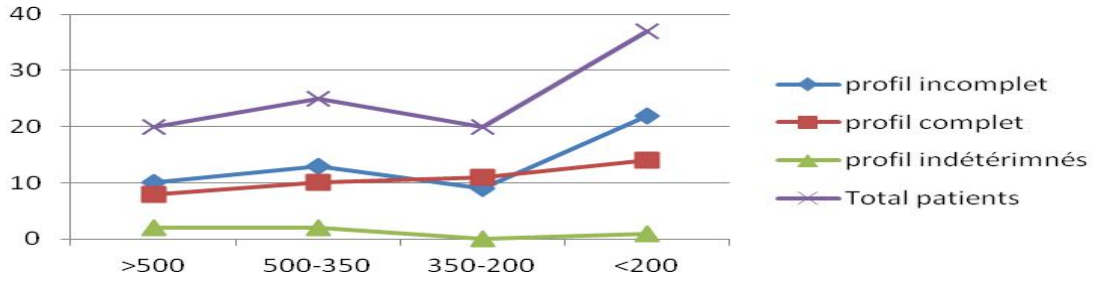


Figure 36. Evolution de profils WB des patients en fonction de leurs nombre de CD4

Tableau VIII. Réactivité aux différents protéines des gènes en fonction de leur statuts WB et Nombre de CD4

Protéines des gènes		Western-Blot		Nombre de CD4							
		PI	Positifs (PC & PIC) (+)	>500		500-350		350-200		<200	
				PI	PC&PIC	PI	PC&PIC	PI	PC&PIC	PI	PC&PIC
ENV	gp160	2/2	51/51	50%	19,60%	50%	21,57%	.	23,53%	.	35,29%
	gp120	1/5	96/97	.	18,75%	100%	23,96%		20,83%	.	36,46%
	gp41	.	94/97	.	19,15%	.	24,47%	.	20,21%	.	36,17%
GAG	p55	.	48/51	.	20,83%	.	22,92%	.	25,00%	.	31,25%
	p39	1/2	24/51	.	25,00%	100%	16,66%	.	29,17%	.	29,17%
	p24	2/5	89/97	50%	17,98%	50%	24,72%	.	22,47%	.	34,83%
	p17	2/5	66/97	100%	22,73%	.	25,76%	.	22,73%	.	28,78%
POL	p66	.	51/51	.	19,61%	.	21,57%	.	23,53%	.	35,29%
	p52	.	44/97	.	20,45%	.	25,00%	.	20,45%	.	34,10%
	p34	2/5	86/97	.	19,77%	.	23,26%	50%	22,09%	50%	34,88%

III.2.3- Résultats du Western-Blot rapportés aux stades cliniques

Une classification de l'état symptomatique en stades cliniques est prévue pour les patients dont l'infection à VIH a été confirmée. Elle est utilisée pour évaluer l'évolution de l'infection à VIH chez la personne séropositive. Cela apporte de l'aide au médecin pour la prise de décision pour prescrire un TARV en plus des données de la numération des CD4 et de la mesure de la charge virale.

Dans notre étude nous avons recueilli les données cliniques chez nos patients auprès de leurs médecins traitants.

Les stades cliniques de nos patients selon les critères CDC93, se répartissent comme suit :

- 52.1% (52/101) des patients étaient au stade A dont 28 pour A_I, 21 pour A_{II} et 3 pour A_{III}
- 26.4% (27/101) des patients étaient au stade B dont 11 pour B_I, 15 pour B_{II} et 1 pour B_{III}
- 21.5% (22/101) des patients étaient au stade C dont 15 pour C_I, 7 pour C_{II} et 0 pour C_{III}

Parmi les 54 patients ayant un PIC, 28/54 (51,9%) sont au stade A, 11/54 (20,4%) sont au stade B et 15/54 (27,7%) sont au stade C (Tableau IX).

Tableau IX. Profils Western Blot rapportés aux stades cliniques

		Stades cliniques									
		A			B			C			**Total WB: 101**
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	
Profil Western Blot	PIC	**15**	**11**	**2**	**6**	**3**	**2**	**5**	**5**	**5**	**54**
	PC	**10**	**9**	**2**	**8**	**3**	**4**	**4**	**2**	**1**	**43**
	PI	**3**	**0**	**0**	**1**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**4**
Total Stades cliniques : 101		**28**	**20**	**4**	**15**	**6**	**6**	**9**	**7**	**6**	
		52			**27**			**22**			

-Le PIC se présente en majorité dans les stades A et C qui représentent respectivement 79,6% du total des PIC
-Le PC compte pour 48,8% de cas dans le stade A, 34,8% dans le stade B et 16,2% dans le stade C
-Le PI se présente à 80% dans le stade A

Tableau X. Résultats Western Blot rapportées aux stades cliniques CDC93.

Bandes WB	Stades cliniques CDC93								
	A			B			C		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III
GP160	15/15	9/9	1/1	2/2	5/5	3/3	7/7	4/4	6/6
GP120	26/28	19/20	3/4	14/14	6/6	6/6	9/9	7/7	5/6
GP41	25/28	19/20	3/4	13/14	6/6	6/6	8/9	7/7	5/6
P66	14/15	9/9	1/1	2/2	5/5	3/3	7/7	4/4	6/6
P55	14/15	8/9	1/1	2/2	5/5	3/3	6/7	4/4	5/6
P52	13/15	8/9	1/1	1/2	3/5	3/3	5/7	4/4	4/6
P39	6/15	4/9	1/1	1/2	6/5	3/3	4/7	1/4	1/6
P34	22/28	22/20	3/4	14/14	6/6	5/6	8/9	7/7	3/6
P24	25/28	25/20	3/4	14/14	6/6	6/6	8/9	6/7	2/6
P17	21/28	21/20	2/4	10/14	5/6	5/6	5/9	4/7	2/6

III.2.4- Résultats des statuts immunitaires des patients rapportés aux leurs Charges Virales

Après une analyse des résultats de notre cohorte en combinant deux paramètres, à savoir la quantification du nombre de CD4 et la quantification de la charge virale :

-Nous constatons, d'une part, que les tranches de la charge virale : $>10^5$ et 10^5-10^4 se transposent aux catégories du taux de CD4 : >200 et 200-350 en considérant l'importance du nombre de patients du point de vue de ces deux caractéristiques : charge virale et statut immunitaire. En effet, les résultats des deux tests (Numération CD4 & Mesure Charge virale) une fois réunis, nous montrent que dans leurs tranches précitées se localise simultanément la majorité de cas: 55% de la totalité des patients pour la numération de CD4 et 86,9% pour la mesure de la charge virale

-Concernant la numération de CD4, au sein de chacune des deux catégories précitées (CD4 : >200 et CD4 : 200-350), le nombre de patients diminue au fur et à mesure que le niveau de la charge virale diminue. Par contre pour les catégories 350-500 et >500, on note une évolution en dents de scie *(Tableau XI)*.

-D'une autre part : Pour la charge virale, c'est avec trois tranches (CV=10^5-10^4 ; 10^4-10^2 et <40), que le nombre de cas diminue au fur et à mesure que le niveau de CD4 augmente. La tranche où la charge virale est $>10^5$ montre une évolution inversée à la précédente : le nombre de cas augmente quand le niveau de CD4 diminue *(Fig. 37)*.

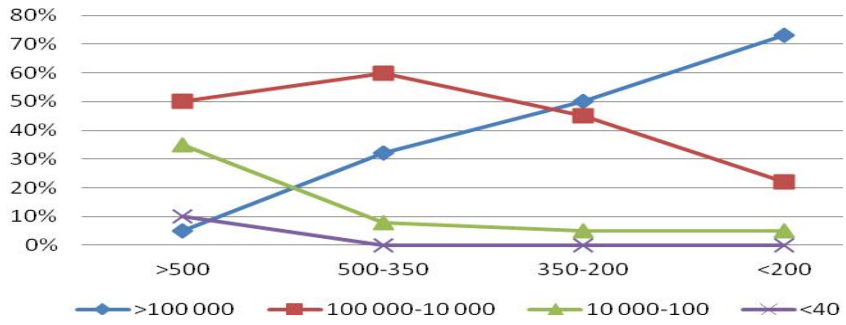


Figure 37: Evolution des pourcentages des patients par catégorie de la charge virale en fonction du taux de CD4

Dans la catégorie où la charge virale est >100 000copies/ml, le nombre de patients augmente au fur et à mesure que le niveau du taux de CD4 diminue. Par contre, dans le reste des catégories de la charge virale, c'est-à-dire <100 000 copies/ml le nombre de cas diminue quand le taux de CD4 diminue

Tableau XI. Le nombre de cas par catégorie de CD4 en fonction de la charge virale

		Nombre de cas par tranche des résultats de la RT PCR				Total/catégorie de CD4	
		>100 000	100 000-10 000	10 000-100	<40		
Nombre de cas du comptage de CD4 par tranches	<200	**27 (73%)**	**8 (22%)**	**2 (5%)**	**0 (0%)**	37	55 (54%)
	350-200	**9 (50%)**	**9 (50%)**	**0 (0%)**	**0 (0%)**	18	
	500-350	**9 (33%)**	**15 (56%)**	**2 (7.4%)**	**1 (3.6%)**	**27**	
	>500	**1 (5%)**	**10 (50%)**	**7 (35%)**	**2 (10%)**	**20**	
Total/catégorie de la RT PCR		**46**	**42**	**11**	**3**	**102**	
		88 (86,9%)					

Les tranches de la charge virale : $>10^5$ et 10^5-10^4 copies/ml se transposent aux catégories du taux de CD4 : >200 et 200-350/µl du point de vue « importance du nombre de cas » :
-dans la série de test de la numération de CD4, les deux catégories possèdent les pourcentage les plus élevés et le nombre de patients diminue au fur et à mesure que le niveau de la charge virale diminue.
- dans la série de la mesure de la charge virale, les tranches où la charge virale est : $>10^5$ et 10^5-10^4copies/ml représentent 86,9%. Cependant, c'est uniquement au sein de la catégorie où la charge virale est comprise entre 10^5-10^4 que le nombre de cas diminue au fur et à mesure que le niveau de CD4 diminue tandis que dans la catégorie où la charge virale est $>10^5$ le nombre de cas augmente quand le niveau de CD4 diminue.

III.2.5- Résultats des Stades cliniques rapportés aux leurs Charges Virale

Quand on rapporte les données cliniques aux quatre catégories de la charge virale, on s'aperçoit que le stade A renferme le plus de cas par rapport aux autres stades : B et C.

D'une autre part, en considérant chaque stade de la maladie, les grandes concentrations de patients sont localisées dans les catégories où la charge virale est élevée c'est-à-dire $>10^5$copies/ml et compris entre 10^5et 10^4copies/ml *(Tableau XII)*.

Tableau XII. Stades cliniques CDC93 rapportés aux tranches de charge virale

		Stades cliniques									
		A			B			C			**Total CV: 101**
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	
Catégorie de la RT PCR	$>10^5$	**5**	**8**	**2**	**9**	**2**	**4**	**7**	**6**	**3**	**46**
	10^5-10^4	**14**	**11**	**1**	**5**	**3**	**2**	**2**	**1**	**3**	**42**
	10^4-100	**7**	**1**	**1**	**1**	**1**	**0**	**0**	**0**	**0**	**11**
	<40	**2**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**2**
Total Stades cliniques : 101		**28**	**20**	**4**	**15**	**6**	**6**	**9**	**7**	**6**	
		52			**27**			**22**			

-le stade A renferme le plus de cas par rapport aux autres stades B et C
-les patients avec la charge virale $>10^4$ copies/ml prédominent au niveau chaque stade clinique : 78,8% (41/52) pour le stade A, 92,5% (25/27) pour B et 100% (22/22) pour C

III.2.6 - Résultats des Stades cliniques rapportés aux statuts immunitaires

Pour le stade C, la catégorie où les CD4 sont <200CD4/µl vient en premier en tenant compte du nombre élevé de patients qu'on y rencontre avec 17/22 cas soit 77.27%

Pour le stade B c'est la catégorie 350-200CD4/µl avec 14/27 cas soit 51.8%

Pour le stade A c'est la catégorie 500-350CD4/µl avec 21/52 cas soit 40.3%

Tableau XIII. Taux de CD4 des patients rapportés aux stades cliniques CDC93

		Stades cliniques									
		A			B			C			**Total CD4: 101**
		I	II	III	I	II	III	I	II	III	
Catégorie de nombre de CD4	>500	**18**	**2**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**0**	**20**
	500-350	**10**	**10**	**1**	**2**	**1**	**0**	**0**	**0**	**0**	**24**
	350-200	**0**	**5**	**0**	**6**	**2**	**2**	**5**	**0**	**0**	**20**
	<200	**0**	**3**	**3**	**7**	**3**	**4**	**4**	**7**	**6**	**37**
Total Stades cliniques : 101		**28**	**20**	**4**	**15**	**6**	**6**	**9**	**7**	**6**	
		52			**27**			**22**			

III.3- Analyse statistique des résultats obtenus

III.3.1- Variabilité des spectres des bandes positivées par rapport aux autres paramètres du diagnostic

Nous avons examiné l'affinité de la réactivité des bandes WB par rapport aux trois autres outils de diagnostic étudiés à savoir le stade clinique, la charge virale et le nombre de CD4.

Force est de constater le peu de références dans la littérature qui rapportent des travaux s'ayant penché sur la variabilité des spectres de la réactivité des bandes WB en fonction soit du statut immunitaire, soit la charge virale, soit le stade clinique du patient au cours de l'infection du VIH.

Dans notre étude nous avons matérialisé cette affinité par le coefficient de variation entre les différentes éventualités de réactivités des bandes WB vis-à-vis des trois autres outils de diagnostic, grâce au **Test de Friedman**. Pour ce, nous avons pris comme référence la bande GP160, en se basant sur l'importance de sa fréquence (97,1%), qui sera considérée comme 100% et les autres bandes serviront de gamme de variables à mesurer.

Une approche graphique représentant la distribution des indices de variation les plus importants (*en rouge*) est utilisés pour bien illustrer cette variabilité.

	GP160																			
GP120	-- 3 | 15.23																			
	-- 11.5 |																		
GP41	15.23		-- 8.5 | 15.23																	
	-- 5.5 |		-- 2.5 |		-- 6 |														
P66	15.23		15.23		15.23															
	-- 11.5 |		-- 8.5 |		-- 0 |		-- 6 |											
P55	15.23		15.23		15.23		15.23													
	++ 22 |		++ 19 |		-- 10.5 |		++ 16.5 |											
P52	15.23		15.23		15.23		15.23		-- 10.5 | 15.23										
	++ 22.5 |		++ 19.5	-- 11 |		++ 17 |		-- 11 |										
P39	15.23	| 15.23		15.23		15.23		15.23		-- 0.5 | 15.23									
	-- 12 |		-- 9 |		-- 0.5 |		-- 6.5 |		-- 0.5 |		-- 10 |					
P34	15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		-- 10.5 | 15.23						
	-- 11.5 |		-- 8.5 |		-- 0 |		-- 6 |		-- 0 |		-- 10.5 |		-- 11 |			
P24	15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		-- 0.5 | 15.23				
	++ 20.5 |		++ 17.5	-- 9 |		-- 15 |		-- 9 |		-- 1.5 |		-- 2 |		-- 8.5 |		-- 9 |
P17	15.23	| 15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		15.23		

Tableau XIV. Variation des bandes positivées par rapport à la charge virale

le coefficient de variation globale ***, T=18,215 (P=0,032).***

	GP160													
GP120	-- 6 | 15.23													
	-- 13	-- 7												
GP41	15.23	15.23												
	-- 6	-- 0	-- 7											
P66	15.23	15.23	15.23											
	-- 12	-- 6	-- 1	-- 6										
P55	15.23	15.23	15.23	15.23										
	++ 17.5	-- 11.5	-- 4.5	-- 11.5										
P52	15.23	15.23	15.23	15.23	-- 5.5 | 15.23									
	++ 33.5	++ 27.5	++ 20.5	++ 27.5	++ 21.5									
P39	15.23	15.23	| 15.23	15.23	| 15.23	++ 16 | 15.23								
	++ 21.5	++ 15.5	-- 8.5	++ 15.5	-- 9.5	-- 4								
P34	15.23	15.23	15.23	15.23	15.23	15.23	-- 12 | 15.23							
	++ 16.5	-- 10.5	-- 3.5	-- 10.5	-- 4.5	-- 1		-- 5						
P24	15.23	15.23	15.23	15.23	15.23	15.23	++ 17 | 15.23	15.23						
	++ 29	++ 23	++ 16	++ 23	++ 17	-- 11.5		-- 7.5 |					
P17	15.23	15.23	15.23	15.23	15.23	15.23	-- 4.5 | 15.23	15.23	-- 12.5 | 15.23				

Tableau XV. Variation des bandes positivées par rapport au statut immunitaire

le coefficient de variation globale ***T= 28,052***

(P=0,00093)

	GP160													
GP120	-- 5.5 | 10.71													
	++ 12													
GP41	10.71	-- 6.5 | 10.71												
	-- 1	-- 4.5												
P66	10.71	10.71	++ 11 | 10.71											
	-- 6.5	-- 1	-- 5.5											
P55	10.71	10.71	10.71	-- 5.5 | 10.71										
	++ 19	++ 13.5	-- 7	++ 18										
P52	10.71	| 10.71	10.71	10.71	++ 12.5 | 10.71									
	++ 17.5	++ 12	-- 5.5	++ 16.5	++ 11									
P39	10.71	10.71	10.71	10.71	10.71	-- 1.5 | 10.71								
	++ 14	-- 8.5	-- 2	++ 13	-- 7.5	-- 5								
P34	10.71	10.71	10.71	10.71	10.71	10.71	-- 3.5 | 10.71							
	-- 8.5	-- 3	-- 3.5	-- 7.5	-- 2	-- 10.5	-- 9							
P24	10.71	10.71	10.71	10.71	10.71	10.71	10.71	-- 5.5 | 10.71						
	++ 21	++ 15.5	-- 9	++ 20	++ 14.5	-- 2	-- 3.5	-- 7	++ 12.5 |					
P17	10.71	| 10.71	10.71	10.71	| 10.71	10.71	10.71	10.71	10.71					

Tableau XVI. Variation des bandes positivées par rapport aux Stades Cliniques

le coefficient de variation globale ***T= 21,052***

(P=0,0003)

Les résultats de cette analyse montrent que la réactivité des bandes WB en fonction l'état immunitaire présente le coefficient de variation globale le plus important ***T= 28,052 (P=0,00093)***.suivit de celui de la réactivité des bandes WB en fonction des stades cliniques ***T= 21,052 (P=0,0003).*** La variabilité des bandes positivées en fonction de la charge virale est la plus faible avec ***T=18,215 (P=0,032).*** La variation des spectres des bandes positivées présente un caractère de spécificité dans le cas où on la considère en fonction de la charge virale. Elle ne concerne que 3 bandes : p55, p52 et p24. Dans les autres cas de figures, les bandes variantes lors de la réactivité WB en fonction du nombre de CD4 sont p52, p39, p34 et p24. Presque toutes les bandes sont touchées et d'une manière très dispersée, concernant cette variabilité en fonction des stades cliniques.

Quoi que les coefficients de variation « globales » montrent que la variabilité du spectre des bandes positivées est élevée en considérant le paramètre immunologique, puis moyenne en considérant le paramètre clinique et faible en considérant le paramètre de la charge virale ; les résultats de la variabilité des bandes positivées au Western Blot en fonction de ces paramètres précités, montrent que les bandes WB sont très variables (indice de variation plus élevé) quand on les relie individuellement au paramètre immunologique, puis moyennement variables en fonction de la charge virale, tandis que quand on les relie aux stades cliniques, elles ont une variabilité faible .

Tableau XVII. Variabilité des bandes positivées au Western Blot en fonction des paramètres biologiques et cliniques

Gènes rétroviraux	Bandes positivées	Indice de variabilité		
		Numération CD4	Charge Virale	Stades Cliniques
ENV (Enveloppe) codant pour les glycoprotéines de l'enveloppe	gp160	-	-	-
	gp120	-	-	**12**
	gp41	-	-	-
GAG (groupe antigèniques) codant pour les protéines de la nucléocapside	p55	**17**	**22**	**19**
	p39	**22,5**	-	**14**
	p24	**29**	**20,5**	**21**
	p17	-	-	-
POL (Polymèrase) codant pour des enzymes	p66	-	-	**11**
	p52	**33,5**	**22,5**	**17,5**
	p34	**17**	-	-

III.3.2- Etude de corrélation entre différents tests de diagnostic

Une analyse des résultats basée sur une comparaison des différents outils de diagnostiques a été effectuée par recherche d'une corrélation plus ou moins manifeste des tests deux à deux. C'est-à-dire la corrélation entre la numération de CD4 et de la Charge Virale, entre la numération de CD4 et stades cliniques ; et entre la Charge Virale et stades cliniques

L'analyse statistique des résultats a été réalisée grâce au logiciel STATA-11.0 version 2011 par la méthode de Pearson :

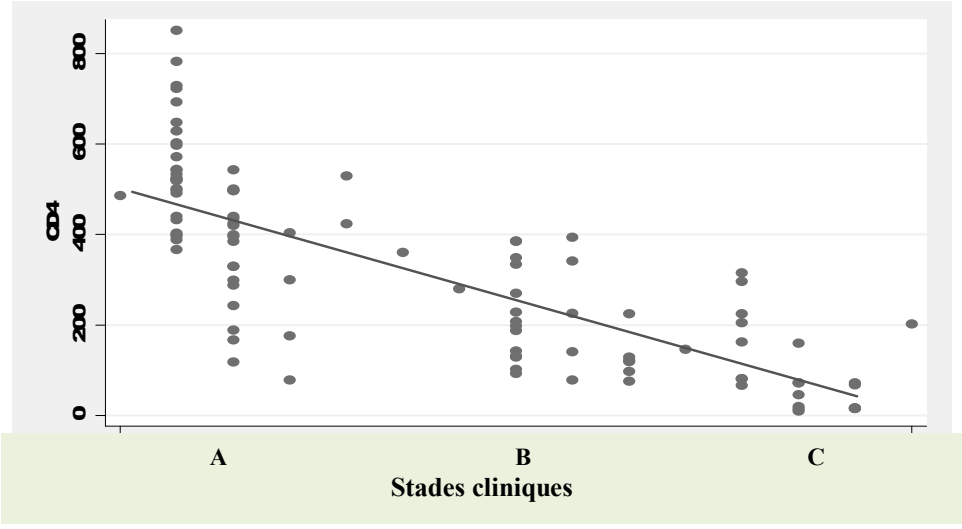
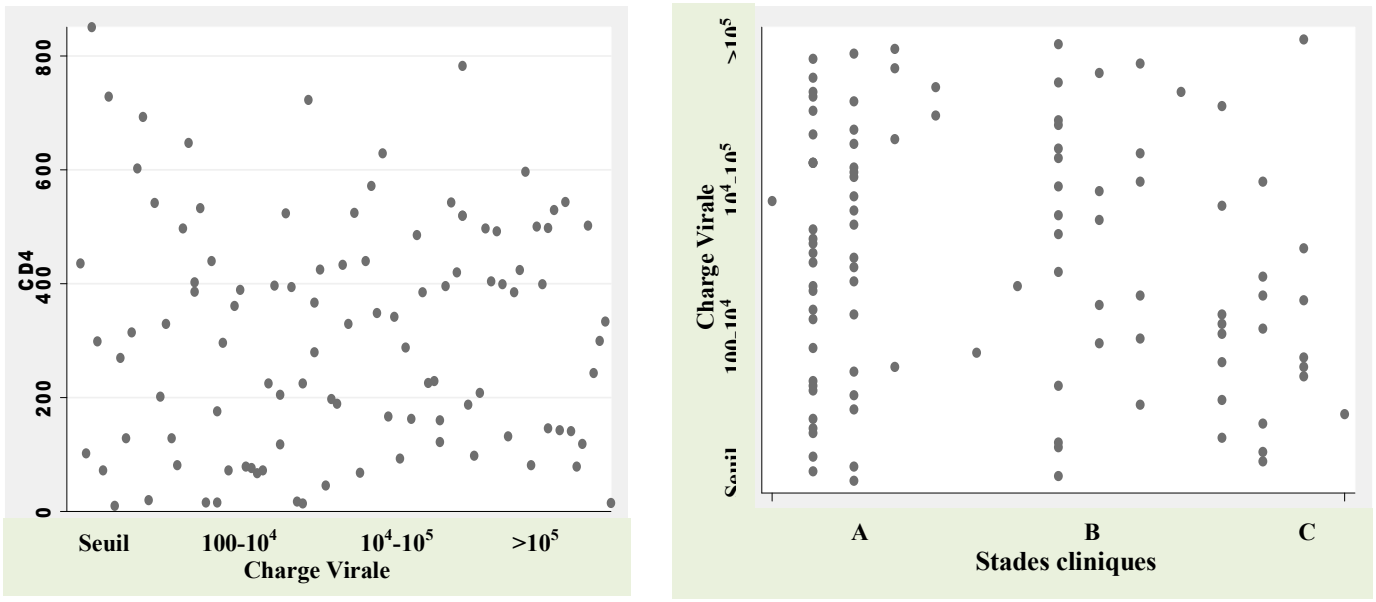


Figure 38. Distribution des cas et Droite de régression : Stades Cliniques et les CD4
Coefficient de corrélation de Pearson r= -0,79 (P<0,00001)



A B

Figure 39. Distribution des cas : PCR en fonction des CD4 (Figure A, r= -0,53 (P=0,05))
PCR en fonction des Stades Cliniques (Figure B, r= -0,39 (P=0,05))

IV. DISCUSSION

L'épidémie mondiale de l'infection au VIH, qui est apparue depuis les années 1980, actuellement compte plus de 33 millions de personnes infectées par ce virus du SIDA dans le monde et causant 5700 décès par jour. La majorité d'entre elles vivent en Afrique subsaharienne ou les moyens socio-économiques ne permettent pas d'y faire face suffisamment.

Et même si les données épidémiologiques de certains pays ne sont pas disponibles, actuellement aucun pays n'y échappe. Le Maroc fait compte 3303 personnes séropositives officiellement déclarés mais on estime à plus de 25 000 personnes vivant avec le VIH et certaines données suggèrent la possibilité d'une épidémie concentrée parmi les populations les plus exposées : usagers de drogues injectables, homosexuels, travailleurs de sexe, ...[45]

Actuellement, le VIH se présente sous deux types, le VIH-1 et VIH-2 dont l'homologie au niveau génomique est de l'ordre de 50-60%. Le VIH-1 est le type dont l'épidémiologie et la répartition mondiale sont les plus importantes. Les deux types du VIH ont une grande variabilité génétique dont témoigne l'existence de plusieurs sous-types diversement répartis dans le monde.

Les conséquences de cette variabilité génétique, quoi que sans influence significatif sur la pathogénicité ni la progression de l'infection, ont un impact considérable notamment sur la difficulté de la mise au point de vaccins contre VIH et de techniques de diagnostiques sensibles sur toutes souches du VIH, ainsi que par l'émergence de la résistance aux antirétroviraux.

On distingue deux approches différentes, mais complémentaires, pour diagnostiquer le VIH : le diagnostic direct qui vise à révéler et à identifier, à partir de produits pathologiques le virus lui-même et/ou ses constituants : antigènes, ADN, ARN et le diagnostic indirect ou sérologique qui permet la détection des anticorps circulants spécifiques du virus au moment de la séroconversion.

Lors des examens de dépistage du VIH, on a recours à un premier test consistant à dépister le virus par des tests utilisant la technique immuno-enzymatique telle que ELISA permettant la détection qualitative de l'infection à VIH par la mise en évidence dans le sérum ou le plasma

humain de l'antigène VIH p24 et des anti-corps anti-virus de classe 1 et 2 ; les tests simples/rapides TDR utilisant des Ag obtenus des lysats viraux ou des protéines recombinantes ou synthétiques. L'évolution de ces tests de dépistage fait qu'aujourd'hui la majorité des kits utilisés raccourcissent la période de silence sérologique lors de la primo-infection.

Un test de confirmation de la positivité sérologique est obligatoire. Le test de référence pour confirmation de l'infection au VIH utilise la technique WB. Il s'agit d'un test immuno-enzymatique qualitatif réalisé sur bandelettes de nylon adhérant à un support plastique sur lesquelles sont fixées des protéines recombinantes et des peptides synthétiques HIV-1 et HIV-2 sous formes de fines bandes destinés à la détection des anticorps dirigés contre le virus du VIH-1 /2 dans le sérum humain.

Son interprétation ne suit pas les mêmes critères de positivité, de négativité ou d'indétermination à l'échelle internationale, mais la majorité des pays utilisent les critères dictés par l'OMS.

Lors du suivi virologique, biologique et thérapeutique des sujets VIH positifs, des tests sophistiqués et des équipements coûteux généralement pas facilement disponibles ou accessibles dans la plupart des pays d'autres pays à ressources limitées sont nécessaires.

La RTPCR est la technique de référence pour la quantification de la charge virale plasmatique. Il s'agit d'une PCR classique qui se réalise par une première phase de transcription inverse d'un acide ribonucléique (ARN) en ADN complémentaire (ADNc) grâce à l'enzyme clé de la réplication du VIH : la Retro-transcriptase.

Les tests de la PCR/RT PCR servent également, en appuie des tests immunologiques de dénombrement du nombre de Lymphocyte TCD4, pour le suivi virologique des sujets VIH positifs en vue de décider l'initiation de la thérapie antivirale.

Le dénombrement de lymphocytes TCD4 se fait par la technique de cytométrie en flux permettant l'étude précise de cellules isolées en suspension dans un flux laminaire liquide. Les paramètres biologiques sont évalués sous forme de sous-populations cellulaires, et sont exprimés en pourcentages ou en unités arbitraires (canaux de fluorescence).

Le laboratoire de virologie de l'HMIMV à Rabat, lieu de notre étude, réalise toutes ces techniques précitées pour diagnostiquer l'infection du VIH. Le protocole de diagnostic se conforme aux recommandations de l'OMS tel que décrit dans la *Figure 24*.

Notre travail a porté sur 128 patients dépistés positifs aux deux tests systématiques par la technique ELISA au cours de la période allant de Janvier 2008 auJuin 2011 au Laboratoire de virologie de HMIMV de Rabat. La confirmation ayant été réalisée par la technique WB successivement au moyen de deux kits de réactifs : le Kit New LAV Blot I ou le Kit de INNO-LIA SCORE HIV I/II. La mesure de la charge virale était réalisée au moyen de la RT PCR (COBAS TaqMan® HIV-1 Immunogenetics de Roche Diagnostics) tandis que les taux de CD4 étaient obtenus grâce à la cytometrie de flux (COULTER EPIC XL de BECKMAN Coulter). L'analyse statistique des résultats a été réalisée grâce au logiciel STATA-11.0 version 2011.

Les patients suivis étaient admis principalement dans le service de dermatologie et au niveau des consultations externes L'âge des patients variaient entre 4 et 62 ans avec une moyenne d'âge de 37 ans. Une prédominance masculine était manifeste : le sexe ratio H/F = 2,62. La part des non nationaux dans notre série était de 18%.

L'infection au VIH-2 a été retrouvée dans 3 cas dont 2 cas de coïnfection VIH-1 et VIH-2. Par ailleurs, nous rapportons dans ces 3 cas 2 patients sub-sahariens. Cela est en adéquation avec deux état-de-faits : la rareté du VIH-2 par rapport au VIH-1 et le confinement de son épidémiologie au niveau de l'Afrique de l'Ouest, les cas retrouvés dans d'autres régions du monde étant principalement des cas d'importation[73,77,78,102].

IV.1. Analyse des résultats du Western Blot

A la vue des résultats du test de confirmation WB n=128 nous constatons que la bande du GP160 est la plus présente avec 97,1% suivie de la bande P66 (94,4%), GP120 (94,2%), P24 (92,1%), P55 (89,8%), GP41 (89,7%), p34 (88,1%), P52 (82,6%) tandis que les bandes les moins fréquentes sont la P39 (50,7%) et la P17 (67,7%), pour la confirmation du VIH-1. Le pourcentage élevé des anticorps dirigés contre les glycoprotéines de s'explique par le fait que dans la cinétique d'apparition des anticorps : les premiers à apparaître sont ceux dirigés contre les protéines de l'enveloppe, le profil se complète ensuite en quelques semaines[104].

A titre comparatif, une étude réalisée en Tunisie en 2004[107] rapporte des pourcentages de réactivité des bandes WB dirigées comme suit:

-GP160 (99.8%), GP120 (95.5%), GP41 (93.3%) pour les protéines de l'enveloppe

-P66 (96.5%), P52 (90.5%), P34 (96.7%) pour les gènes pol

-P55 (58.3%), P39 (68.2%), P24 (97.2%), P17 (45.6%) pour les gènes gag

Une autre étude réalisée au Centre hospitalier universitaire Mohamed VI de Marrakech (Maroc) en 2009[104], a montré que parmi l'ensemble des bandes positivées, la bande GP160 est la plus présente (100%) suivie de la bande GP120 (99,2%), GP41 (98,7%), la P24 (98,7,1%) , P34(96,8%) et P17 n'était présente que dans 88 % des cas et pour P66, P55 et P39 respectivement dans 94,6 % des cas.

Quand nous approfondissons l'analyse du type de profils WB présents, nous constatons une légère majorité de nos patients qui présentent un profil incomplet (PIC) 49,2% (63/128) tandis que les patients présentant un profil complet (PC) sont de 43,8% (56/128). Cela stipule l'état global de primo-infection dans nos séries de patients. En effet, essentiellement dans les situations du début (séroconversion) ou du stade terminal de l'infection à VIH à l'exception de certaines conditions lors de la phase asymptomatique, le profil WB est le plus souvent incomplet [103 ,104]. Nous avons eu 9 cas de profil indéterminé (PI), soit 7%.

Et en examinant de près la fréquence de chaque bande au sein de chaque profil WB ($\frac{\text{nombre total de la bande pour le prof} \square 1 - X}{\text{nombre total du profil} - X}$), nous remarquons que dans la catégorie de PIC les bandes les plus fréquentes par ordre décroissant sont la GP160, P66, GP120, GP41, P55, P24, P34, P52, P17 puis P39 tandis que pour la catégorie de PI ce sont les bandes P24, GP160, GP120, P34, P17, P66, P55 qui sont les plus fréquentes alors que GP41, P52 et P39 sont totalement absentes.

Nous attirons une attention particulière sur cette dernière catégorie de PI où l'anticorps anti-P24 représente un pourcentage élevé (**92,1%**). En effet, l'anticorps anti-P24 apparaît rapidement lors de la primo-infection et disparaît normalement avec la progression du déficit immunitaire associé à l'infection par le VIH. Sinon, sa présence associée à toutes les protéines de l'enveloppe, en absence de toute autre protéine, est en faveur d'un stade très évolué de l'infection[104]. Ainsi, la période de séroconversion de l'infection à VIH peut également être évoquée en cas d'une confirmation WB indéterminée [60].

R Thorstensson et H. Gaines ont montré que la réactivité indéterminée apparait le plus fréquemment avec la bande P24 seule ou associée à d'autres protéines, le PI étant occasionnellement observé avec les glycoprotéines de l'enveloppe GP160, GP120 mais jamais avec la glycoprotéine GP41[33]. C'est ce que l'on retrouve dans notre série où nous notons une fréquence élevée de la positivité de la P24 (56%) puis la P34 (44%) et des glycoprotéines GP160 (33%) , GP 120 (33%) ; tandis que la glycoprotéine GP41 était totalement absente et les autres protéines n'avaient qu'une fréquence de moins de 10% ou totalement absentes.

Ainsi, nous rapportons dans notre série l'importance des protéines P66 et P34, au vue de leur fréquence qu'on rencontre respectivement au niveau des PIC et des PI. Elles sont pourtant rarement prises en considération dans l'établissement du diagnostic du VIH. Mais elles devraient être sujettes d'avantage des investigations vue que certaines autres recherchent proposent l'inclusion de P34 dans les critères de positivité du test WB pour diminuer le

nombre élevé de profils indéterminés dans le contexte africain où la réactivité de ces bandes sont très répandue[30, 104].

Nous avons cherché à matérialiser la variabilité manifeste de la réactivité des bandes WB et à dégager une potentielle interconnexion entre les trois autres outils de diagnostic du VIH et suivi de l'infection à VIH utilisés en routine ; à savoir : la charge virale, le taux de CD4 et le stade clinique.

Très peu d'études ayant penché sur la variabilité de la réactivité des bandes WB ; dans notre étude, nous nous sommes proposés de matérialiser l'existence de celle-ci par le coefficient de variation : **Test de Friedman**.
Ainsi, nous avons aperçu la présence de variations dans les spectres des bandes positivées, d'une façon significative, dans la répartition des bandes en fonction du stade clinique, la charge virale et le nombre de CD4 *(Tableaux XIV, XV, XVI)*.

Les résultats que la réactivité des bandes WB en fonction de l'état immunitaire présente le coefficient de variation globale le plus important ***T= 28,052 (P=0,00093)***.suivit de celui de la réactivité des bandes WB en fonction des stades cliniques ***T= 21,052 (P=0,0003).*** La variabilité des bandes positivées en fonction de la charge virale est la plus faible avec ***T=18,215 (P=0,032).***
La variation des spectres bandes positivées présente un caractère de spécificité plus prononcé dans le cas où on la considère en fonction de la charge virale. Elle ne concerne que 3 bandes : p55, p52 et p24.
Dans les autres cas de figures, les bandes variantes lors de la réactivité WB en fonction du nombre de CD4 sont p52, p39, p34 et p24 et la portée de leurs fluctuations étant très élevée ; le coefficient de variation de la bande p52 pouvant atteindre 33.
Nous avons noté que, concernant la variabilité en fonction des stades cliniques, presque toutes les bandes sont touchées et d'une manière très dispersée.

Ainsi, nous nous autorisons à formuler la théorie selon laquelle, le spectre des bandes de la confirmation WB en fonction de la charge virale est le seul spectre présentant une meilleure stabilité dans l'évolution de l'infection à VIH. Les seules bandes présentant des variations, quoi que non significatives, sont les bandes réactivées par les Ac dirigés contre des protéines codées par les gènes GAG (p24 et p55 ; protéines structurales du core) et la protéine fonctionnelle p52 (retro-transcriptase). En effet, nos résultats rejoignent les conclusions d'une étude qui rapporte une fréquence de cette variabilité en Europe compris entre 15 et 25 %. Dans certaines populations d'Afrique subsaharienne, ce chiffre peut être beaucoup plus important. Et encore, que les bandes les plus souvent rencontrées sont dirigées contre les protéines du core (p24, p17, p55), beaucoup plus rarement contre les glycoprotéines d'enveloppe[103.]

Quant aux implications de cet état de fait, il serait plus judicieux de faire une étude plus détaillée pour pouvoir tirer des conclusions pertinentes, en impliquant dans l'étude la notion de la présence ou non du TART ou d'un autre paramètre extrinsèque agissant sur la charge virale ou le taux de CD4. Ou encore en déterminant les titres des Ac anti-VIH, étant donné que c'est à la base de ces Ac que la réactivité des bandes WB se réalise.

En effet, les raisons occasionnant la variabilité du spectre des bandes WB positivées au cours de la confirmation de l'infection du VIH peuvent être multiples : l'initiation de la thérapie ARV diminue considérablement la charge virale et permet de rétablir les fonctions immunitaires à leur niveau optimal. Les réactions croisées non spécifiques expliquent ensuite ces variabilités. A côté des réactions non spécifiques, les contextes auto-immuns (lupus érythémateux disséminé, mycosis fungoïde, psoriasis, sclérose en plaques, immuno-globulinopathie monoclonale,…) peuvent également expliquées ces variabilités ainsi que certains agents infectieux (HTLV, virus bovin BIV, certains antigènes parasitaires...). Le test de confirmation WB pratiquée en période de la séroconversion, les erreurs de manipulation, peuvent être ajoutés à cette liste, mais nombreuses sont les causes encore mal connus et qui n'ont pas encore fait objet d'étude scientifique quant à l'origine de ces variations. D'où la nécessité de faire des investigations assez poussées à ce sujet afin de mettre en évidence

l'étiologie de cette « cause à effet » manifeste de ces variations par rapport au statut immunitaire, la charge virale et le stades clinique du patient.

IV.2. Interdépendance de la réactivité des bandes WB, de la Charge Virale, du nombre de CD4+ et des Stades Cliniques

Les résultats ont montré que les patients ayant une CV supérieure à 100 000 copies/ml représentent 45,1% (la grande part des patients de toutes les quatre catégories de la CV). Et du point de vue du dénombrement du nombre de CD4, 60,8% des patients ont un taux de CD4 inférieur à 350/µl. Les stades cliniques que l'on retrouve en majorité (79,5%) chez nos patients sont les stades A et B.

En suivant cet ordre d'idées, nous avons fait le regroupement des résultats de notre étude, tels que brièvement résumés dans les tableaux ci-après) à fin de dégager quel type de relation existe d'une part entre **la réactivité des bandes WB (dans l'ordre respectif de la fréquence des bandes positivées)** avec le stade clinique du patient, les catégories de la charge virale et du nombre de CD4; et d'autre part le niveau de corrélation qui existerait entre les paramètres de Charge Virale, Stades Cliniques et Nombre de CD4+.

Tableau XVIII. La fréquence des bandes WB positivées rapportées à la charge virale et au nombre de CD4

$>10^5$ copies/ml :	<200CD4/µl :
- GP160 P66 P55 GP120 GP41 P24 P34 P17 P52 P39 *(PIC)*	***- GP160 P66 GP120 GP41 P24P55 P52P34 P39P17*** *(PIC)*
- P24 *(PI)*	***- P34*** *(PI)*
10^5 - 10^4 copies/ml :	200-350 CD4/µl :
- GP160 P66 GP120 GP41 P55 P24 P34 P17 P52 P39 *(PIC)*	***- GP160 GP120 P55 P24 GP41 P34P66 P52 P17 P39*** *(PIC)*
- GP120 P34 *(PI)*	***- 0 bande*** *(PI)*
10^4 - 10^2 copies/ml :	350-500CD4/µl :
- GP160 GP120 GP41 P66 P55 P34 P24 P52 P17 *(PIC)*	***- GP160 GP120 GP41 P66 P55 P52 P24 P34 P17 P39*** *(PIC)* ***- GP120 P34*** *(PI)*
- 0 bande *(PI)*	>500 CD4/µl :
$<10^2$ copies/ml :	***- GP160 GP120 GP41 P66 P55 P52 P24 P34 P17 P39*** *(PIC)*
- 0 bande *(PIC)*	***- P17 GP160 P24*** *(PI)*
- GP160 P34 P24 GP120 P17 *(PI)*	

Tableau XIX. Les bandes les moins fréquentes selon les paramètres cliniques des patients

P39 P17 P34 P52 *pour le stade A,*
P17 P39 P52 P34 GP41 *pour le stade B et*
P39 P17 P34 P52 *pour le stade C.*

L'analyse de ces résultats nous fait tirer quant au diagnostic de l'infection du VIH un certain nombre de postulats :

i.) Il est établi à travers cette étude qu'il existe **une schématique évolutive du type de profil WB**: le pourcentage de cas de PC et celui de PIC augmente parallèlement à l'augmentation de la charge virale en question, alors que le nombre de cas de PI aura plutôt diminué au point final *(Fig.35)*.
Simultanément, avec les mêmes considérations, l'évolution de la répartition du nombre de cas de PIC et PC croit parallèlement à la décroissance du nombre de CD4 des patients, à l'exception de PI où la courbe de tendance régresse contrairement.

ii.) La catégorie de patients ayant un PIC avec **une charge virale élevée présente un spectre de bandes positivées plus large** que celui des patients avec une charge virale inférieure. Et vice versa quand on considère le PI.
En effet, lorsque les spectres de bandes détectés lors de la confirmation WB ont été analysés en fonction de la charge virale, du taux de CD4 et des stades cliniques un fait intéressant a émergé. Concernant le PIC, Les patients avec une charge virale plasmatique élevée présente un spectre de bandes positivées plus large que celui des patients avec une faible charge virale. Et vice versa quand on considère le PI (Tableau XVIII). La raison qui expliquerait ce fait nous échappe, car elle ne semble pas liée à la fréquence ou au nombre de CD4 ni aux stades cliniques des patients puisque par contre, les spectres des bandes positivées en fonction de ces deux paramètres ne varient pas. De sorte qu'**il ne semble pas y avoir de relation liant la réactivité des bandes WB et les niveaux de CD4 et/ou des stades cliniques**. Une étude plus

approfondie sur la cinétique des anticorps anti-VIH en fonction des niveaux de la charge virale, de CD4 et de l'évolution clinique est adéquate pour élucider ce fait.

iii.) Nous confirmons l'affirmation selon laquelle dans **le début ou le stade terminal de l'infection à VIH le profil WB est le plus souvent incomplet**, à l'exception de certaines conditions lors de la phase asymptomatique[103, 104].

Dans notre étude le PIC est majoritaire par rapport aux autres catégories de profil WB : 53,8 % pour le stade A, 40,7 % du stade B et 68,2% du stade C *(Tableau IX)*.

Le pourcentage élevé de ce dernier s'expliquant encore d'avantage par la perte de la réaction anticorps anti-VIH-1 qui s'observe chez les patients ayant un stade avancé de l'infection, très probablement du fait de la dégradation de la réponse immune humorale avec l'évolution de la maladie. Plusieurs études rapportent l'absence totale ou partielle d'une réactivité vis-à-vis des protéines gag ou pol chez les patients au stade SIDA maladie[104].

iv.) Nous affirmons également à la lumière de nos résultats la présence importante de PI dans la phase séroconversion.

En effet, 75% des patients ayant un PI se présentent au stade A ; ce qui pourrait être expliqué par la précocité probable de l'analyse.

Néanmoins, nous n'avons pas établir entre le PI et le PIC lequel est plus déterminant pour une prédiction significative de la phase de séroconversion étant donné que la réactivité indéterminée des bandelettes WB peut être due à plusieurs facteurs extrinsèques :soit des erreurs de manipulation, soit des réactions croisées des anticorps dirigés contre certains parasites[107], de la non inclusion de l'immunoréactivité des protéines gag et/ou pol dans les critères de positivité du test WB, recommandés par le CDC[88].

v.) Corrélation entre Stades Cliniques, Charge Virale et Nombre de CD4

Une corrélation significative a été observée entre le taux des CD4 et le stade clinique selon la classification CDC93 : ***r= -0,79 (P<0,00001)***

Implicitement, les données consignées dans le Tableau XIII montrent au préalable une corrélation entre le statut immunologique et le stade clinique de nos patients.

De fait, il en sort l'importance d'une investigation poussée et fiable dans l'établissement de cette corrélation entre le stade clinique et le statut immunitaire, surtout dans un contexte de ressources limitées comme c'est le cas dans les régions d'Afrique où le VIH est endémique. Cela pourrait être un outil précieux pour la déduction du statut immunitaire des patients dans des pays à ressources limitées.

La charge virale rapportée au statut immunologique, on trouve une corrélation inverse modérée : ***r= -0,53 (P=0,05),*** tandis quand elle est rapportée aux stades cliniques la corrélation devient plutôt faible ***r= -0,39 (P=0,05)***.

Concernant la corrélation existant entre la charge virale et le statut immunologique, il faut garder à l'esprit que le niveau de réplication virale avec un turn-over très élevé est corrélé au taux de destruction des lymphocytes CD4 puisque près de 10^{10} virions sont produits et éliminés chaque jour, et entre 100 millions à un milliard de cellules CD4 sont détruites et remplacées chaque jour[105].Une étude similaire qui a cherché à établir une relation entre la charge virale et la numération des CD4+ de patients sous TART et qui a trouvé que le taux des CD4 avait une tendance à la corrélation avec l'ARN du VIH-1 ($r = -0,20$, $p = 0,07$)[106].

Ensuite, concernant la charge virale et les stades clinques, la valeur de la charge virale est moins corrélée à l'état clinique des patients qu'au nombre de lymphocytes CD4. Il semble y avoir un paradoxe vue que la charge virale est corrélée au taux de CD4 et ensuite que le taux CD4 est corrélé aux stades cliniques ; donc il devrait se répercuter sur l'état clinique des patients.

Nos résultats suggèrent que le taux des CD4 est un prédicteur moyen de la charge virale et devrait être sujet d'études plus détaillées pour établir son niveau de prédiction caractéristique sur la charge virale pour qu'elle soit utilisée dans le contexte de ressources limitées.

Quant à l'évaluation du stade clinique des patients, il s'avère qu'elle est d'une valeur limitée pour prédire la charge virale et donc ne pourrait pas remplacer la numération des CD4 pour la prédiction de la charge virale.

IV.3. Forces, limites et perspectives de cette étude

Notre étude a pris en compte les différents types de tests utilisés en routine pour le diagnostic et le suivi de l'infection à VIH et recommandés par l'organisme de référence internationale en matière de gestion et de suivi du VIH au niveau mondial (OMS).
Elle apporte des éclaircissements nets sur la notion de la variabilité des bandes positivées lors de la confirmation Western Blot, cette variabilité est rarement développée dans le cadre du débat scientifique sur le diagnostic du VIH.

Nous avons établi une corrélation entre les outils de diagnostic et de suivi à l'infection à VIH du VIH permettant aux cliniciens de s'orienter sur l'un ou l'autre paramètre biologique ou clinique des patients dans un contexte de ressources limitées. Particulièrement, en ce qui concerne la confirmation de la sérologie, il a été illustré dans ce travail que sur base du test de confirmation WB on peut prédire le niveau de la charge virale à partir du spectre de bandes positivées. Tandis qu'une évaluation clinique du patient pourrait prédire le statut immunitaire.

La réalisation de ce travail se confronte à certaines limites. Il aurait été plus satisfaisant pour pouvoir tirer des conclusions pertinentes de réaliser cette étude sur un échantillon plus conséquent en effectifs étant donné que plus le nombre de bandes positivées est important, plus la probabilité de réactions non spécifiques est grande[103], d'inclure les données du TARV des patients séropositifs. En effet, la réponse viro-immunologique après l'initiation d'un traitement antirétroviral a une interaction avec la détectabilité du virus et est une valeur prédictive sur l'évolution à long terme de la maladie[105], et enfin de la une prise en compte de certaines données des dossiers médicaux des patients notamment la présence ou non et le type de maladies opportunistes ainsi que de leur prise en charge thérapeutique en notant que dans l'avènement du VIH / SIDA, il y a eu une recrudescence de la tuberculose et d'autres infections, notamment les infections sexuellement transmissibles telles que la syphilis, qui peuvent influencer ou détourner la décision de l'établissement de l'état clinique et des résultats de diagnostic.

En perspective :

- Nous proposons une révision des critères de positivité de la confirmation WB :

En effet, tel que nous l'avons rapporté, l'importance des bandes WB réactivées par les protéines P66 et P34 est avérée, à la vue de leurs fréquences qu'on rencontre respectivement au niveau des PIC et des PI. Elles devraient être sujettes à davantage d'investigations pour pouvoir être incluses dans les critères de positivité du test WB afin de diminuer le nombre élevé de profils indéterminés dans le contexte africain où la réactivité de ces bandes est très répandue[30, 104].

Nous recommandons les points auxquels nous n'avons pas pu donner de meilleurs éclaircissements aux études plus détaillées:

-Seule la charge virale a pu être corrélée à la réactivité des bandes WB. Il semble n'y avoir aucune relation entre les niveaux de CD4 et/ou des stades cliniques. Une étude plus approfondie sur la cinétique des anticorps anti-VIH en fonction des niveaux de la charge virale, de CD4 et de l'évolution clinique doit être effectuée pour élucider ce manque d'adéquation.

Il serait également judicieux de mener une étude plus ample et détaillée pour pouvoir tirer des conclusions pertinentes, en impliquant dans l'étude par exemple la présence ou non du TART ou d'un autre paramètre extrinsèque influant sur la charge virale ou le taux de CD4. Ou encore en déterminant les titres des Ac anti-VIH, étant donné que c'est à la base de ces Ac que la réactivité des bandes WB se réalise.

CONCLUSION

La mise à disposition d'une panoplie de molécules antirétrovirales n'a pas eu l'effet escompté pour diminuer le nombre de personnes infectées par le VIH particulièrement dans les pays aux ressources limitées. Certes, l'essor qu'a connu l'industrie de la chimiothérapie antitrétrovirale a permis de réduire le nombre des décès liés au VIH, mais cette fausse assurance miroitée par la disponibilité des médicaments a banalisé la gravité de l'infection au VIH dont le corollaire a été la baisse de la vigilance de la population.

Il est plus que jamais clairement établi que le meilleur traitement de l'infection au VIH est la prévention. Dans ce sens, l'un de ses outils les plus efficaces, dans le cadre des politiques de santé, est le dépistage.

Dans la lutte contre la pandémie mondiale du VIH, les différents outils du diagnostic prennent particulièrement une place importante étant donné la nécessité de la précocité du traitement afin de ralentir l'évolution de la maladie, et de limiter les risques de transmission.

Dans les pays aux ressources limités et particulièrement dans une bonne majorité des pays africains, l'infection au VIH sévit et l'incidence de l'infection ne cesse d'augmenter. Face à l'inaccessibilité aux nouvelles molécules antirétrovirales, l'une des stratégies efficaces pour rompre ce cercle vicieux d'augmentation des cas d'infection au VIH serait de développer de nouvelles approches pour mieux diagnostiquer et prendre en charge les patients VIH permettant ainsi de réduire la transmission du VIH et le nombre de patients séropositifs ignorant leur infection. Ces nouvelles démarches diagnostiques peuvent être utilisées par certains pays ou certaines régions dans les plateaux techniques ne permettent pas d'offrir toutes les méthodes sophistiquées et onéreuses du diagnostic et du suivi du SIDA.

Dans ce sens, notre étude a permis d'obtenir des résultats préliminaires encourageants qui incitent à mener des études de grande envergure et en développant des modèles mathématiques pour mieux déterminer les valeurs prédictives de certains tests utilisés en routine dans le diagnostic et le suivi de l'infection au VIH.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. F. Brun-Vézinet, F. Damond, D. Descamps et F. Simon. Virus de l'immunodéficience humaine. *Encycl Méd Chir (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS, Paris, tous droitsréservés), Maladies infectieuses, 8-050-B-15, 2000, 10 p.*

2. M. A. Checkley, G. Benjamin. Luttge and Eric O. Freed HIV-1 Envelope Glycoprotein Biosynthesis, Trafficking, and Incorporation J. *Mol. Biol. 2011; 410: 582–608*

3. P. Marc, S. Osmanov, O. M. Assossou, M-P. Kieny Human immunodeficiency virus (HIV) immunopathogenesis and vaccine development: A review, *Vaccine 2011; 29: 6191– 6218*

4. J. Foxa, S. Fidler Sexual transmission of HIV-1 *Antiviral Research 2010; 85: 276–285*

5. J. Blomberg, F. Benachenhou, V. Blikstad, G. Sperber, J. Mayer Classification and nomenclature of endogenous retroviral sequences (ERVs): Problems and recommendations *Gene 2009; 448: 115–123*

6. P. Charneau, AW Borman, Q.C. Guetard, D. Chamaret, Cohen Jet al. Isolation and envelope sequence of a highly divergent HIV-1 isolate. Definition of a new HIV-1 group. *Virology 1994; 205: 247-253*

7. P. Jern, O. Gfran Sperber, J. Blomberg Definition and variation of human endogenous retrovirus H *Virology 2004; 327: 93– 110*

8. F. Simon, P. Mauclère, P. Roques, I. Loussert-Ajaka, MC Muller- Trutwin, S. Saragosti et al. Identification of a new human immunodeficiency virus type1distinct from group M and group O. *Nat Med 1998; 4 : 1032-1037*

9. E. Castro-Nallar, M. Pérez-Losada, G. F. Burton, K. A. Crandall The evolution of HIV: Inferences using phylogenetics *Molecular Phylogenetics and Evolution 2012; 62: 777–792*

10. Mayaux MJ, Blanche S, Rouzioux C, Le Chenadec J, Chambrin V, Firtion G et al. Maternal factors associated with perinatal HIV-1 transmission. The French cohort study: 7 years of follow-up observation. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol 1995; 8: 188-194*

11. Mayaux MJ, Dussaix E, Isopet J, Rekacewicz C, Mandlbrot L, Ciraru-VigneronNet al. Maternal viral load during pregnancy and mother-to-child transmission of human immunodeficiency virus type 1: the French perinatal cohort studies. *J Infect Dis 1997; 175 : 143-148*

12. J.-D. Lelièvre, D. Arnoult, F. Petit, J. Estaquier Infection par le VIH1 et apoptose lymphocytaire T CD4 HIV1-associated CD4 T lymphocyte apoptosis *La revue de médecine interne 2003 ; 24 : 522–529*

13. T. Klimkait Tests VIH *Forum Med Suisse 2008; 8(15):278–281*

14. Montagnier L. Historical Essay *Science. 2002; 298:1727–8.*

15. A. Gessain Human retroviruses HTLV-1 and HTLV-2 *EMC-Maladies Infectieuses 2004; 1: 203–220*

16. John W. Sleasman, MD, and Maureen M. Goodenow, PhD Gainesville, Fla HIV-1 infection *Mosby 0091-6749/2003*

17. J. Chinen and W.T. Shearer Molecular virology and immunology of HIV infection *Mosby 0091-6749/2002*

18. S. Wang , F. Xu, U. Demirci Advances in developing HIV-1 viral load assays for resource-limited settings *Biotechnology Advances 2010; 28: 770–781*

19. Espy MJ, et al. Real-Time PCR in Clinical Microbiology: Applications for Routine Laboratory Testing *Clin Microbiol Reviews. 2006;19:165–256.*

20. A. Martinot, M. Aurel, F. Dubos Rapid test performance characteristics evaluation *Archives de pédiatrie 2007; 14 : 524–526*

21. HAS. Dépistage de l'infection par le VIH en France. Modalités de réalisation des tests de dépistage. Octobre 2008

22. Y. Ataman-Onal, F. Biron et B. Verrier Evolution des réactifs de détection des anticorps anti-VIH *Méd Mal infect, 1998 ; 28 : 496-504*

24. Veiss S.H., Goedert J.J., Sarngadharan M.G., Bodner A,J., Gallo R.C., Blattner W.A. - Screening test for HTLV-III (AIDS agent) antibodies. Specificity, sensitivity, and applications. *JAMA*. 1985; 253221-5

25. Denis F., Leonard G., Mounier M., Sangare A., Gershydamet G., Rey G.L., Barin F.- Efficacy of five enzyme immunoassays for antibody to HIV in detecting antibody to HTLV-IV. *Lancet 1987; 1:324-5*

26. F. Simon, J. M. Pépin, F. Brun-Vezinet Reliability of western blotting for the confirmation of HIV-1 seroconversion *Lancet 1992 ; 340:19-26*

27. Courouce A.M. Trousses de dépistage des anticorps anti-VIH et les difficultés de la sérologie. Groupe de travail "Rétrovirus" de la Société Française de Transfusion Sanguine. *Transfus Clin Biol. 1994;1: 387-95*

28. Constantine N.T. Serologic tests for the retroviruses: approaching 11 decade of evolution. *AIDS. 1993; 7 : 1-13*

29. Mortimer P.P. Antibody tests: progress and pitfalls *Clin Diagn Virol. 1996; 5:13I-6*

30. Chattopadhya D., Aggarwal R.K., Kumari S. Profile of antigen-specific antibody response detectable by western blot in relation to diagnostic criteria for human immunodeficiency virus type-I (HIV-I) infection. *Clin Diagn Virol. 1996; 7 : 35-4*

31. T.M. Rehle, P. Mattke, G.N. Liomba Evaluation of a quantitative double ELISA strategy for confirmation and differentiation of HIV infection *Journal of Virological Methods 1996; 66: 203-209*

32. A. Mas, V. Soriano, M. Guti4rrez Reliability of a New Recombinant Immunoblot Assay (RIBA HIV- 1/HIV-2 SIA) as a Supplemental (Confirmatory) Test for HIV-1 and HIV-2 Infections *Transhas. Sci. Vol. 18, No. 1, pp. 63-69, 1997*

33. R. Thorstensson, H. Gaines, G. Biberfeld Large-scale evaluation of an alternative strategy for confirmation of HIV antibodies *Clinical and Diagnostic Virology 1995; 4:15-25*

34. G. Huang, Y.Takeuchi , A. Korobeinikov HIV evolution and progression of the infection to AIDS *J. of Theoretical Biology 2012; 307 : 149–159*

35. Parry J.V., Connell J.A., Reinbott P., Garcia A.B., Avillez F., Mortimer P.P. Gacpat Hiv 1 + 2: A simple, inexpensive assay to screen for, and discriminate between, anti-HIV 1 and anti-HIV 2. *J Med Virol. 1995; 45 : l-6*

36. Ozanne G., Fauvel M Perrmance and reliability of five commercial enzyme-linked inmmnosorbent assay kits in screening lbr antihuman immunodeficieney virus antibody in high-risk subjects. *J Clin Microbiol. 1988; 26 : 1496-5II0*

37. Dopel S.H,, Schubert U., Gp, Unow R., Pas P., Ronspeck W., Pauli G., Porstmann T. Comparison of four anti-HIV screening assays which belong to different test generations. *Eur J Clin Chem Clia Biochem. I991; 29 : 331-7*

38. Windheuser M,G., Wood C. Characterization of imnmnoreactive epitopes of the HIV-I p41 envelope protein using fusion proteins synthesized in *Escherichia coll.* Gone. 1988; 64 : It17-19

39. Kieny M,P, Rautmann G., Sci, Mitt D., Dott K., Wain-Hobson, S., Alizon M,, Girard M., Chamaret S., Laurent A., Montagnier L., Lecocq J.P. AIDS virus env protein expressed from a recombinant vaccinia virus. *Biotechnology, 1986; 4 : 790-5*

40. Johnson I.E. Detection of human immunodeficiency virus type I antibody by using commercially available whole-cell viral lysate, synthetic peptide, and recombinant protein enzyme immunoassay systems. *J Clin Microbiol. 1992; 30 : 216-8*

41. Steven A. Yukl, Peilin Li, Katsuya Fujimoto, Harry Lampiris, Chuanyi M. Lu, C. Bradley Hare, Steven G. Deeks, Teri Liegler, Mark Pandori, Diane V. Havlirb, Joseph K. Wong Modification of the Abbott RealTime assay for detection of HIV-1 plasma RNA viral loads less than one copy per milliliter *Journal of Virological Methods 2011; 175: 261– 265*

42. ONUSIDA Rapport OnuSIDA Sur L'épidémie Mondiale De SIDA | 2010

43. H. Himmich Stratégies du Maroc contre le VIH/SIDA 2010

44. OMS Traitement Antirétroviral De L'infection À Vih Chez L'adulte Et L'adolescent En Situation De Ressources Limitées : Vers Un Accès Universel Recommandations pour une approche de santé publique 2006

45. Ministère de la santé Direction de l'épidémiologie et de la lutte contre les maladies : Analyse Des Modes De Transmission Du Vih Au Maroc 2010

46. E. Fanales-Belasio, M. Raimondo, B. Suligoi HIV virology and pathogenetic mechanisms of infection: a brief overview *Ann Ist Super Sanità 2010 | Vol. 46, No. 1: 5-14*

47. ONUSIDA Méthodes de dépistage du VIH *Collection Meilleurs pratiques 1997*

48. C. Pasquier, K. Sandres-Sauné, J.-M. Mansuy Virological exploration of individuals with discordant HIV screening tests *Journal of Clinical Virology 2004; 30:218–223*

49. Clavel F, Guetard D, Brun-Vezinet F, Chamaret S, Rey MA, Santos- Ferreira MO, et al. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science 1986;233:343-6*

50. Hymes KB, Cheung T, Greene JB, Prose NS, Marcus A, Ballard H, et al. Kaposi's sarcoma in homosexual men-a report of eight cases. *Lancet 1981;2:598-600*

51. Plantier JC, Leoz M, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, Lemee V, et al. A new human immunodefi ciency virus derived from gorillas. *Nat Med 2009;15:871-2*

52. Peeters M, Chaix ML, Delaporte E. Genetic diversity and phylogeographic distribution of SIV: how to understand the origin of HIV. *Med Sci (Paris) 2008;24:621-8*

53. Keele BF, Tazi L, Gartner S, Liu Y, Burgon TB, Estes JD, et al. Characterization of the follicular dendritic cell reservoir of human immunodefi ciency virus type 1. *J Virol 2008;82:5548-61*

54. Chomont N, El-Far M, Ancuta P, Trautmann L, Procopio FA, Yassine-Diab B, et al. HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat Med 2009;15:893-900*

55. D. Gibellini, F. Vitone, E. Gori, M. La Placa, M. Carla Re Quantitative detection of human immunodeficiency virus type 1(HIV-1) viral load by SYBR green real-time RT-PCR technique in HIV-1 seropositive patients *Journal of Virological Methods 2004; 115: 183–189*

56. N. Sitoe, E. Luecke, N. Tembe, R. Matavele, V. Cumbane , E. Macassa , P. Vaz , H. Sheppard, Ilesh V. Jani Absolute and percent CD4+ T-cell enumeration by flow cytometry using capillary blood *Journal of Immunological Methods 2011; 372 : 1–6*

57. Daar ES, Pilcher CD, Hecht FM. Clinical presentation and diagnosis of primary HIV-1 infection. *Curr Opin HIV Aids 2008;3:10-15*

58, Pilcher CD, Eron JJ Jr, Vemazza PL, Battegay M, Harr T, Yerly S, et al.. Sexual transmission during the incubation period of primary HIV infection. *Jama 2001;286:1713-4*

59. Pilcher CD, Joaki G, Hoffman IF, Martinson FE, Mapanje C, Stewart PW, et al. Amplifi ed transmission of HIV-1: comparison of HIV-1 concentrations in semen and blood during acute and chronic infection. *Aids 2007;21:1723-30*

60. G. Yılmaz Diagnosis of HIV infection and laboratory monitoring of its therapy *Journal of Clinical Virology 2001; 21: 187–196*

61, Yeni P. Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Recommandations du groupe d'experts. Paris, Flammarion Médecine- *Science, 2008*

62. H. Hocini, L. Andreoletti Méthodes d'analyse et de suivi de l'infection par les virus de l'immunodéfi cience humaine *Revue Francophone Des Laboratoires 2009 ; 417*

63. Fiscus SA, Cheng B, Crowe SM, Demeter L, Jennings C, Miller V, et al. HIV-1 viral load assays for resource-limited settings. *PLoS Med 2006;3:417*

64. N. Tang, S. Huanga, J. Salituro, W.B. Maka, G. Cloherty, J. Johanson, Y.H. Li, G. Schneider , J. Robinson, J. Hackett Jr., P. Swanson, Klara Abravaya A RealTime HIV-1 viral load assay for automated quantitation of HIV-1 RNA in genetically diverse group M subtypes A–H, group O and group N samples *Journal of Virological Methods 2007; 146 : 236–245*

65. Gueudin M, Simon F. Plasma RNA viral load in HIV-1 group O infection by real-time PCR. *Methods Mol Biol 2005;304:221-8*

66. Damond F, Collin G, Descamps D, Matheron S, Pueyo S, Taieb A, et al. Improved sensitivity of human immunodefi ciency virus type 2 subtype B plasma viral load assay. *J Clin Microbiol 2005;43:4234-6*

67. Damond F, Gueudin M, Pueyo S, Farfara I, Robertson DL, Descamps D, et al. Plasma RNA viral load in human immunodefi ciency virus type 2 subtype A and subtype B infections. *J Clin Microbiol 2002;40:3654-9*

68. A. Eberhard, B. Ponceau, F. Biron, B.Verrier Les mécanismes de résistance à la transmission sexuelle du VIH-1 *Médecine et maladies infectieuses 2005 ; 35 : 517–524*

69. Wells TNC, Power CA, Proudfoot AEI. Definition, function and pathophysiological significance of chemokine receptors. Trends Pharmacol Sci 1998;19:376–80.

70. Liu R, Paxton WA, Choe S, Ceradini D, Martin SR, Horuk R, et al. Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV-1 infection. Cell 1996;86: 367–77.

71. Courgnaud V, Muller-Trutwin M, Sonigo P. Evolution and virulence of primate lentiviruses. Med Sci (Paris) 2004;20:448–52.

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

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

74. Salemi M, Strimmer K, Hall WW, et al. Dating the common ancestor of SIVcpz and HIV-1 group M and the origin of HIV-1 subtypes using a new method to uncover clock-like molecular evolution. *Faseb J 2001;15: 276–8*

75. Santiago ML, Range F, Keele BF, et al. Simian immunodeficiency virus infection in free-ranging sooty mangabeys (Cercocebus atys atys) from the Tai Forest, Cote d'Ivoire: implications for the origin of epidemic human immunodeficiency virus type 2. *J Virol 2005;79:12515–27*

76. Guyader M, Emerman M, Sonigo P, Clavel F, Montagnier L, Alizon M. Genome organization and transactivation of the human immunodeficiency virus type 2. *Nature 1987;326:662–9*

77. Kanki PJ. Biologic features of HIV-2. An update. *AIDS Clin Rev 1991; 17–38*

78. Kanki PJ, Travers KU, S MB, et al. Slower heterosexual spread of HIV-2 than HIV-1. *Lancet 1994; 343:943–6*

79. Marlink R, Kanki P, Thior I, et al. Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science 1994;265:1587–90*

80. G. Huang, Y. Takeuchi, A. Korobeinikov HIV evolution and progression of the infection toA IDS *Journal of Theoretical Biology2012; 307 :149–159*

81. Fiebig EW, Wright DJ, Rawal BD, Garrett PE, Schumacher RT, Peddada L, Heldebrant C, Smith R, Conrad A, Kleinman SH, Busch MP. Dynamics of HIV viremia and antibody seroconversion in plasma donors: implications for diagnosis and staging of primary HIV infection. *AIDS 2003;17:1871-9*

82. Rosenberg YJ, Anderson AO, Pabst R. HIV-induced decline in blood CD4/CD8 ratios: viral killing or altered lymphocyte trafficking? *Immunol Today* 1998;19:10-7.

83. Brenchley JM, Schacker TW, Ruff LE, Price DA, Taylor JH, Beilman GJ, Nguyen PL, Khoruts A, Larson M, Haase AT, Douek DC. CD4+ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. *J Exp Med* 2004;200:749-59.

84. Mehandru S, Poles MA, Tenner-Racz K, Horowitz A, Hurley A, Hogan C, Boden D, Racz P, Markowitz M. Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract. *J Exp Med* 2004;200:761-70.

85. Brooks JT, Kaplan JE, Holmes KK, Benson C, Pau A, Masur H. HIV-associated opportunistic infections-going, going, but not gone: the continued need for prevention and treatment guidelines. *Clin Infect Dis* 2009;48:609-11.

86. C. Bigaillon, A. Mérens, C. Rapp, Intérêt des tests génotypiques de résistance du VIH aux antirétroviraux en pratique clinique quotidienne *Revue Francophone Des Laboratoires 2010 ; 422*

87. B. Roquebert, F. Damond, F. Brun-Vézinet, D. Descamp Diversité génétique des VIH et ses conséquences *Pathologie Biologie 2009 ; 57 :142–148*

88. F. Tebourski, A. Slim, A. Elgaaie The significance of combining World Health Organization and Center for Disease Control criteria to resolve indeterminate human immunodeficiency virus type-1 Western blot results *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease 2004; 48 : 59–61*

89. CTIP 2 : un facteur clé dans l'établissement de de la latence transcriptionnelle post-intégrative du VIH1 S. Stella 2008

90. M. Seghier Diagnostic des Infections Virales *Institut Pasteur d'Algérie 2008*

91. La PCR de routine en temps réel du laboratoire de virologie Avec L'analyseur *Journal D'information Biomédicale 2003 ; 67*

92. P. Merel Automatisation et biologie moléculaire : de l'extraction des acides nucléiques à la PCR temps-réel *Spectra Biologie N° 162 • Novembre 2007*

93. M. Bogard, J. Lamoril Biologie Moléculaire et Infectiologie *Les technologies de laboratoires 2008 ; 11*

94. G. Vercauteren Organisation mondiale de la Santé : Techniques De Numération Des Lymphocytes T Cd4 Information Technique *Organisation mondiale de la Santé 2004*

95. Beckman Coulter, Inc. Détermination des valeurs absolues sur COULTER® EPICS™ XL™/XL-MCL™, Cytomics FC 500 et systèmes de cytométrie en flux équivalents 2010

96. F. Chaix , C. Goujard Actualités sur les traitements de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine *La Revue de médecine interne 2009 ; 30:543–554*

97. *http://cytobase.montp.inserm.fr consulté le 26 Juin 2011*

98. Elbim C, Gastal C, Gougerot Pocidalo Ma. Evaluation of tests recommended by the CDC for the determination of CD4+ T lymphocytes in patients infected by the human immunodeficiency virus, *Pathol Biol Paris, 1994, 42 : 830-5*

99. W. Schumacher, E. Frick, M. Kauselmann Fully automated quantification of human immunodeficiency virus (HIV) type 1 RNA in human plasma by the COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® system Journal of Clinical Virology 38 (2007; 38, 304–312

100. L. A. M. Luft, M. John Gill, Deirdre L. HIV-1 viral diversity and its implications for viral load testing: review of current platforms *Journal of Infectious Diseases 2011; 15: 661–670*

101. A. Tehe, C. Maurice, Debra L. Hanson b, Marie Y. Borget, Nadine Abiola, Matthieu Marana, Daniel Yavo, Zuzana Tomasik, J¨urg B¨oni , J¨org Sch¨upbach, John N. Nkengasong Quantification of HIV-1 p24 by a highly improved ELISA: An alternative to HIV-1 RNA based treatment monitoring in patients from Abidjan, Côte d'Ivoire *Journal of Clinical Virology 2006; 37: 199–205*

102. A. Diouf, M. Seydi, B.-M. Diop, M. Soumaré, C.-T. Ndour, N.-M. Manga, N.-M. Dia Badiane, S.-A. Diop, P.-S. Sow , Aspects épidémiologiques et cliniques de l'infection par le VIH-2 à Dakar *Médecine et maladies infectieuses 2007 ; 37 : 584–589*

103. J.-L. Koeck, P. Dubrous, P. Coulot Et A. Blanchard De Vaucouleurs Problèmes posés par l'interprétation des tests western-blot VIH-I en 1997 *Revue frangaise des laboratoires, juin 1997, N ° 294*

104. B. Admou, L. Zougaghi, N. Sora Profils western-blot et stades cliniques chez les patients séropositifs au VIH au Maroc *Elsevier Masson SAS 2009*

105. I. Poizot-Martin Infection par le VIH : effets délétères d'une réplication virale sous traitement *Antibiotiques 2008 ; 10 : 73-80*

106. A. Tehe, C. Maurice, Debra L. Hanson Quantification of HIV-1 p24 by a highly improved ELISA: An alternative to HIV-1 RNA based treatment monitoring in patients from Abidjan, Côte d'Ivoire *Journal of Clinical Virology 2006; 37: 199–205*

107. F. Tebourski, M. A. Slim, Amel Elgaaie Diagnosis of HIV-1 infection: importance of taking into account the anti-pol gene product reactivity in the interpretation of Western blot results *Immunology Letters 94 (2004) 39–41*

ANNEXES

Annexe I : Fréquence en pourcentage des bandes positivées au test WB

Nature de la bande positivée	PI	PC	PIC	Nombre total / Total tests WB VIH-x	Fréquence en %	
GP160	3	29	**35**	67/69	**97,1%**	**VIH-1**
GP120	3	56	**61**	120/128	**94,4%**	
P66	1	29	**35**	65/69	**94,2%**	
P24	5	**56**	55	117/128	**92,1%**	
P55	1	29	**32**	62/69	**89,8%**	
GP41	0	56	**58**	114/128	**89,7%**	
P34	3	**56**	53	112/128	**88,1%**	
P52	0	**29**	28	57/69	**82,6%**	
P17	2	**56**	28	86/128	**67,7%**	
P39	1	**29**	5	35/69	**50,7%**	
GP105	2	0	0	2/59	**03,4%**	**VIH-2**
P34	2	0	0	2/59	**03,4%**	
P24	2	0	0	2/59	**03,4%**	
P17	2	0	0	2/59	**03,4%**	
GP36	1	0	0	1/59	**01,7%**	

- *Le tableau ci-dessus montre que les bandes GP160, GP120, P66, P55 et GP41 sont prédominantes dans la catégorie de PIC alors que celles qui prédominantes dans la catégorie de PC sont la P55, P52, P39, P34, P24 et P17.*

- *Cependant, la fréquence de chaque bande au sein de chaque de profil WB (), fait remarquer que dans la catégorie de PIC les bandes les plus fréquentes par ordre décroissant sont la GP160, P66, GP120, GP41, P55, P24, P34, P52, P17 puis P39 tandis que pour la catégorie de PI ce sont les bandes P24, GP160 ,GP120 , P34, P17, P66, P55 qui sont fréquentes alors que GP41, P52 et P39 sont totalement absentes ; pour le VIH-1 . Pour le PC, comme le nom l'indique, toutes des bandes ont été positivées*

- *Pour le VIH-2, ce sont plutôt les bandes GP105, P34, P24, P17 et GP36 qui sont les plus fréquentes dans la seule catégorie de PI où elles ont été positivées*[60].

Nous avons a eu neuf cas de Profil Indéterminé selon les critères de l'OMS.

Les cas de figure dévoilés dans ces PI, concernant l'infection à VIH-1, étaient :

-GP160 P66 P55 P34 P24 (1/8) /
-GP120 P24 P34 (2/8) /

-GP160 P66 P55 (1/8) /
-GP160 P24 P17 (1/8) /
-GP160 (1/8) /
-P17 (1/8) et
-P34 (1/8).

Annexe II. Bandes positivées au WB rapportées aux catégories de charge virale

Bandes WB	Total			Tranches de la charge virale											
				$>10^5$			10^5–10^4			10^4–100			<40		
	PI	PC	PIC	PI	PC	PIC	PI	PC	PIC	PI	PC	PIC	PI	PC	PIC
GP160	2/3	22/22	30/30	0	10/10	12/12	0	8/8	16/16	0	4/4	2/2	2/3	0	0
GP120	2/7	46/46	52/54	0	22/22	25/26	1/1	17/17	23/24	0	7/7	4/4	1/5	0	0
GP41	0	46/46	51/54	0	22/22	24/26	0	17/17	23/24	0	7/7	4/4	0	0	0
P66	0	22/22	30/30	0	10/10	12/12	0	8/8	16/16	0	4/4	2/2	0	0	0
P55	1/3	22/22	27/30	0	10/10	11/12	0	8/8	14/16	0	4/4	2/2	0	0	0
P52	0	22/22	23/30	0	10/10	9/12	0	8/8	13/16	0	4/4	1/2	0	0	0
P39	0	22/22	3/30	0	10/10	0	0	8/8	3/16	0	4/4	0	0	0	0
P34	3/7	46/46	43/54	0	22/22	21/26	1/1	17/17	18/24	0	7/7	4/4	1/5	0	0
P24	3/7	46/46	46/54	1/1	22/22	21/26	0	17/17	21/24	0	7/7	4/4	2/5	0	0
P17	2/7	46/46	24/54	0	22/22	10/26	0	17/17	13/24	0	7/7	1/4	1/5	0	0
GP105	2/24	0	0	NR											
GP36	1/24	0	0	NR											

Quand nous rapporte les bandes positivées lors de la confirmation WB aux résultats de la charge virale nous trouve les configuration suivantes :

Charge Virale : Bandes positivées (par ordre de fréquence) :

- $>10^5$ copies/ml : **-GP160 P66 P55 GP120 GP41 P24 P34 P17 P52 P39** (PIC) et **-P24** (PI)
- 10^5 - 10^4 copies/ml : **-GP160 P66 GP120 GP41 P55 P24 P34 P17 P52 P39** (PIC) et **-GP120 P34** (PI)
- 10^4 - 10^2 copies/ml : **-GP160 GP120 GP41 P66 P55 P34 P24 P52 P17** (PIC) et -0 bande pour le PI

- $<10^2$ copies/ml : -0 bande pour le PIC et
  -GP160 P34 P24 GP120 P17 pour le PI

Annexe III. Bandes positivées au WB rapportées au nombre de CD4

Bandes WB	Total			Catégorie par nombre de CD4											
				> 500			500–350			350–200			< 200		
	PI	PC	PIC	PI	PC	PIC	PI	PC	PIC	PI	PC	PIC	PI	PC	PIC
GP160	2/2	21/21	30/30	1/2	5/5	5/5	1/2	4/4	7/7	0	6/6	6/6	0	6/6	12/12
GP120	1/5	43/43	53/54	0	8/8	10/10	1/2	10/10	13/13	0	11/11	9/9	0	14/14	21/22
GP41	0	43/43	51/54	0	8/8	10/10	0	10/10	13/13	0	11/11	8/9	0	14/14	20/22
P66	0	21/21	30/30	0	5/5	5/5	0	4/4	7/7	0	6/6	6/9	0	6/6	12/12
P55	0	21/21	27/30	0	5/5	5/5	0	4/4	7/7	0	6/6	6/6	0	6/6	9/12
P52	0	21/21	23/30	0	5/5	4/5	0	4/4	7/7	0	6/6	3/6	0	6/6	9/12
P39	1/2	21/21	3/30	0	5/5	1/5	1/2	4/4	0	0	6/6	1/6	0	6/6	1/12
P34	2/5	43/43	43/54	0	8/8	9/10	1/2	10/10	10/13	0	11/11	8/9	1/3	14/14	16/22
P24	2/5	43/43	46/54	1/2	8/8	8/10	1/2	10/10	12/13	0	11/11	9/9	0	14/14	17/22
P17	2/5	43/43	23/34	2/2	8/8	7/10	0	10/10	7/13	0	11/11	4/9	0	14/14	5/22
GP105	2/3	0	0	NR											
GP36	2/3	0	0	NR											

En accommodant les résultats des bandes WB positivées à ceux de la mesure de CD4 nous notons que les bandes présentes, par ordre d'importance en nombre, sont :

Tranches des taux de CD4 : Bandes positivées (par ordre de fréquence) :

- >500 CD4/µl : **-GP160 GP120 GP41 P66 P55 P52 P24 P34 P17 P39** (PIC) et
  -P17 GP160 P24 (PI)
- 500-350 CD4/µl : **-GP160 GP120 GP41 P66 P55 P52 P24 P34 P17 P39** (PIC) et
  -GP120 P34 (PI)
- 350 - 200 CD4/µl : **-GP160 GP120 P55 P24 GP41 P34P66 P52 P17 P39** (PIC) et
  -0 bande pour le PI

- <200CD4/µl : **-GP160 P66 GP120 GP41 P24P55 P52P34 P39P17** (PIC)
  -P34 pour le PI

Annexe IV : Fiches techniques des kits et appareils utilisés dans l'étude

	Test New LAV Blot HIV I	***Test INNO-LIA™ HIV Score***	***RT PCR en temps réel : Roche cobas ampliprep (extraction) / Roche cobas taqMan (amplification)***	***COUNT COULTER EPIC XL™***
Principe	Protéines recombinantes et des peptides synthétisées de VIH1 (gp160,gp120,gp41,p66,p55,p52,p39,p34, p24,p17) sont fixés sur membrane nylon qu'on incube avec sérum. La révélation se fait par méthode ELISA	Protéines recombinantes et des peptides synthétisées de VIH1 (gp120,gp41), VIH2(gp36,sgp105), VIH1 type O(sgp120) et les antigènes communs (p24,p31,p17) sont fixé sur membrane nylon qu'on incube avec sérum La révélation se fait par méthode ELISA	Quantification d'ARN du VIH1 en utilisant Des sondes taqMan marquée à la fluorescence se fixe de façon spécifique sur le produit d'amplification. Au cours de la phase d'amplification de la PCR, l'activité 5' exonucléase de la Taq DNA polymérase dégrade la sonde et libère la fluorescence. Le suivi en temps réel de la fluorescence accumulée permet la quantification du produit PCR.	*Non signalé*
Technique	*Western blot* *ELISA*	*Western blot* *ELISA*	*RT-PCR*	*Non signalé*
Type de groupes recherchés	*VIH1 (type M et O)*	*VIH1 (type M et O) et VIH2*	*VIH1 du groupe M*	*Non signalé*
Echantillon	*Sérum*	*Sérum*	*plasma*	*Non signalé*
Volume	*100µl*	*100µl*	*1,05 ml*	*Non signalé*
Sensibilité	*100%*	*100%*		*Non signalé*
Spécificité	*98,7%*	*96,7%*	*100%*	*Non signalé*
Durée analyse	*18h*	*16h*	*6h*	*Non signalé*

Annexe V : Antirétroviraux commercialisés en janvier 2010 (Annexe)

Abbréveation, DCI	Nom commercial
INTI	
AZT, zidovudine	Rétrovir®
3TC, lamivudine	Epivir®
ddI, Didanosine	Videx®
D4T, Stavudine	Zérit®
ABC, Abacavir	Ziagen®
FTC, Emtricitabine	Emtriva®
TDF, Ténofovir	Viréad®
Association de INTI	
AZT + 3 TC	Combivir®
AZT + 3 TC + ABC	Trizivir®
3TC + ABC	Kivexa®
Emtricitabine + ténofovir	Truvada®
INNTI	
NVP, Névirapine	Viramune®
EFV, Efavirenz	Sustiva®
ETV, Etravirine	Intelence ®
IP	
RTV, Ritonavir	Norvir®
IDV, Indinavir	Crixivan®
SQV, Saquinavir	Invirase®
Fos-APV, Fosamprénavir	Telzir®
LPV-r, Lopinavir/ritonavir	Kalétra®
ATZ, Atazanavir	Reyataz®
TPV, Tipranavir	Aptivus®
TMC 114 = darunavir	Prézista®
IF	
T20, Enfurvitide	Fuzéon®
Inhibiteur de l'intégrase	
RVG, Raltégravir	Isentress®
Inhibiteur du corécepteur CCR5	
MRV, Maraviroc	Celsentri ®

Résumés

Résumé

Titre : ***Analyse des paramètres du diagnostic et du suivi de l'infection au VIH***

Titre : Analyse des paramètres du diagnostic et du suivi de l'infection au VIH

Mots Clés : Virus de l'immunodéficience humaine**,** Diagnostic de l'infection au VIH, technique Western Blot, Charge virale, Immunophénotypage

Auteur : Fils-Merveille MUKUNDWA

Introduction :
Le suivi des personnes infectées utilise des tests sophistiqués et coûteux, rarement disponibles dans les pays à ressources limitées.
L'objet de cette étude est d'analyser le caractère l'interdépendante des différents tests de diagnostics et le suivi de l'infection au VIH.

Patients et Méthodes :
Notre étude a porté sur 128 patients dépistés positifs par la technique ELISA, l'infection à VIH ayant été confirmée par la technique Western Blot, la charge virale a été suivie par la technique de la PCR en temps réel et la numération des LTCD4+ par la cytométrie en Flux.

Résultats et discussion :
La fréquence des bandes réactivées par la technique WB est à 97,1% pour la Gp160, à 94,4% pour la p66, à 94,2% pour la Gp120, à 92,1% pour la p24, à 89,8% pour la p55, à 89,7% pour la Gp41, à 88,1% pour la p34, à 82,6% pour la p52, à 67,7% pour la p17 et à 50,7% pour la p39.
Nous rapportons l'importance des bandes P66 et P34. Seule la CV est corrélée à la réactivité des bandes WB. Il existe une schématique évolutive du type de profil WB en fonction de la CV : avec une Charge Virale importante, le nombre de cas de PIC augmente et celui de PI diminue.

Conclusion :
La technique WB pourrait être un outil précieux pour la déduction du degré de la réplication du virus et le statut immunologique chez les patients dans des pays à ressources limitées.

Summary

Title: Analysis of parameters in the diagnosis and monitoring of HIV infection

Keywords: Human Immunodeficiency Virus, Diagnosis of HIV infection, Technical Western Blot, Viral Load, Immunophenotyping

Author: Fils-Merveille MUKUNDWA

Introduction:
Monitoring of infected individuals using sophisticated and expensive tests are rarely available in resource-limited countries.
The purpose of this study is to analyze the interdependent nature of the various diagnostic tests and monitoring of HIV infection.

Patients and Methods:
Our study focused on 128 patients tested positive by ELISA, HIV infection was confirmed by Western Blot technique, viral load was followed by the technique of real-time PCR and count the LTCD4 + flow cytometry.

Results and discussion:
Frequency bands reactivated by WB technique is 97.1% for gp160, 94.4% for p66, 94.2% for Gp120, 92.1% for p24, 89.8 % for p55, 89.7% for gp41, 88.1% for p34, 82.6% for p52, 67.7% for p17 and 50.7% for p39.
We report the importance of P66 and P34 bands. Only the CV is correlated to the reactivity of WB bands. There is a schematic evolutionary profile type based on the WB CV: Viral Load with a significant number of cases increases and the PIC PI decreases.

Conclusion:
WB technique could be a valuable tool for deriving the degree of viral replication and immune status in patients in countries with limited resources.

ملخص

العنوان: تحليل المعلمات في تشخيص ورصد الإصابة بفيروس نقص المناعة البشرية

كلمات البحث: فيروس نقص المناعة البشرية، تشخيص العدوى بفيروس نقص المناعة البشرية والتقنية لطخة ويسترن، الحمل الفيروسي، المناعي الظاهري

المؤلف: فيس ميرفاي موكاندوا

مقدمة:
رصد الأشخاص المصابين باستخدام اختبارات متطورة ومكلفة ونادرا ما تتوفر في البلدان ذات الموارد المحدودة.
والغرض من هذه الدراسة هو تحليل طبيعة مترابطة من الاختبارات التشخيصية المختلفة ورصد العدوى بفيروس نقص المناعة البشرية.

المرضى والطرق:
وقد تم دراستنا تركز على 128 مريضا ثبت تعاطيه من قبلELISA ، أكد فيروس نقص المناعة البشرية العدوى عن طريق تقنية البقعة الغربية، تليها الحمل الفيروسي بواسطة تقنية PCR في الوقت الحقيقي وحساب + LTCD4 تدفق الخلوي.

النتائج والمناقشة:
نطاقات التردد تنشيط بواسطة تقنية WB هو 97.1٪ لgp160، 94.4٪ للP66، 94.2٪ للGp120، 92.1٪ للP24، 89،8 ٪ لP55، 89.7٪ للGp41، 88.1٪ للP34، P52 82.6٪ ل، 67.7٪ للP17و50.7٪ لP39.
نحن التقرير على أهمية P34 P66 والعصابات. فقط يرتبط على CV للتفاعل من العصابات WB.هناك نوع الملف التخطيطي التطورية استنادا إلى :WB CV الحمل الفيروسي مع عدد كبير من الحالات زيادات وانخفاضات.PI PIC

الخلاصة:
يمكن WB تقنية أن يكون أداة قيمة لاشتقاق درجة تكاثر الفيروس والحالة المناعية لدى المرضى في البلدان ذات الموارد المحدودة.

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 reconnaisse en restant fidèle à leur renseignement.*
- *D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humain.*
- *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

— الرباط —

قسم الصيدلي

بسم الله الرحمان الرحيم

أقسم بالله العظيم

- أن أراقب الله في مهنتي
- أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"

جامعة محمد الخامس– السويسي

كلية الطب والصيدلة بالرباط

سنـة : 2012 **أطروحة رقم: 90**

تحليل معطيات التشخيص والمتابعة لفيروس نقص المناعة المكتسبة

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : 21 دجنبر 2012

من طرف

السيد: فيس ميرفاي موكاندوا

المزداد في: **03** دجنبر **1983** ببوجومبورا (بوراندي)

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: فيروس نقص المناعة المكتسبة – تشخيص الإصابة بداء المناعة المكتسبة – تقنية وستيرن بلوت – الحمولة الفيروسية – النمط الظاهري المناعي.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

السيد: محمد عدناوي أستاذ في الطب الباطني	**رئيس**
السيد: سعد المراني أستاذ في علم الفيروسات	**مشرف**
السيدة: فطومة محاسن أستاذة في الطب الباطني	**أعضاء**
السيد : عبد القادر بلمكي أستاذ في علم الدم	
السيد : منصف الرابحي أستاذ في الطب الباطني	
السيد: سعيد زوهير أستاذ مبرز في علم الأحياء الدقيقة	