



HAL
open science

Suivi immuno-virologique et thérapeutique de l'infection à VIH chez des enfants suivis au CHU pédiatrique de Ouagadougou (collaboration ESTHER)

Xavier Agapit

► To cite this version:

Xavier Agapit. Suivi immuno-virologique et thérapeutique de l'infection à VIH chez des enfants suivis au CHU pédiatrique de Ouagadougou (collaboration ESTHER). Sciences pharmaceutiques. 2012. dumas-00760197

HAL Id: dumas-00760197

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-00760197>

Submitted on 3 Dec 2012

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



U.F.R DE MEDECINE ET DE PHARMACIE DE ROUEN

ANNEE 2012

N°

**THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

Xavier AGAPIT

Né le 2 janvier 1983 à Montpellier

Présentée et soutenue publiquement le 21 novembre 2012

**Suivi immuno-virologique et thérapeutique de l'infection
à VIH chez des enfants suivis au CHU pédiatrique de
Ouagadougou (collaboration ESTHER)**



Président du jury : Monsieur le Docteur Gilles GARGALA

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Thomas MOUREZ

**Membres du jury :
Madame le Professeur Rasmata OUEDRAOGO
Madame le Docteur Françoise BORSA-LEBAS
Madame le Docteur Charlotte CHARPENTIER
Monsieur le Professeur Jean-Christophe PLANTIER**

ANNEE UNIVERSITAIRE 2011 - 2012
U.F.R. DE MEDECINE~PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN :	Professeur Pierre FREGER
ASSESEURS :	Professeur Michel GUERBET Professeur Benoit VEBER Professeur Pascal JOLY Professeur Bernard PROUST
DOYENS HONORAIRES :	Professeurs J. BORDE - Ph. LAURET - H. FIGUET – C. THUILLEZ
PROFESSEURS HONORAIRES :	MM. M-P AUGUSTIN - J.ANDRIEU-GUTTRANCOURT - M.BENOZIO- J.BORDE - Ph. BRASSEUR - R. COLIN - E. COMOY - J. DALION -. DESHAYES - C. FESSARD – J.P FILLASTRE - P.FRIGOT -J. GARNIER - J. HEMET - B. HILLEMAND - G. HUMBERT - J.M. JOUANY - R. LAUMONIER – Ph. LAURET - M. LE FUR – J.P. LEMERCIER - J.P LEMOINE - Mle MAGARD - MM. B. MAITROT - M. MAISONNET - F. MATRAY - P.MITROFANOFF - Mme A. M. ORECCHIONI - P. PASQUIS - H.FIGUET - M.SAMSON – Mme SAMSON-DOLLFUS – J.C. SCHRUB - R.SOYER - B.TARDIF -.TESTART - J.M. THOMINE – C. THUILLEZ - P.TRON - C.WINCKLER - L.M.WOLF

I - MEDECINE

PROFESSEURS

M. Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
M. Bruno BACHY	HCN	Chirurgie pédiatrique
M. Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
M. Jacques BENICHOU	HCN	Biostatistiques et informatique médicale
M. Eric BERCOFF	HB	Médecine interne (gériatrie)
M. Jean-Paul BESSOU	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise BEURET-BLANQUART	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
M. Guy BONMARCHAND	HCN	Réanimation médicale
M. Olivier BOYER	UFR	Immunologie
M. Jean-François CAILLARD	HCN	Médecine et santé au Travail
M. François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Philippe CHASSAGNE	HB	Médecine interne (Gériatrie)
M. Alain CRIBIER (<i>Surnombre</i>)	HCN	Cardiologie
M. Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie

M. Pierre CZERNICHOW	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean - Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et Imagerie Médicale
M. Stéfan DARMONI	HCN	Informatique Médicale/Techniques de communication
M. Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mme Danièle DEHESDIN	HCN	Oto-Rhino-Laryngologie
M. Philippe DENIS (Surnombre)	HCN	Physiologie
M. Jean DOUCET	HB	Thérapeutique/Médecine – Interne - Gériatrie.
M. Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
M. Philippe DUCROTTE	HCN	Hépatogastro-entérologie
M. Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie Orthopédique - Traumatologique
M. Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie Orthopédique et Traumatologique
M. Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mlle Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
M. Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
M. Pierre FREGER	HCN	Anatomie/Neurochirurgie
M. Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et Santé au Travail
M. Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie Médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Michel GODIN	HB	Néphrologie
M. Philippe GRISE	HCN	Urologie
M. Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
M. Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
M. Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
M. Pascal JOLY	HCN	Dermato - vénéréologie
M. Jean-Marc KUHN	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie cytologie pathologiques
M. Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
M. Alain LAVOINNE	UFR	Biochimie et biologie moléculaire
M. Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
M. Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
M. Xavier LE LOET	HB	Rhumatologie
M. Eric LEREBOURS	HCN	Nutrition
Mlle Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
M. Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile

M. Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. Eric MALLET (<i>Surnombre</i>)	HCN	Pédiatrie
M. Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mlle Isabelle MARIE	HB	Médecine Interne
M. Jean-Paul MARIE	HCN	ORL
M. Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - obstétrique
M. Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
M. Pierre MICHEL	HCN	Hépatologie - Gastro - Entérologie
M. Francis MICHOT	HCN	Chirurgie digestive
M. Bruno MIHOUT	HCN	Neurologie
M. Pierre-Yves MILLIEZ	HCN	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique
M. Jean-François MUIR	HB	Pneumologie
M. Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
M. Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
M. Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
M. Jean-Marc PERON	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
M. Christian PFISTER	HCN	Urologie
M. Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
M. Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
M. Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
M. François PROUST	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie et méd. du dévelop. et de la reprod.
M. Jean-Christophe RICHARD (<i>Mise en dispo</i>)	HCN	Réanimation Médicale, Médecine d'urgence
M. Horace ROMAN	HCN	Gynécologie Obstétrique
M. Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie – Pathologie
M. Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatologie - Gastro
M. Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mlle Florence THIBAUT	HCN	Psychiatrie d'adultes
M. Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
M. Christian THUILLEZ	HB	Pharmacologie
M. Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
M. François TRON (<i>Surnombre</i>)	UFR	Immunologie
M. Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
M. Jean-Pierre VANNIER	HCN	Pédiatrie génétique

M. Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie Réanimation chirurgicale
M. Pierre VERA	C.B	Biophysique et traitement de l'image
M. Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
M. Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
M. Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
M. Jeremy BELLIEN	HCN	Pharmacologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
M. Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Physiologie
Mme Sophie CLAEYSSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
M. Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
M. Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
M. Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mme Catherine HAAS-HUBSCHER	HCN	Anesthésie - Réanimation chirurgicale
M. Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
M. Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
M. Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie Cellulaire
Mme Lucie MARECHAL-GUYANT	HCN	Neurologie
M. Jean-François MENARD	HCN	Biophysique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et Biologie moléculaire
M. Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
M. Francis ROUSSEL	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
M. Eric VERIN	HCN	Physiologie

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

M. Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
M. Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIEMme Dominique **LANIEZ**

UFR Anglais

Mme Michèle **GUIGOT**

UFR Sciences humaines - Techniques d'expression

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

M. Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
M. Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
M. Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
M. Jean COSTENTIN (PU-PH)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
M. Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
M. Michel GUERBET	Toxicologie
M. Olivier LAFONT	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX	Physiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
M. Marc VASSE (PU-PH)	Hématologie
M Jean-Marie VAUGEOIS (Délégation CNRS)	Pharmacologie
M. Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mle Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique BOUCHER	Pharmacologie
M. Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
M. Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
M. Jean CHASTANG	Biomathématiques
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mle Cécile CORBIERE	Biochimie
M. Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mle Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Roseline DUCLOS	Pharmacie Galénique
M. Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie
M. François ESTOUR	Chimie Organique

M. Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla GHARBI	Chimie analytique
Mle Marie-Laure GROULT	Botanique
M. Hervé HUE	Biophysique et Mathématiques
Mme Hong LU	Biologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
M. Paul MULDER	Sciences du médicament
M. Mohamed SKIBA	Pharmacie Galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie Galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
M. Rémi VARIN (MCU-PH)	Pharmacie Hospitalière
M. Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEUR ASSOCIE

M. Jean-Pierre GOULLE	Toxicologie
------------------------------	-------------

MAITRE DE CONFERENCE ASSOCIE

Mme Sandrine PANCHOU	Pharmacie Officinale
-----------------------------	----------------------

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mme Anne-Marie ANZELLOTTI	Anglais
----------------------------------	---------

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

M. Bérénice COQUEREL	Chimie Analytique
M. Johann PELTIER	Microbiologie

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre HENRI BECQUEREL

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEURS

M. Jean-Loup HERMIL	UFR	Médecine générale
----------------------------	-----	-------------------

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS :

M. Pierre FAINSILBER	UFR	Médecine générale
-----------------------------	-----	-------------------

M. Alain MERCIER	UFR	Médecine générale
-------------------------	-----	-------------------

M. Philippe NGUYEN THANH	UFR	Médecine générale
---------------------------------	-----	-------------------

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS :

M Emmanuel LEFEBVRE	UFR	Médecine générale
----------------------------	-----	-------------------

Mme Elisabeth MAUVIARD	UFR	Médecine générale
-------------------------------	-----	-------------------

Mme Marie Thérèse THUEUX	UFR	Médecine générale
---------------------------------	-----	-------------------

LISTE DES RESPONSABLES DE DISCIPLINE

Melle Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
M. Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
M. Roland CAPRON	Biophysique
M Jean CHASTANG	Mathématiques
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation, Economie de la Santé
Mle Elisabeth CHOSSON	Botanique
M. Jean COSTENTIN	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
M. Loïc FAVENNEC	Parasitologie
M. Michel GUERBET	Toxicologie
M. Olivier LAFONT	Chimie organique
M. Jean-Louis PONS	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
M. Mohamed SKIBA	Pharmacie Galénique
M. Marc VASSE	Hématologie
M. Philippe VERITE	Chimie analytique

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS**MAITRES DE CONFERENCES****M. Sahil ADRIOUCH**Biochimie et biologie moléculaire
(Unité Inserm 905)**Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE**Biochimie et biologie moléculaire
(Unité Inserm 614)**M. Antoine OUVRARD-PASCAUD**

Physiologie (Unité Inserm 644)

PROFESSEURS DES UNIVERSITES**M. Mario TOSI**Biochimie et biologie moléculaire
(Unité Inserm 614)**M. Serguei FETISSOV**

Physiologie (Groupe ADEN)

Mme Su RUAN

Par délibération en date du 3 mars 1967, la faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui seront présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elle n'entend leur donner aucune approbation ni improbation.

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Docteur Thomas Mourez,

Je te remercie de m'avoir encadré tout au long de la réalisation de cette thèse. La constance de ton écoute et de ta disponibilité ont été déterminantes pour mener à bien ce travail qui me tenait tant à cœur. Je tiens également à te remercier pour toutes les connaissances et le retour d'expérience que tu partages avec tous ceux qui travaillent avec toi. Sois assuré de toute ma gratitude.

A Madame le Professeur Rasmata Ouedraogo,

Je vous remercie pour l'honneur que vous me faites de participer à ce jury de thèse. Lors de ma venue à Ouagadougou, vous avez veillé à ce que je puisse rencontrer tous les acteurs impliqués dans la prise en charge des enfants malades. Je vous remercie également pour les conseils que vous m'avez donnés pour mener à bien ce travail. Soyez assurée de toute ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Charlotte Charpentier,

Je vous remercie pour l'honneur que vous me faites de participer à ce jury de thèse. Je vous suis également très reconnaissant pour les réponses que vous m'avez apportées sur la construction des algorithmes permettant l'interprétation de la résistance. Soyez assurée de toute ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Françoise Borsa-Lebas,

Je vous remercie pour l'honneur que vous me faites de participer à ce jury de thèse. Bien que n'ayant jamais travaillé directement avec vous, je mesure toute l'énergie que vous mettez à assurer une vie meilleure aux personnes malades. Aussi, pour le temps passé à juger ce travail, soyez assurée de toute ma reconnaissance.

A Monsieur le Professeur Jean-Christophe Plantier,

Je vous remercie pour l'honneur que vous me faites de participer à ce jury de thèse. Lors de ma dernière année d'internat, vous avez su comprendre mes objectifs professionnels et vous m'avez aidé à les réaliser. Vous m'avez également permis de partir au Burkina Faso pour mieux comprendre le sujet de ce travail. Pour tout cela, soyez assuré de toute ma reconnaissance.

A Monsieur le Docteur Gilles Gargala,

Je vous remercie de l'honneur que vous me faites de présider ce jury de thèse. Je vous suis très reconnaissant pour toutes les connaissances que vous m'avez transmises, et qui ne concernent pas uniquement le domaine de la parasitologie, ni même de la médecine. Je vous témoigne ici toute ma reconnaissance.

A Madame le Docteur Marie Gueudin,

Je vous remercie pour toutes les connaissances que vous m'avez apportées tout au long de cette année, notamment dans le domaine de la biologie moléculaire, de la qualité, et de la qualité en biologie moléculaire. Je vous suis également reconnaissant pour l'aide apporté à ce travail.

A toute l'équipe du laboratoire du Professeur Rasmata Ouédraogo,

Je tiens spécialement à remercier le Docteur Barry et Yonli Firmin pour leur accueil et leur disponibilité qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

A Madame le Professeur Yé et à toute l'équipe de pédiatrie,

Je vous remercie de m'avoir permis de mener à bien ce travail en me faisant participer à la vie de votre service. Je mesure aujourd'hui toute la chance que j'ai eue.

A Monsieur le Docteur Ouedraogo et à toute l'équipe de la pharmacie,

Grâce à vous, j'ai pu visiter la pharmacie et comprendre toutes les étapes clés de la dispensation des médicaments. Pour cet accueil, je vous remercie.

A Olivier Terzolo et à toute l'équipe d'ESTHER,

Lors de ma venue à Ouagadougou, vous m'avez aidé dans toutes mes démarches et ainsi permis de concrétiser ce travail.

A Madame le Docteur Véronique Lemée,

Je vous remercie pour l'expérience que j'ai pu acquérir avec vous en matière de sérologie ainsi qu'en qualité, je tâcherai d'en faire bon usage.

Au Docteur Elodie Alessandri et au Docteur Pierre Cappy,

Je vous remercie de votre disponibilité pendant cette année, j'ai apprécié travailler avec vous tout au long de cette année qui est passée si vite.

A toute l'équipe du laboratoire virologie du CHU de Rouen,

Je vous remercie pour tout ce que vous m'avez appris. Je garderai un excellent souvenir de cette année passée à vos côtés et je reviendrai pour prendre de vos nouvelles.

Aux Agapits nommés Brigitte, Coco, et Alex,

Je vous remercie pour l'énergie et l'amour que vous m'avez toujours apporté et que d'autre dire si ce n'est que je vous aime...

A toute ma famille de Guyane, de Martinique, de France et d'Afrique,

A Monique Chung,

Je vous remercie de l'attention et de l'aide que vous avez su m'apporter dans les moments clés de mon cursus.

A Aimée Behary Laul-Sirder dit Mémé,

Merci d'être venue de si loin pour moi. Les membres du jury feront ta connaissance le jour de ma thèse, mais ça tu ne le sais pas encore...

A mes amis d'enfance,

Je porte une mention spéciale **VIP** pour : **Sébastien W.** aka Karl Marx, **Stéphane L.** aka Fightah Hawks, **Garry W.** aka Rayy, et **Edwin M.** aka Edwin I.

A Marc MD.,

Tu es le seul qui ne peux pas détourner le côté savoureux qui fera de toi quoi, mon assoss, et sans quoi je vois pas le délire car le meilleur est à venir...

A Marc L.,

Ta réussite a été une source de motivation et d'exemple pour moi. Thanks for that man !!

A mes tous mes co-internes,

Je porte une mention spéciale **Best of** pour : Jawad, Bérangère, Olivier, Angèle, Charlène, Rayan, Pierre-Amaury dit Choppy, & Yoann.

Et encore une fois, à tous les cruciverbistes de virologie et leurs collègues,

Je pense bien sûr à l'unique **Sebastien dit DoDo-LS**, à **Clotilde & Mme Delphine**, à **Rebecca dit Beckie**, à **Jean-Michel dit L'architecte**, à **Guillaume & Arnaud**, et ainsi qu' à leur honorable **Président Jean-Robert**.

Je remercie également **Fanny**, **Mme Christelle**, **Sylvie & Sylvie**, **Fabienne & Marie**, **Guillemette**, **Stéphanie & Corinne**, **Marie-Line & Martine**, pour leur gentillesse constante que je n'oublierai pas.

SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS	4
AVANT-PROPOS	6
PARTIE 1 : GENERALITES	8
I CARACTERISTISQUES VIROLOGIQUES DU VIH	8
<i>A-CLASSIFICATION ET STRUCTURE.....</i>	8
<i>B-ORGANISATION GENOMIQUE</i>	9
<i>C-CYCLE DE MULTIPLICATION VIRALE.....</i>	10
1-L'entrée du virus dans la cellule hôte et la libération de la capsid	11
2-La transcription inverse.....	12
3-L'intégration	13
4-La transcription et la traduction	14
5-L'assemblage, la maturation et la libération des virions.....	15
<i>D-EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE</i>	16
1-Le VIH de type 1.....	16
2-Le VIH de type 2.....	17
II EPIDEMIOLOGIE DU VIH.....	18
<i>A-DANS LES PAYS DU NORD.....</i>	19
<i>B-DANS LES PAYS DU SUD.....</i>	19
III PRISE EN CHARGE DE L'INFECTION A VIH AU NORD	21
<i>A-DEPISTAGE.....</i>	21
1-Stratégie du dépistage en France.....	21
2-Outils techniques et algorithme de dépistage.....	23
3-Bilan initial.....	24
<i>B-TRAITEMENT ANTI-RETROVIRAL.....</i>	25
1-Initiation du traitement.....	25
2-Schémas thérapeutiques	26
3-Suivi virologique au cours de l'infection.....	26
a) Succès virologique après initiation d'un premier traitement	27
b) Echec virologique	27
<i>C-RESISTANCE AUX ARV.....</i>	28
1-Cibles thérapeutiques des ARV et mutations de résistance	29
a) La transcriptase inverse.....	29
α) Structure et fonction	29
β) Mécanismes d'action des INTI et principales mutations pourvoyeuses de résistances.....	31
b) La protéase	33
α) Structure et fonction.....	33
β) Mécanismes d'action des IP et principales mutations pourvoyeuses de résistance	35
2-Analyse de la résistance	37
a) Les outils techniques	37
α) Le test phénotypique ou antivirogramme	37
β) Le test génotypique ou séquençage de résistance	38
b) Les données exploitables pour la construction des algorithmes	38

α) La mise en évidence des mutations apparaissant <i>in vitro</i> et <i>in vivo</i> sous pression de sélection.....	38
β) Les données de corrélation entre un génotype viral et un phénotype	39
γ) Les données de corrélation entre un génotype viral et une réponse virologique à un traitement.....	39
c) Les différents algorithmes.....	39
IV PRISE EN CHARGE DE L'INFECTION A VIH AU SUD	41
<i>A-DEPISTAGE</i>	41
1-Stratégie et outils du dépistage dans les pays à ressources limitées	41
2-Bilan initial.....	42
<i>B-PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE : RECOMMANDATIONS OMS</i>	43
1-Contexte général	43
2-Initiation du traitement.....	43
3-Schéma thérapeutique de première intention	45
4-Schéma thérapeutique de deuxième intention.....	45
5-Décision de changement de traitement lors d'un échec thérapeutique.....	45
<i>C- CAS PARTICULIER DE LA PRISE EN CHARGE PEDIATRIQUE</i>	47
1-Risque de transmission mère-enfant	47
2-Diagnostic de l'infection VIH chez l'enfant et le nourrisson	48
a) Les tests sérologiques.....	48
b) Les tests virologiques.....	48
3-Prise en charge thérapeutique	49
a) Initiation du traitement.....	49
b) Schéma thérapeutique de première intention.....	51
c) Schéma thérapeutique de deuxième intention.....	51
PARTIE 2 : TRAVAIL PERSONNEL	52
I OBJECTIFS	52
II METHODOLOGIE	52
<i>A-POPULATION DE L'ETUDE</i>	52
<i>B-CADRE DE L'ETUDE</i>	52
<i>C-TYPE DE L'ETUDE</i>	52
<i>D-METHODES UTILISEES POUR LES EXAMENS BIOLOGIQUES</i>	52
1-La numération des CD4	52
2-La charge virale plasmatique	53
3-Le génotypage de résistance	53
a) L'échantillon biologique : le DPS (Dried Plasma Spot).....	53
α) Le dépôt, le transport et la réception du buvard dans le service.....	53
β) L'élution du buvard	54
γ) L'extraction de l'éluat du buvard	54
b) L'amplification et le séquençage des gènes d'intérêt	55
α) Les PCR externes.....	55
β) Les PCR internes.....	57
γ) La révélation et la purification des produits de la PCR.....	57
δ) La réaction de séquence	58
ε) Le séquençage : la migration électrophorétique capillaire.....	59
<i>E-RECUEUIL DES DONNEES</i>	60
1-Les données récoltées au laboratoire du CHU Charles De Gaulle	60
2-Les données du génotypage de résistance du CHU Charles Nicolle	60

III RESULTATS	61
<i>A-CARACTERISTIQUES DES ENFANTS INFECTES SUIVIS AU CHUP.....</i>	<i>61</i>
<i>B-CARACTERISTIQUES DES PATIENTS TRAITES ET NON TRAITES.....</i>	<i>62</i>
1-Les patients non traités.....	62
a) L'ensemble de la population.....	62
b) Le groupe des enfants non traités âgés de 0-5 ans	64
2-Les patients traités.....	65
a) Les patients bénéficiant d'un traitement de première ligne.....	66
b) Les patients bénéficiant d'un traitement de deuxième ligne	69
c) Les patients bénéficiant de traitements atypiques.....	72
3-Ensemble des données des enfants suivis	74
<i>C-PATIENTS AYANT BENEFICIE D'UN GENOTYPAGE DE RESISTANCE.....</i>	<i>75</i>
1-Etude de la diversité virale.....	75
2-Les patients naïfs de traitement.....	75
3-Les patients traités.....	76
a) Mutations associées à la résistance aux INTI	77
b) Mutations associées à la résistance aux INNTI	78
c) Mutations associées à la résistance aux IP	79
IV DISCUSSION.....	81
V CONCLUSION ET PERSPECTIVES	90
BIBLIOGRAPHIE.....	91
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	97
ANNEXE.....	99

LISTE DES ABREVIATIONS

3TC	Lamivudine
ABC	Abacavir
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ANRS	Agence Nationale de la Recherche sur le Sida et les hépatites virales
ARN	Acide RiboNucléique
ARNm	ARN messenger
ARN _t _{lys}	ARN de transfert de la lysine
ARV	AntiRétroViraux
ATV	Atazanavir
AZT	Zidovudine
CHUP	Centre Hospitalier Universitaire Pédiatrique
CDG	Charles De Gaulles
CCR5	Récepteur aux chimiokines de motif CC de type 5
CXCR4	Récepteur aux chimiokines de motif CXC de type 4
D4T	Stavudine
DDI	Didanosine
DRV	Darunavir
EVG	Elvitegravir
EFV	Efavirenz
ETR	Etravirine
FTC	Emtricitabine
FPV	Fosamprenavir
HAS	Haute autorité santé
IDV	Indinavir
IN	Intégrase
INI	Inhibiteur de l'Intégrase
INTI	Inhibiteur Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
INNTI	Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
IP	Inhibiteur de Protéase
LTR	Long Terminal Repeat
LPV	Lopinavir

NVP	Nevirapine
NFV	Nelfinavir
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
PBS	Primer Binding Site
PPT	Poly Purine Tract
PCR	Polymerase Chain Reaction
RAL	Raltegravir
RTV	Ritonavir
SIDA	Syndrome de l'ImmunoDéficiency Acquis
SQV	Saquinavir
TAR	Traitement AntiRétroviral
TDF	Tenofovir
TPV	Tipranavir
TI	Transcriptase Inverse
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VIS	Virus de l'Immunodéficience Simienne

AVANT-PROPOS

Le programme ESTHER "Ensemble pour une Solidarité Thérapeutique Hospitalière en Réseau" a été créé par le gouvernement français afin de favoriser l'accès aux soins des personnes vivant avec le VIH dans les pays à ressources limitées. Ce programme, basé sur la collaboration entre des hôpitaux français et des hôpitaux de nombreux pays à ressources limitées, œuvre dans le but de renforcer les plateaux techniques biologiques, d'améliorer l'équipement hospitalier et de manière générale d'appuyer les stratégies nationales de prise en charge des personnes vivant avec le VIH. ESTHER collabore avec 17 pays dont le Burkina Faso, pays de seize millions d'habitants situé en Afrique de l'Ouest. En 2002, l'accord ministériel engageant le Burkina Faso et la France dans le programme ESTHER a été signé et depuis de nombreux jumelages inter-hospitaliers ont vu le jour. Le laboratoire du CHU Charles Nicolle de Rouen et celui du CHU pédiatrique Charles De Gaulle de Ouagadougou travaillent en commun depuis 2002. Fait marquant de ce jumelage, une technique de mesure de la charge virale VIH a pu être installée au CHUP-CDG permettant aujourd'hui, la réalisation de nombreuses charges virales pour le diagnostic et le suivi thérapeutique des enfants infectés. Le laboratoire de virologie du CHU Charles Nicolle réalise également des tests génotypiques de résistance pour les patients en échec virologique.

L'accès au TAR pour tous, demeure un défi majeur et un enjeu stratégique de la lutte contre cette pandémie. Défi majeur car le prix des traitements reste inabordable pour la grande majorité de ceux qui en ont besoin. Enjeu stratégique car traiter permet de réduire la mortalité des personnes infectées, mais permet aussi d'agir sur l'incidence de la maladie en diminuant le nombre de nouvelles contaminations, notamment par la réduction du risque de transmission mère-enfant. Ce défi financier est en passe d'être relevé grâce à des initiatives venues de la communauté internationale. Pour exemple, UNITAID, organisation internationale créée par l'ONU en 2006, centralise les achats de médicaments contre le VIH, la tuberculose et le paludisme, dans le but d'obtenir des prix abordables pour les pays en voie de développement. Le financement d'UNITAID s'effectue par une taxe sur les billets d'avion. Dans le même temps, il paraît nécessaire que l'accès au TAR s'accompagne d'une bonne observance, que l'offre thérapeutique proposée au malade s'enrichisse au fil du temps et, que l'accès aux tests de résistance puisse être rendu possible pour un suivi efficace.

Au cours de ma dernière année d'internat, j'ai effectué deux semestres dans le laboratoire de virologie du CHU Charles Nicolle où il m'a été proposé de travailler sur les

aspects épidémiologiques et immuno-virologiques des enfants suivis au CHUP-CDG. J'ai pu, dans ce cadre, me rendre au Burkina Faso afin d'assister à l'atelier ESTHER de programmation du plan VIH pour les années 2013 à 2015, et rencontrer les différents acteurs locaux de la prise en charge.

En introduction de ce travail, nous présenterons une synthèse bibliographique sur les caractéristiques du VIH et sur la prise en charge des patients infectés dans les pays du nord et dans les pays du sud, facilitant ainsi la compréhension de notre démarche scientifique. Dans une seconde partie, nous détaillerons les différents aspects épidémiologiques et immuno-virologiques des enfants suivis au CHUP-CDG ainsi que les caractéristiques génotypiques des virus infectant ces enfants.

PARTIE 1 : GENERALITES

I CARACTERISTIQUES VIROLOGIQUES DU VIH

A-CLASSIFICATION ET STRUCTURE

Le VIH est un virus enveloppé dont les virions mesurent entre 90 et 120 nanomètres de diamètre (figure 1). Son génome est un ARN de polarité positive. Il appartient à la famille des Retroviridae, à la sous-famille des Orthoretrovirinae et au genre des Lentivirus. Cette famille présente la particularité de rétrotranscrire son génome ARN viral monocaténaire en ADN viral bicaténaire, et de l'intégrer dans l'ADN cellulaire [1, 2].

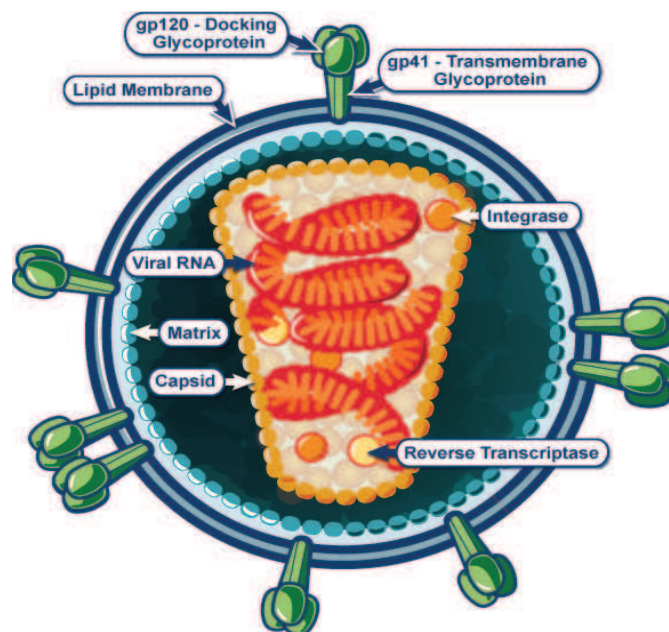


Figure 1 : Structure d'une particule virale du VIH.

(d'après le National Institute of Allergy and Infectious Diseases; <http://www.niaid.nih.gov>)

Le virion est composé de trois grandes entités structurelles :

❖ L'enveloppe

L'enveloppe virale est composée d'une bicouche de phospholipides provenant des membranes cellulaires, et de deux glycoprotéines virales interagissant avec la cellule hôte. Ces glycoprotéines, gp120 et gp41, s'assemblent pour former un trimère à la surface de l'enveloppe virale.

❖ La matrice

La matrice externe est formée par la protéine p17 (ou MA). Elle est liée au feuillet interne de la membrane plasmique et forme une coquille externe qui entoure la capsid. La protéase virale, qui participe à la maturation des virions immatures, est située entre cette matrice et la capsid.

❖ La capsid

La capsid, coquille d'aspect conique, résulte de l'assemblage de la protéine p24 (ou CA). Elle protège la nucléocapsid qui est formée par l'association des deux brins d'ARN identiques et des nucléoprotéines p7. Deux enzymes importantes du cycle virale y sont présentes: la p66/p51 (TI) et la p32 (IN).

B-ORGANISATION GENOMIQUE

Le génome du VIH a une longueur d'environ 9200 paires de bases sous forme d'ADN. Il est flanqué de chaque côté par des séquences répétitives nommées LTR participant à l'intégration et à l'expression du génome viral [1]. Chaque particule virale contient deux brins d'ARN identiques. Le génome est composé de trois gènes principaux *gag*, *pol*, *env* et de multiples gènes accessoires. La fonction de chacun de ces gènes est décrite sommairement dans la figure 2.

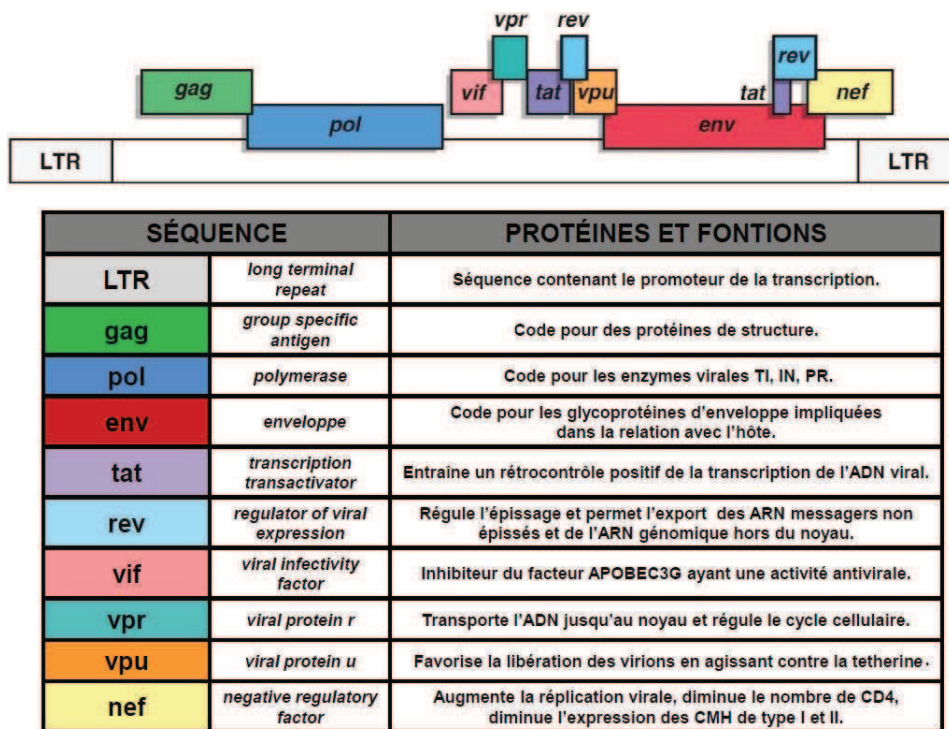


Figure 2 : Organisation génomique de l'ADN proviral du VIH .
(d'après Immunobiology, Garland Science, 2005)

C-CYCLE DE MULTIPLICATION VIRALE

Le cycle de multiplication virale du VIH peut être décomposé en deux grandes phases comprenant chacune plusieurs étapes [3]:

- une phase pré-intégrative qui comprend l'entrée du virus, la transcription inverse et l'intégration.

- une phase post-intégrative qui comprend la transcription de l'ADN intégré, la traduction en protéines virales, l'assemblage, le bourgeonnement, et la maturation des nouveaux virions formés.

L'ensemble des étapes du cycle viral est représenté dans la figure 3 ci-dessous.

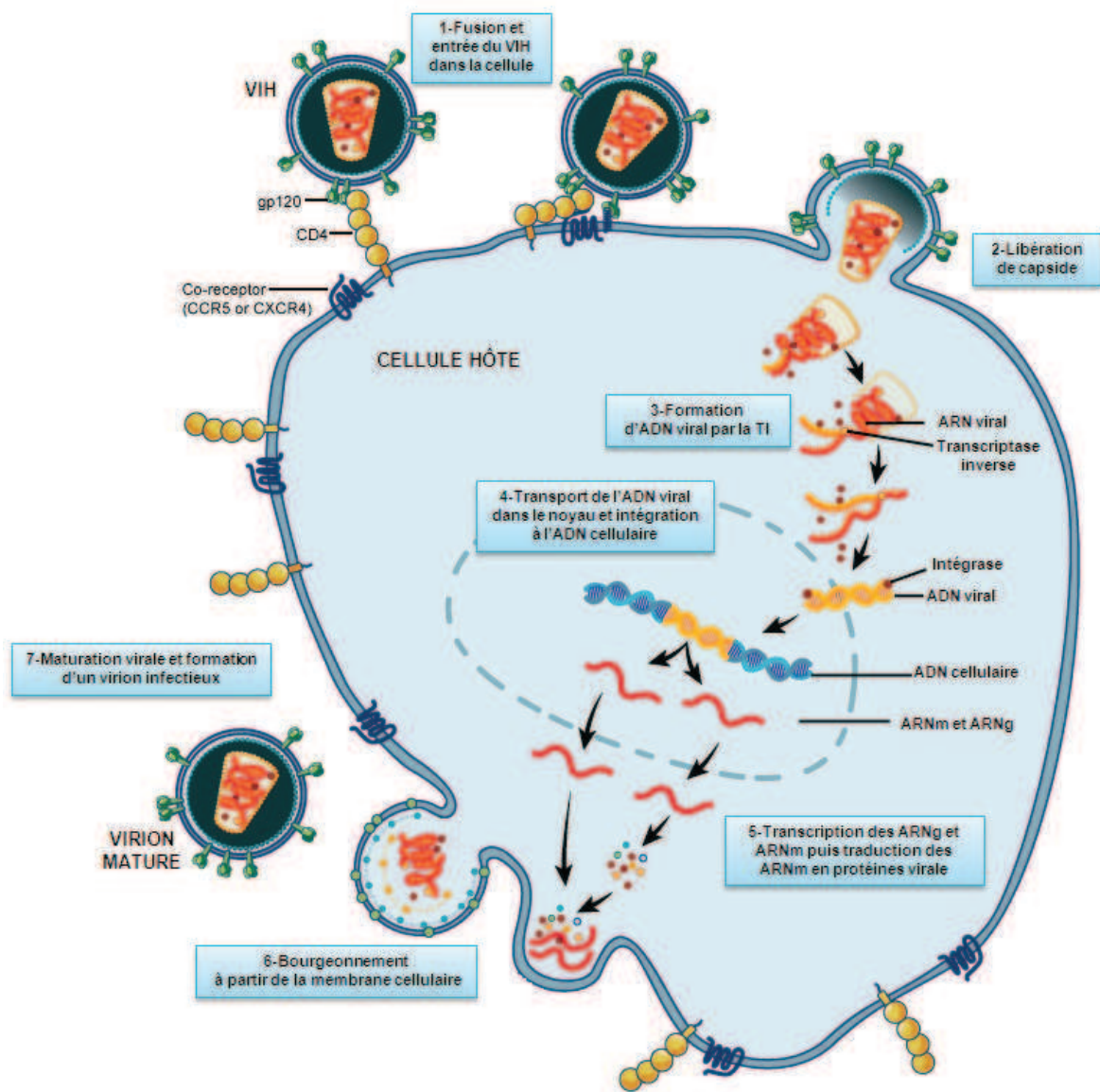


Figure 3 : Cycle de multiplication du VIH .
(d'après National Institute of Allergy and Infectious Diseases; <http://www.niaid.nih.gov>)

1-L'entrée du virus dans la cellule hôte et la libération de la capside

La glycoprotéine gp120 se fixe sur son récepteur cellulaire CD4 et modifie la conformation de ses différents domaines. Ce réarrangement conduit à la présentation de la boucle V3 de la gp120 à la surface du lymphocyte T CD4. Cette boucle V3, région hypervariable du génome, possède la particularité de se fixer sur les récepteurs aux chimiokines cellulaires CCR5 et/ou CXCR4, corécepteurs du virus.

La fixation aux corécepteurs engage la gp41 dans la membrane cellulaire par sa partie amino-terminale, appelée peptide de fusion [4].

Telle une épingle à cheveux, la structure en hélice de la gp41 se replie alors sur elle-même, et permet ainsi le rapprochement des membranes virales et cellulaires et leur fusion (figure 4).

Cette fusion libère ensuite la capside virale dans le cytosol de la cellule cible.

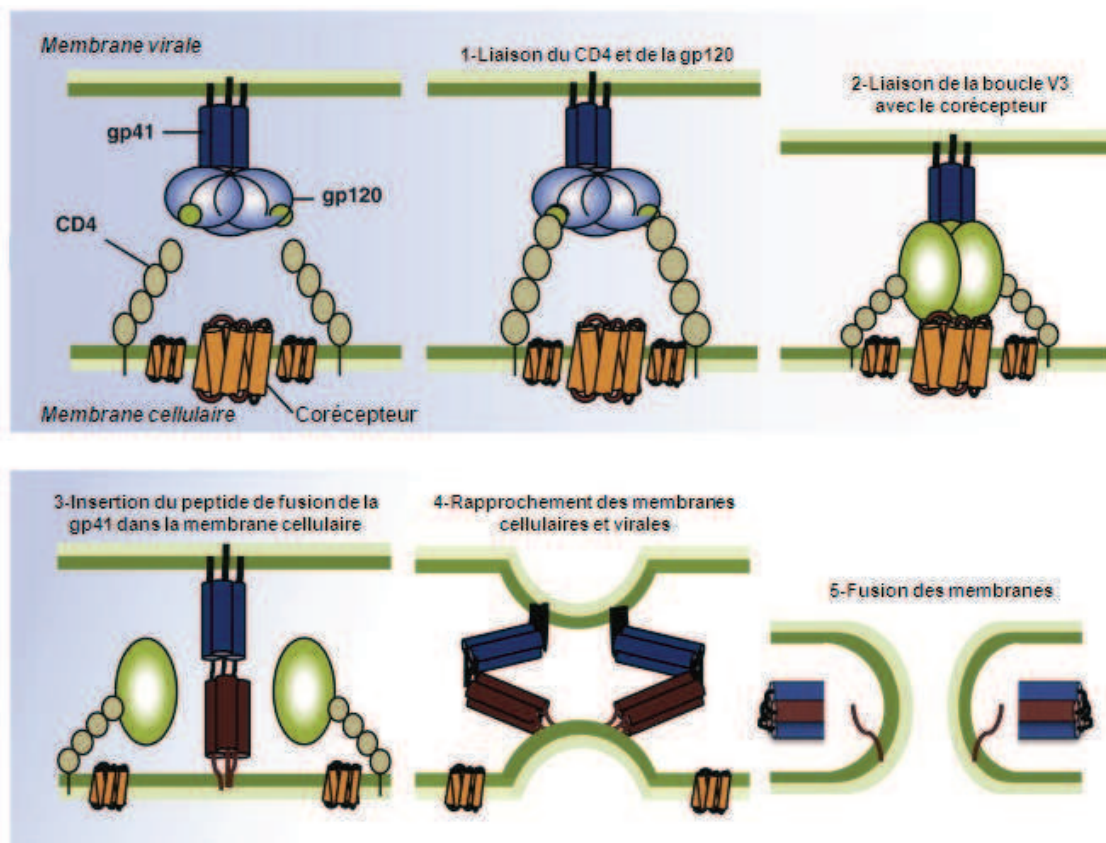
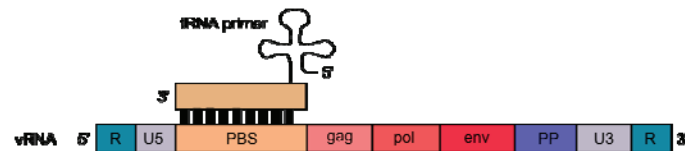


Figure 4 : Les différentes étapes de l'entrée du VIH dans la cellule (d'après Permanyer, Trends Microbiol, 2010 [4])

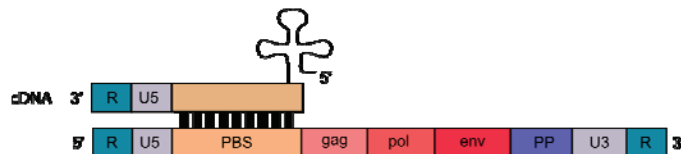
2-La transcription inverse

Après libération du génome viral dans le cytosol, la TI initie la synthèse d'ADN double brin à partir du génome à ARN.

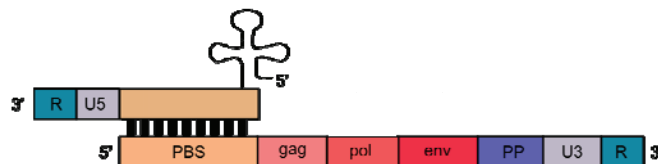
L'activité polymérase de la TI du VIH nécessite un brin matrice (génome ARN viral de polarité +) et un ARN_{t_{lys}} servant d'amorce à la TI. Cet ARN_{t_{lys}} est complémentaire d'une séquence du génome située dans la région 5' non codante nommée PBS ou site de fixation de l'amorce [5].



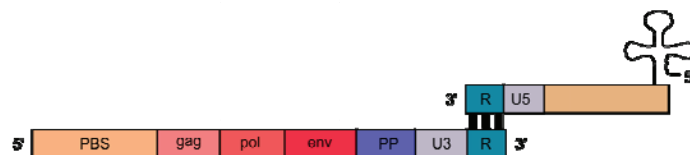
A partir de cette amorce, la TI initie la transcription inverse du génome viral jusqu'à son extrémité 5' : il en résulte la formation d'une séquence hybride ARN/ADN.



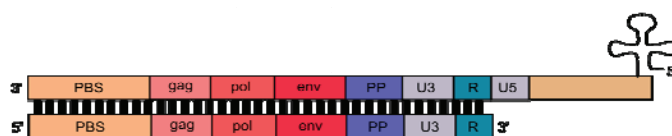
Cette séquence ARN/ADN est le substrat spécifique de l'activité RNAase H de la TI qui dégrade la séquence ARN du brin hybride.



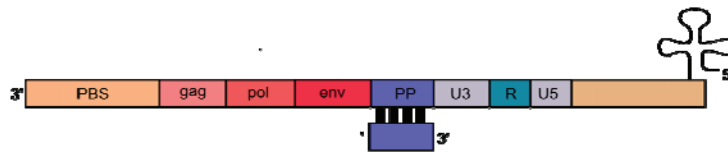
Aux extrémités 3' et 5' du génome viral, il existe une séquence identique nommée *repeat* R. Lors du premier saut de matrice (*first jump*), le transfert du brin ADN néo-synthétisé s'effectue de l'extrémité 5' vers l'extrémité 3'.



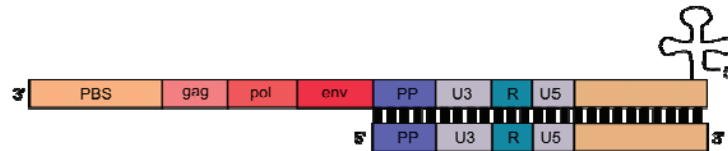
Après ce saut, la transcription inverse reprend son activité, toujours vers l'extrémité 5' du génome viral.



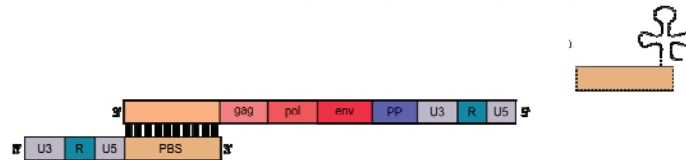
De manière concomitante, la matrice ARN viral est détruite par l'activité RNAase H sauf au niveau d'une région riche en purine nommée PPT.



La séquence PPT joue le rôle d'amorce pour la synthèse du second brin d'ADN de polarité (+).



L' ARN_{t_{lys}} se détache, la séquence PBS du brin positif s'hybride au niveau de la séquence PBS du brin négatif réalisant ainsi le second saut de matrice.



L'élongation se termine sur les deux brins d'ADN, aboutissant à la formation d'un ADN viral double brin possédant à chaque extrémité des séquences LTR.



3-L'intégration

L'intégration de l'ADN_v dans l'ADN cellulaire permet la poursuite du cycle de réplication virale et la formation de nouveaux virions. L'intégrase est l'enzyme clé de cette étape du cycle et le processus d'intégration peut se décomposer en plusieurs étapes [3]:

❖ Dans le cytoplasme :

- Formation d'un complexe de pré-intégration CPI comprenant l'ADN_v et l'intégrase.
- Excision d'un dinucléotide (GT) de l'ADN_v au niveau de l'extrémité 3'OH; cette étape est aussi appelée le 3'-processing.
- Transfert du complexe de pré-intégration dans le noyau.

❖ Dans le noyau :

- Le transfert de brin ou intégration de l'ADN viral dans l'ADN cellulaire.
- Réparation de l'ADN après intégration.

Les étapes de 3'-processing et de transfert de brin sont détaillées dans la figure 5.

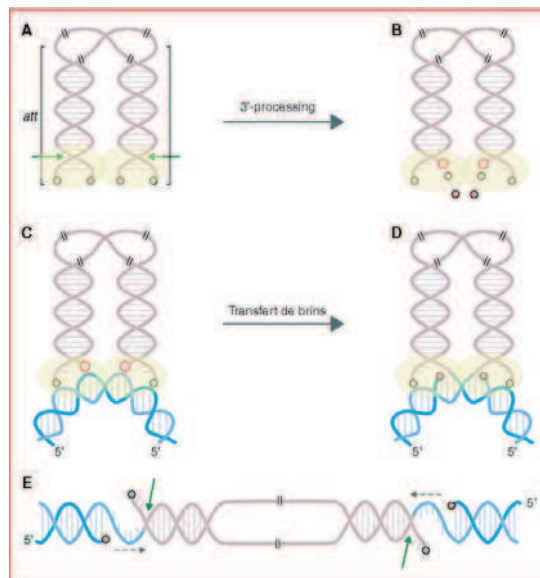


Figure 5 : Processus d'intégration du provirus catalysé par l'intégrase (d'après Pommier, *Nature Rev*, 2005 [6])

A) Le multimère d'intégrase (en jaune) se fixe aux extrémités de l'ADN viral (en violet) pour former le complexe de préintégration CPI. B) Le 3'-processing se déroule dans le cytoplasme de la cellule infectée. Il s'agit d'une coupure des dinucléotides terminaux CA générant des extrémités 3'-OH (cercles rouges). Ce complexe de pré-intégration migre dans le noyau. C et D) Le CPI se lie à l'ADN cellulaire (bleu) et y insère l'ADN viral. E) Cette intégration crée une brèche dans la chaîne d'acides nucléiques (flèche verte) qui sera réparée par les enzymes cellulaires.

4-La transcription et la traduction

Une fois intégré, la machinerie cellulaire transcrit l'ADN proviral en différents ARNm qui seront traduits en protéines. La région LTR de l'ADN proviral possède une région promotrice capable de recruter les facteurs nécessaires à l'initiation de la transcription par l'ARN polymérase II.

Dans un premier temps, la transcription est peu efficace mais sous l'action du transactivateur viral *Tat* associé à des protéines kinases, l'ARN polymérase II est phosphorylée et rendue plus efficace pour l'élongation [7].

Dans une phase précoce, les ARNm produits sont épissés et aboutissent à la synthèse des protéines régulatrices et auxiliaires *Nef*, *Tat* et *Rev*.

Dans une phase tardive, sous l'action des protéines régulatrices virales, les ARNm non épissés et les ARN génomiques produits sont exportés vers le cytoplasme permettant ainsi la synthèse des protéines de structure (Gag/Pol et Env), l'assemblage, et la libération des virions.

5-L'assemblage, la maturation et la libération des virions

Toutes les informations nécessaires à l'assemblage de la particule virale résident dans la polyprotéine Gag : *in vitro*, cette seule polyprotéine est capable de former des pseudo-particules virales en l'absence d'autres protéines [8]. Grâce à une ancre lipidique située sur son extrémité N-terminale, la polyprotéine Gag contenant matrice, capsid, et nucléoprotéine, s'attache au niveau du feuillet interne de la membrane plasmique de la cellule hôte. Ces molécules Gag interagissent entre-elles pour former un treillis protéique responsable du bourgeonnement des virions. Lors du bourgeonnement, l'ARN génomique est lié à l'extrémité C-terminale de la polyprotéine Gag permettant son incorporation dans la particule. Les virions néoformés sont immatures et non infectieux.

Dans un second temps, à l'intérieur du virion, la PR virale s'active et clive la polyprotéine Gag en un jeu de protéines de structures. Ces différentes protéines se réarrangent pour former les différentes couches du virion mature : la protéine de matrice (ou MA) reste attachée au feuillet interne de l'enveloppe virale, les nucléoprotéines s'associent au génome viral ARN pour former la nucléocapside et enfin les protéines p24 s'assemblent et forment la capsid conique contenant la nucléocapside et les enzymes virales associées (TI et IN). Le virion est mature et peut infecter une autre cellule. Les étapes d'assemblage, de bourgeonnement, et de maturation sont représentées dans la figure 6.

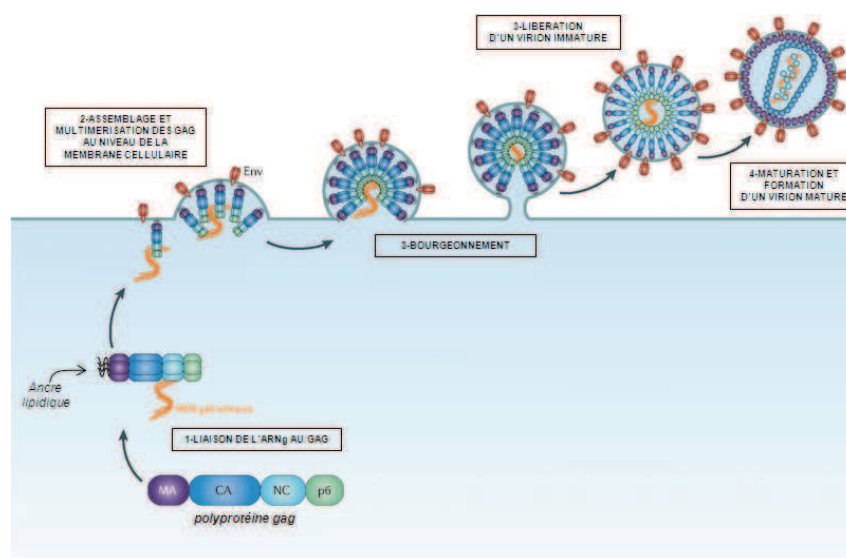


Figure 6 : Schéma représentant les étapes d'assemblage, de bourgeonnement et de maturation du VIH (d'après Serrano & Neil, *Nat Rev Microbiol*, 2011 [9])

D-EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

Grâce aux progrès de la biologie moléculaire, de nombreux génomes de VIH provenant de patients de diverses régions du globe ont pu être séquencés. La comparaison de ces séquences a montré qu'il existait une très grande diversité génétique chez les VIH. De plus, la comparaison du génome des VIH avec celui des VIS a montré que ces virus avaient une organisation génomique similaire et une physiopathologie très proche, prouvant ainsi l'origine simienne des VIH. On distingue deux types de VIH, le type-1 et le type-2.

1-Le VIH de type 1

Les VIH de type 1 sont classés en 4 groupes distincts :

- Le groupe M *major* est responsable de la pandémie actuelle. Il comprend neuf sous-types non recombinants ou "purs" (A à D, F à H, J et K). En France, le sous-type B prédomine. Cependant au niveau mondial, le sous-type C est le plus largement répandu et constitue près de 50% des cas d'infection. Ces différents sous-types peuvent recombiner entre eux et former des virus composites appelés formes recombinantes circulantes CRFs. Une forme est dite circulante à partir du moment où elle est retrouvée chez 3 patients n'ayant aucun lien épidémiologique. La distribution géographique de ces différentes formes est rapportée dans la figure 7.

- Le groupe O pour "*Outlier*" est plus rare et principalement isolé chez des patients vivant en Afrique centrale (Cameroun, Gabon, Guinée équatoriale). Au sein de ce groupe, une forte variabilité génétique existe. Les 3 clades définies (O:A, O:B, O:C) regroupent de nombreux virus variables, mais certains virus du groupe O très divergeant ne sont classés dans aucune d'entre elles.

- Le groupe N pour "*Ni M, Ni O*" identifié chez une patiente vivant au Cameroun est plus rare [10].

- Le groupe P a été identifié au laboratoire du CHU de Rouen chez une patiente Camerounaise âgée de 62 ans. Ce nouveau variant a été suspecté sur la base de discordances séro-moléculaires et sur l'absence d'amplification par les techniques de PCR classiques [11].

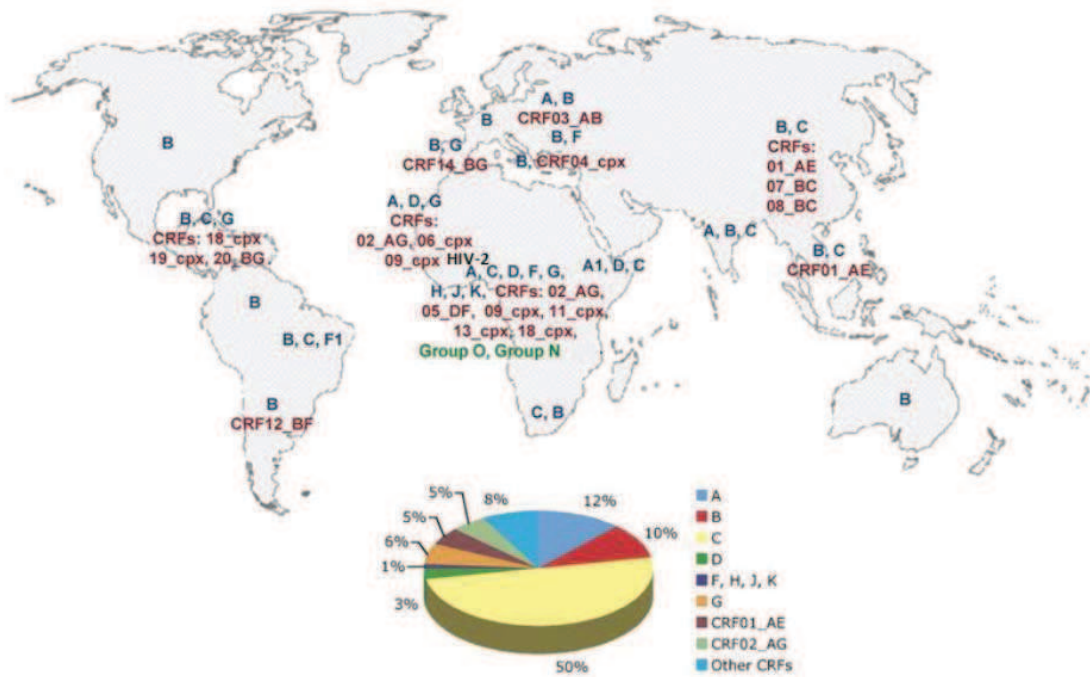


Figure 7 : Distribution géographique des sous-types du VIH (d'après Buonaguro, *J Virol*, 2007 [12])

2-Le VIH de type 2

Le VIH de type 2 est géographiquement localisé en Afrique de l'Ouest. Le VIH-2 est classé en 8 groupes distincts (A à H). Seuls les groupes A et B sont épidémiques. En France, la proportion d'infection par le VIH-2 représente 1,8% des nouveaux diagnostics entre 2003 et 2006, dont 0,1% de co-infections VIH-1/VIH-2. La présence de polymorphismes naturels confère au VIH-2 une résistance naturelle aux inhibiteurs non nucléosidiques de la TI.

II EPIDEMIOLOGIE DU VIH

En 2010, le rapport ONUSIDA [13] estimait le nombre de personnes vivant avec le VIH dans le monde à 34 millions, soit une hausse de 17% par rapport à 2001 (figure 8). Cet accroissement s'explique par l'augmentation de la survie des personnes vivant avec le VIH et ce, malgré une diminution de l'incidence (figure 9).

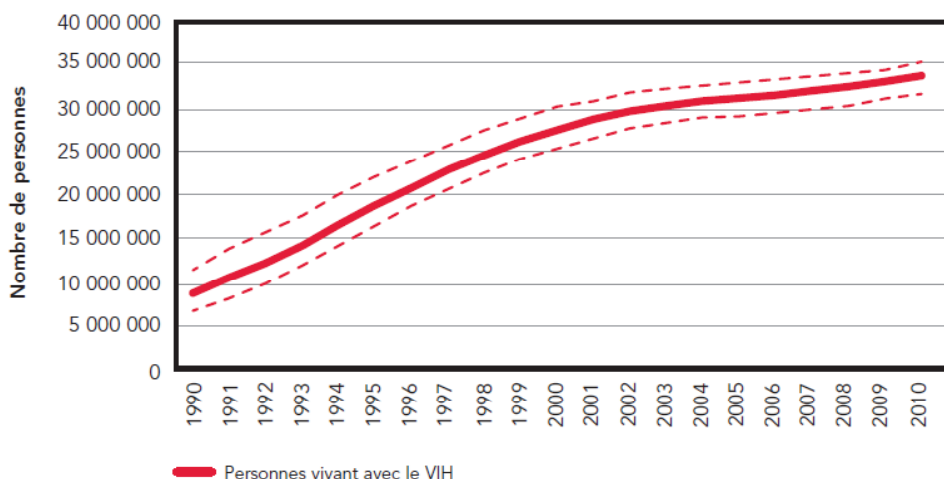


Figure 8: Nombre de personnes vivant avec le VIH dans le monde de 1990 à 2010. (d'après le rapport ONUSIDA 2011[13])

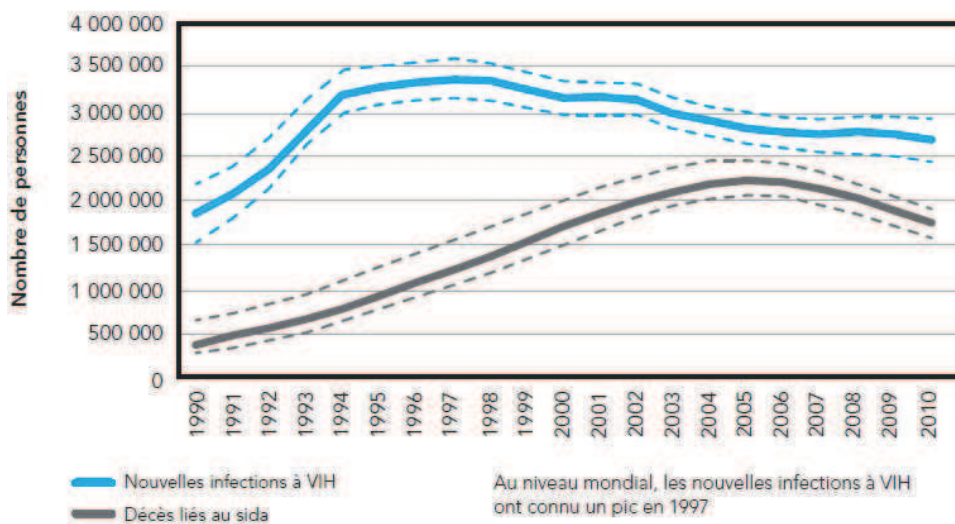


Figure 9 : Nombre des nouvelles infections et nombre de décès dus au VIH dans le monde de 1990 à 2010. (d'après le rapport ONUSIDA 2011[13])

A-DANS LES PAYS DU NORD

Le nombre total de personnes vivant avec le VIH en Amérique du Nord, en Europe centrale et en Europe occidentale est estimé à 2,2 millions en 2010, soit environ un tiers de plus qu'en 2001 (figure 10). Le nombre de décès liés au sida a peu varié depuis 2000, expliquant l'augmentation de 34 % du nombre de personnes vivant avec le VIH [13].

		Adultes et enfants vivant avec le VIH	Adultes et enfants nouvellement infectés par le VIH	Prévalence chez les adultes (%)	Décès dus au sida chez les enfants et les adultes	Prévalence chez les jeunes (15-24 ans, %)	
						Homme	Femme
EUROPE CENTRALE OCCIDENTALE	2010	840 000 [770 000-930 000]	30 000 [22 000-39 000]	0,2 [0,2-0,2]	9900 [8900-11 000]	0,1 [0,1-0,1]	0,1 [<0,1-0,1]
	2001	630 000 [580 000-690 000]	30 000 [26 000-34 000]	0,2 [0,2-0,2]	10 000 [9500-11 000]	0,1 [0,1-0,1]	0,1 [0,1-0,1]
AMÉRIQUE DU NORD	2010	1,3 million [1,0-1,9 million]	58 000 [24 000-130 000]	0,6 [0,5-0,9]	20 000 [16 000-27 000]	0,3 [0,2-0,6]	0,2 [0,1-0,4]
	2001	980 000 [780 000-1,2 million]	49 000 [34 000-70 000]	0,5 [0,4-0,7]	19 000 [15 000-24 000]	0,3 [0,2-0,4]	0,2 [0,1-0,3]

Figure 10 : Nombre de personnes vivant avec le VIH dans les pays occidentaux
(d'après le rapport ONUSIDA 2011[13])

En France, pour l'année 2008, le nombre de personnes infectées par le VIH était estimé à 152 000 dont 30 000 ignorent leur statut ou ne sont pas suivies [14]. Les données d'épidémiologie en France en 2010, situe le nombre de nouvelles contaminations par an autour de 7 000 à 8 000 cas [15].

B-DANS LES PAYS DU SUD

L'Afrique subsaharienne est la région du monde la plus touchée par l'épidémie, regroupant près de 68% des personnes vivant avec le virus et concentrant 70% des nouvelles infections ayant eu lieu en 2010 [13]. Depuis 1998, le SIDA est responsable de la mort d'un million de personnes par an dans cette région. Cependant, depuis cette date, on observe une diminution des décès liés au VIH.

		Adultes et enfants vivant avec le VIH	Adultes et enfants nouvellement infectés par le VIH	Prévalence chez les adultes (%)	Décès dus au sida chez les enfants et les adultes	Prévalence chez les jeunes (15-24 ans, %)	
						Homme	Femme
AFRIQUE SUBSAHARIENNE	2010	22,9 millions [21,6-24,1 millions]	1,9 million [1,7-2,1 millions]	5,0 [4,7-5,2]	1,2 million [1,1-1,4 million]	1,4 [1,1-1,8]	3,3 [2,7-4,2]
	2001	20,5 millions [19,1-22,2 millions]	2,2 millions [2,1-2,4 millions]	5,9 [5,6-6,4]	1,4 million [1,3-1,6 million]	2,0 [1,6-2,7]	5,2 [4,3-6,8]

Figure 11 : Nombre de personnes vivant avec le VIH en Afrique subsaharienne.
(d'après le rapport ONUSIDA 2011[13])

Cette diminution de la morbi-mortalité s'explique par les engagements des grandes instances politiques internationales, qui ont permis d'accroître les investissements concernant les programmes de traitement et de prévention du VIH dans les pays à faibles revenus. Dans la figure 12, on remarque que l'infléchissement de la courbe des nouvelles infections VIH concorde avec ces grands engagements politiques de lutte contre le VIH.

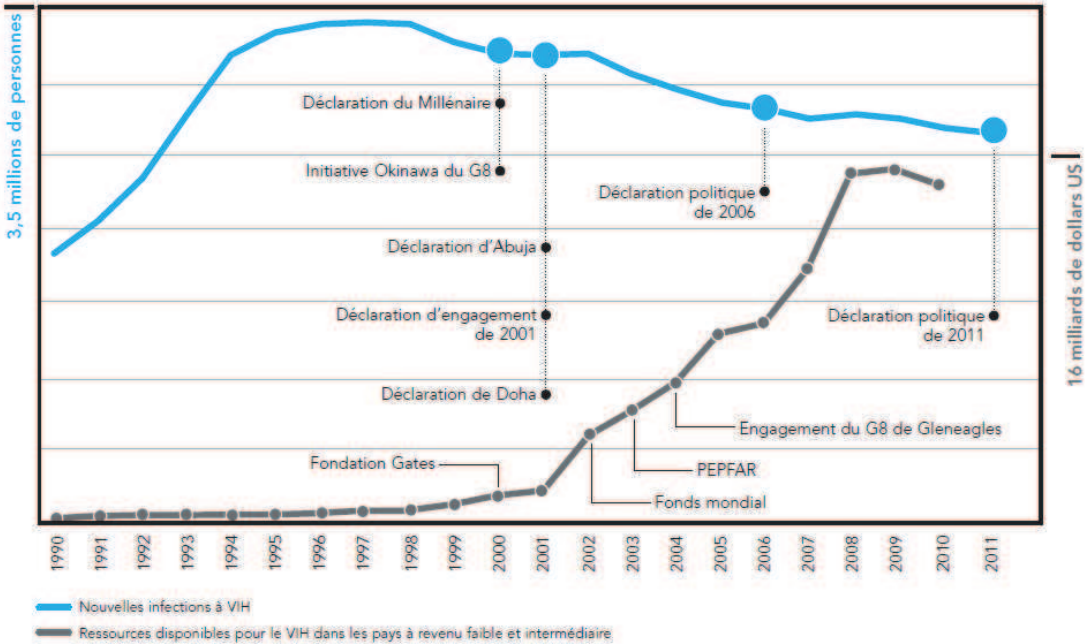


Figure 12 : Ressources disponibles pour le VIH dans les pays à faible revenu et nombre de nouvelles infections (d'après le rapport ONUSIDA[13])

III PRISE EN CHARGE DE L'INFECTION A VIH AU NORD

Chaque pays définissant sa politique spécifique en termes de prise en charge, nous prendrons l'exemple des recommandations françaises pour détailler le dépistage, la prise en charge thérapeutique et le suivi des patients vivant avec le VIH.

A-DEPISTAGE

1-Stratégie du dépistage en France

En Novembre 2009, la Haute Autorité de Santé a émis de nouvelles recommandations concernant la stratégie de dépistage du VIH [16]. Elle s'articule autour de deux grands axes :

➤ une offre de dépistage concernant la population générale de 15 à 70 ans qui promeut l'accès à la connaissance de son statut sérologique et vise à améliorer la précocité du dépistage et de la prise en charge.

➤ une offre de dépistage ciblée et régulière des populations à risque et des situations particulières : cette offre se base sur la persistance de groupes de population particulièrement touchés par l'épidémie et sur l'identification de certaines situations à risque (table 1).

Certaines situations épidémiologiques régionales sont également prises en compte, comme en Guyane, département français d'Outre-Mer. La HAS souligne les caractéristiques épidémiologiques particulières de l'infection dans ce département qui le placent dans une situation d'épidémie généralisée (la prévalence du VIH atteignant 1% des femmes enceintes dans certaines régions). Elle insiste sur la nécessité de mettre en œuvre des stratégies de dépistage spécifiques et volontaristes, reposant sur une proposition régulière du test de dépistage à l'ensemble de la population.

Table 1 : Ciblage des populations et situations à risque pour le dépistage du VIH (d'après la HAS [16]).

DEPISTAGE CIBLE ET REGULIER	
Populations à risque	Situations à risque
<ul style="list-style-type: none">- Population homosexuelle- Multi partenariat- Populations des départements français d'Amérique- Usagers de drogues injectables- Personnes en situations de prostitution- Personnes dont les partenaires sexuels sont infectés	<ul style="list-style-type: none">- Suspicion ou diagnostic d'hépatite B ou C- Suspicion au diagnostic de tuberculose- Projet de grossesse- Interruption volontaire de grossesse- Viol- Personnes incarcérées

➤ Place des laboratoires d'analyses de biologie médicale

Dans ces mêmes recommandations [16], l'HAS explicite la place des laboratoires d'analyses médicales dans la stratégie de dépistage.

La HAS estime pertinent que l'accès au dépistage de l'infection VIH dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale puisse se faire sans prescription médicale, sous réserve du respect des conditions de remise du résultat. Ainsi, dans le cas d'un test réalisé en l'absence de prescription sur demande expresse du patient, la HAS a considéré qu'il appartenait au biologiste d'informer lui-même le patient. La remise du résultat doit se faire lors d'un entretien individuel. En cas de résultat positif et en l'absence de médecin traitant, la HAS recommande au biologiste de proposer un accompagnement au patient afin qu'une prise en charge préventive et thérapeutique puisse lui être proposée sans délai. Il peut orienter ce dernier vers un réseau ville-hôpital, ou tout dispositif mis en place par le comité de coordination régionale de lutte contre le VIH (COREVIH).

➤ Place des tests rapides d'orientation diagnostique TROD

Selon l'arrêté du 9 novembre 2010 [17] fixant les conditions de réalisation des tests rapides d'orientation diagnostique de l'infection VIH : "un test rapide d'orientation diagnostique TROD détectant l'infection à virus de l'immunodéficience humaine VIH peut être réalisé chez toute personne, dans son intérêt et pour son seul bénéfice, après l'avoir informée et avoir recueilli son consentement libre et éclairé".

Ce test à lecture subjective ne permet qu'une orientation diagnostique et ne constitue en aucun cas un diagnostic biologique de certitude. Il est pratiqué sur sang total, sérum ou plasma, au moyen d'un réactif détectant l'infection à VIH 1 et 2 et doit être revêtu du marquage CE.

En cas de résultat positif du test, la personne est dirigée soit vers un médecin, soit vers un établissement ou un service de santé, pour la réalisation du diagnostic biologique de l'infection à VIH 1 et 2 .

En cas de résultat négatif, la personne testée est informée des limites inhérentes à l'interprétation du résultat du test et sur l'éventualité de renouveler le dépistage biologique, notamment en cas de risque récent de transmission du virus.

2-Outils techniques et algorithme de dépistage

L'arrêté publié le 28 Mai 2010 [18] définit les conditions du dépistage de l'infection à VIH. Les biologistes doivent utiliser un seul réactif de type Elisa permettant la détection combinée des anticorps anti VIH-1 et 2 ainsi que l' Ag p24 du VIH-1 avec un seuil minimal de détection de l'antigène p24 du VIH-1 de 2 UI/ml. Ces réactifs sont communément appelés tests combinés de 4^{ème} génération. La cinétique d'apparition des marqueurs viraux au cours de la primo-infection est représentée ci-dessous dans la figure 13.

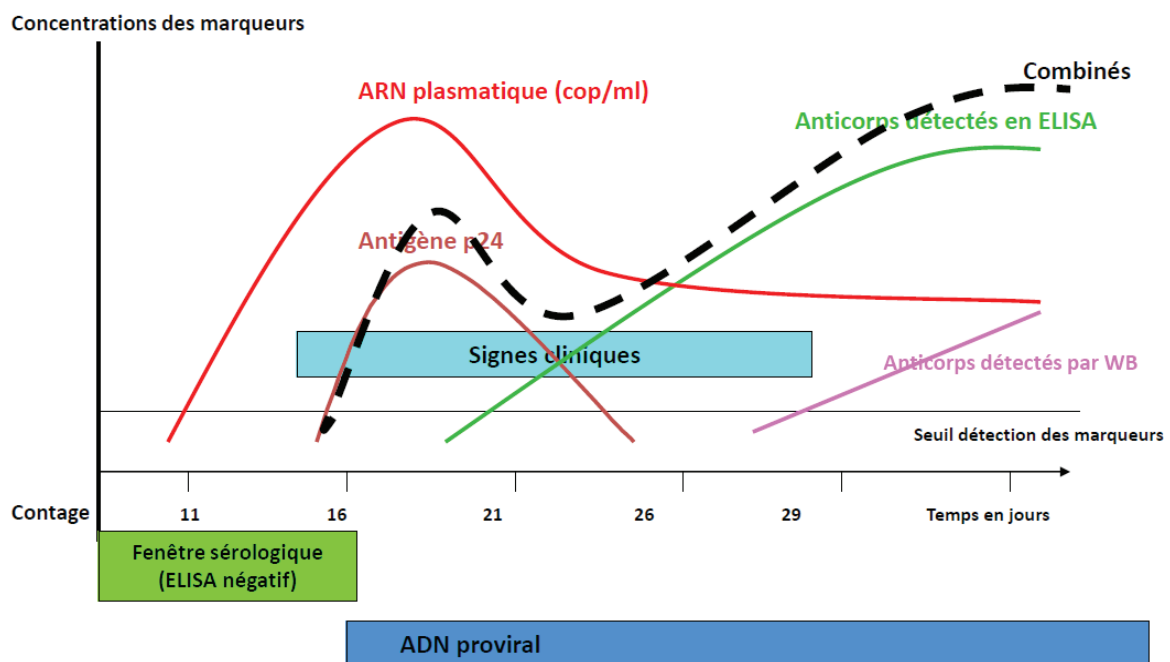


Figure 13 : Dynamique des marqueurs viraux au cours de la primo-infection VIH.

(d'après le modèle de Fiebig adapté par V. Lemée)

En cas de positivité du test combiné, un test de confirmation par western blot ou immunoblot sera réalisé et un second prélèvement sera effectué afin d'écartier toute erreur d'identification. L'utilisation de la charge virale plasmatique dans les situations indéterminées est prévue par l'algorithme de la HAS. L'algorithme de dépistage est détaillé dans la figure 14.

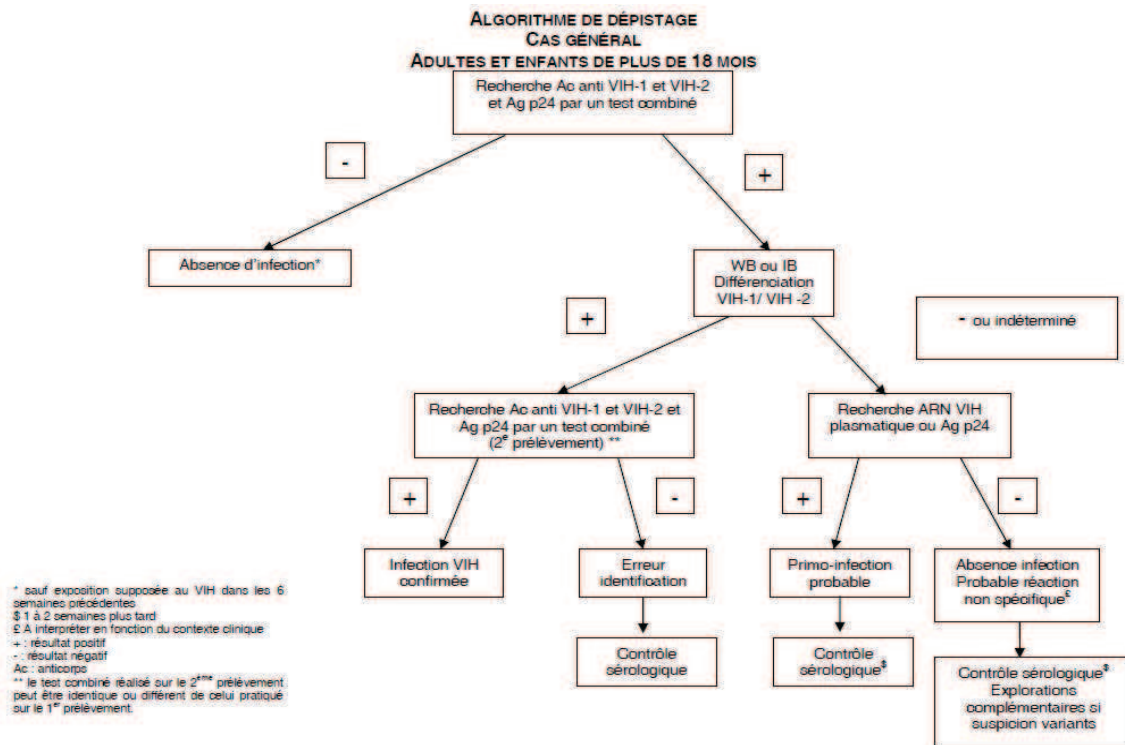


Figure 14 : Algorithme de dépistage du VIH en France (cas général)

(d'après les recommandations HAS 2009 fixant les modalités de réalisation des tests de dépistage VIH)

3-Bilan initial

Après l'annonce du diagnostic, l'évaluation du statut immunologique s'effectue d'une part par la numération des CD4 en cytométrie de flux et d'autre part la mesure de la charge virale ARN plasmatique par RT-PCR en temps réel. Les techniques de mesure de la charge virale plasmatique sont très sensibles avec un seuil de détection de 40 copies/mL pour certaines. L'appréciation de l'état immuno-virologique du patient constitue l'élément central de la prise en charge, notamment pour la décision de mise sous traitement et le suivi thérapeutique.

Le rapport Yéni 2010 préconise un bilan biologique initial de base pour les personnes infectées. Ce bilan clinico-biologique a pour objectif de rechercher les co-morbidités et les complications infectieuses et tumorales potentiellement présentes. La recherche des co-infections virales, notamment les hépatites B et C, doit être effectuée. Un test génotypique est également recommandé afin de typer la souche de VIH et de rechercher d'éventuelles mutations de résistance pouvant impacter le choix du traitement.

B-TRAITEMENT ANTI-RETROVIRAL

A titre individuel, la mise sous traitement antirétroviral doit prévenir la dégradation du système immunitaire et empêcher l'évolution de la maladie vers le stade SIDA. Il a pour objectif immuno-virologique un maintien des CD4 au dessus de $500/\text{mm}^3$ et une indétectabilité de la charge virale plasmatique. Dans une perspective de prévention collective, la mise sous traitement des personnes infectées serait un outil performant de prévention de la transmission du virus [19].

En 2012, il existe 6 classes de molécules antirétrovirales disponibles sur le marché :

- les inhibiteurs nucléos(t)idiques de la transcriptase inverse
- les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse
- les inhibiteurs de protéase
- les inhibiteurs de l'intégrase
- les inhibiteurs de fusion
- les antagonistes des récepteurs CCR5

1-Initiation du traitement

En France, il est recommandé d'initier un traitement dans trois situations [15]:

- Patients symptomatiques et immunodéprimés asymptomatiques ayant un taux de lymphocytes CD4 inférieurs à $350/\text{mm}^3$

Ce groupe de malades rassemble les patients atteints d'infections opportunistes majeures notamment de la catégorie C de la classification CDC. Elle comprend aussi les patients atteints d'infections marquées ou récidivantes de la catégorie B de la classification CDC et les patients présentant une néphropathie liée au VIH. Dans ces cas, il est recommandé de débiter un traitement antirétroviral sans délai.

- Patients asymptomatiques ayant un taux de lymphocytes CD4 compris entre 350 et $500 /\text{mm}^3$

Il est recommandé de débiter un traitement antirétroviral chez ces patients à condition qu'ils n'expriment pas un refus et adhèrent pleinement au projet thérapeutique.

- Patients asymptomatiques ayant un taux de lymphocytes CD4 supérieur à $500/ \text{mm}^3$

L'instauration d'un traitement antirétroviral doit être discutée en fonction d'un certain nombre de critères tels que la charge virale, la décroissance rapide des lymphocytes CD4, la présence d'une co-infection VHB ou VHC, l'âge ou le souhait du patient de réduire le risque de transmission sexuelle.

2-Schémas thérapeutiques

Le schéma thérapeutique de première intention recommandé consiste en une association comprenant deux INTI et d'un troisième agent. Les deux associations fixes d'INTI, les plus souvent utilisées en raison de leur efficacité et de leur tolérance, sont [TDF+FTC] (Truvada[®]) et [ABC+3TC] (Kivexa[®]). Le choix du troisième agent s'effectue généralement dans la classe des IP, des INNTI ou dans la classe des INI.

Les associations recommandées par le rapport Yéni sont résumées en table 2.

Table 2 : Recommandations pour un premier traitement antirétroviral (d'après le rapport Yéni [15])

CHOIX PRÉFÉRENTIELS		
2 INTI	INNTI	Commentaires
TDF/FTC ¹	EFV 600 mg x 1	Faible barrière génétique d'EFV
2 INTI	IP/r	Commentaires
TDF/FTC ¹	ATV/r 300/100 mg x 1	
	DRV/r 800/100 mg x 1	
	LPV/r 400/100 mg x 2	ou LPV/r 800/200 mg x 1
ABC/3TC ^{2,3}	ATV/r 300/100 mg x 1	
	LPV/r 400/100 mg x 2	

1 : précaution en cas d'insuffisance rénale (clairance de la créatinine < 80 mL/min) ou de risque de survenue d'insuffisance rénale. Surveillance rénale en début de traitement.
 2 : uniquement si HLA B*5701 négatif. Nécessité de surveillance de survenue d'HSR même si HLA B*5701 négatif.
 3 : uniquement si CV < 100 000 c/mL.

3-Suivi virologique au cours de l'infection

L'évolution naturelle de l'infection VIH se déroule en trois phases : la primo-infection, la phase de latence clinique et la phase symptomatique comme le montre la figure 15.

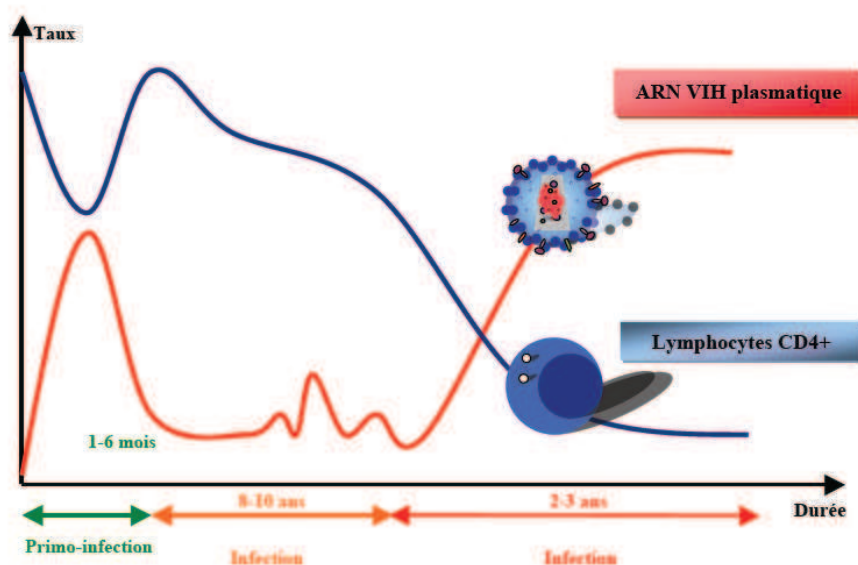


Figure 15 : Evolution naturelle de l'infection par le VIH.

Des études ont montré qu'en parallèle de la numération des lymphocytes CD4, la quantification de l'ARN du VIH-1 plasmatique était un marqueur de suivi très sensible. Sa valeur est étroitement liée à la dégradation du système immunitaire. Plus la charge virale est élevée, plus la baisse du taux des lymphocytes CD4 est importante, et plus l'évolution vers le stade SIDA est rapide.

a) Succès virologique après initiation d'un premier traitement

L'indéteçtabilité (charge virale < 50 copies/mL) à six mois est l'objectif principal après instauration d'un premier traitement antirétroviral. Cependant, des objectifs intermédiaires sont définis afin de mieux évaluer de l'efficacité du traitement et la probabilité d'atteinte de l'objectif principal [15].

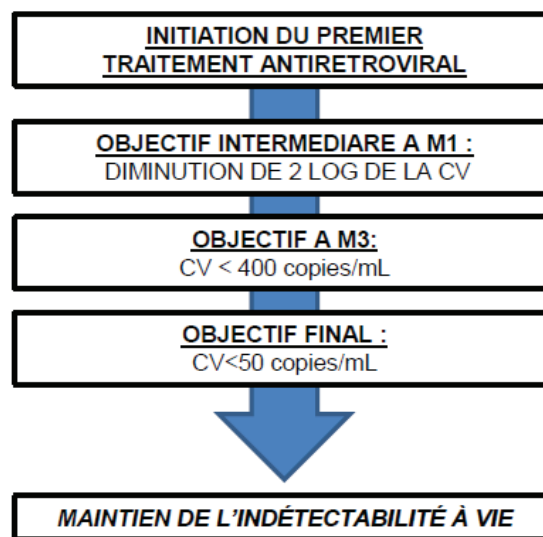


Figure 16 : Objectif immuno-virologique après instauration d'un premier traitement antirétroviral (d'après le rapport Yéni 2010 [15])

b) Echec virologique

On définit plusieurs situations d'échec virologique [15]:

- La non-réponse au traitement

Elle est définie par une diminution inférieure à 2 log de la charge virale plasmatique, un mois après l'initiation d'un premier traitement.

- L'échec initial

Il se définit par la persistance d'une charge virale plasmatique détectable supérieure à 200 copies/mL à six mois, confirmée par une charge virale plasmatique supérieure à 50 copies/mL à 12 mois.

- Le rebond virologique

Il correspond à une remontée de la charge virale sur deux prélèvements successifs après une période de succès virologique. La non atteinte d'un objectif virologique, qu'il soit final ou intermédiaire, doit faire rechercher une mauvaise observance, des interactions médicamenteuses, un sous-dosage plasmatique, après avoir écarté la présence de mutations naturellement présentes sur la souche. Il convient de corriger au plus vite la cause identifiée, et d'effectuer un suivi rapproché du patient.

C-RESISTANCE AUX ARV

La TI du VIH effectue une erreur toutes les 10000 paires de bases et est dépourvue de fonction correctrice. Cette faible fidélité de l'enzyme explique la variabilité du virus, et les mutations qui entraînent la résistance aux ARV.

Lorsqu'un traitement est instauré, une pression de sélection s'exerce sur la population virale et les souches résistantes sont sélectionnées et archivées dans l'ADN cellulaire.

L'apparition d'une résistance peut être formulée sous la forme d'une équation [3]:

$$\mathbf{R = M \times E \times PS}$$

R : Résistance

M : Multiplication du virus

E : Erreur de la RT

PS : Pression de sélection de l'ARV

Chez un patient traité ayant une charge virale indétectable, le risque d'apparition de mutations de résistance chez le virus est nul (Si $M=0$, alors $R=0$). L'adhésion du patient au traitement et la tolérance médicamenteuse sont des éléments essentiels pour obtenir une bonne observance et garantir une efficacité thérapeutique, qui évitera la sélection de mutants résistants. Sous traitement ($PS \neq 0$), tous les éléments aboutissant à la persistance d'une réplication virale entraîneront, à plus ou moins longue échéance, la sélection de mutants résistants et un rétrécissement de la palette thérapeutique à disposition.

Nous traiterons uniquement des résistances aux INTI, INNTI et aux IP dans la suite de ce paragraphe.

1-Cibles thérapeutiques des ARV et mutations de résistance

a) La transcriptase inverse

α) Structure et fonction

La TI est un hétérodimère composé de deux sous unités : la p66 et la p51 qui proviennent du clivage protéolytique de la polyprotéine Gag/Pol par la protéase virale. Dans le cytoplasme de la cellule infectée, les activités ADN polymérase et RNAase H de p66 coopèrent et convertissent l'ARN viral simple brin en ADN double brin pour être intégré au génome. La p51 participe pour sa part à la stabilité de l'hétérodimère en maintenant la conformation de la p66.

La TI est souvent comparé à une "main" et sa structure est illustrée dans la figure 17.

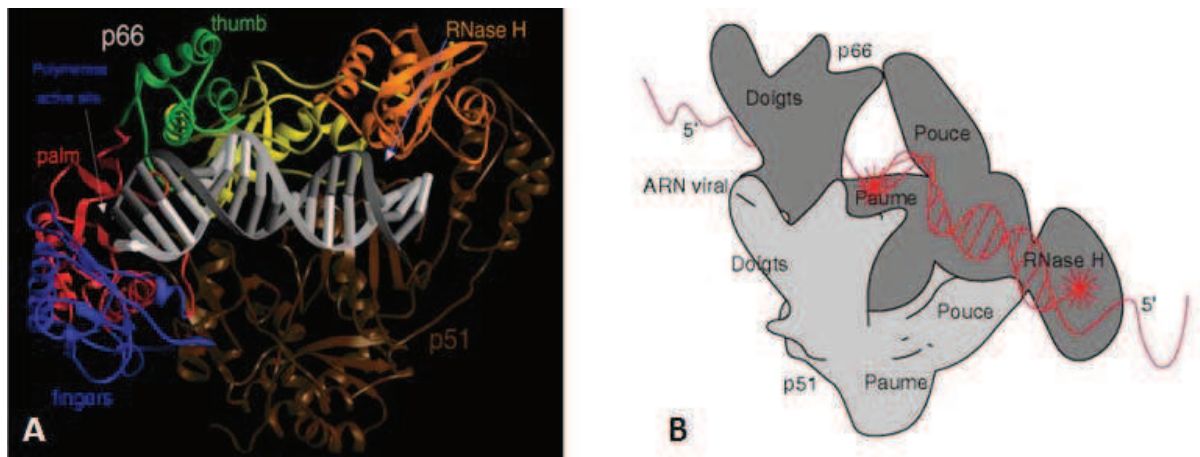


Figure 17 : Représentation de la TI et organisation de ses différents domaines.

A : Représentation en cristallographie des 2 domaines p51 et p66 et de leurs structures secondaires (d'après Sarafianos [5]). B : Schématisation de la TI sous forme de main et emplacement des sites actifs de l'enzyme (d'après Kohllstaedt et al. Resolution of HIV-1 reverse transcriptase, Science, 1992)

La réaction de polymérisation commence par la fixation des acides nucléiques à la TI. Les doigts, la paume, le pouce, la zone de connexion de p66 et les sous domaines RNAase H participent à la formation d'un sillon qui constitue le lieu d'ancrage des acides nucléiques comme représenté sur la figure 17B. Ce sillon de fixation, permettant le bon ancrage des acides nucléiques, peut être comparé au creux d'une main qui maintient et transloque la chaîne d'acide nucléique pendant la transcription inverse. Une fois la matrice fixée, il existe une modification conformationnelle du pouce qui passe d'une position fermée à une position ouverte.

Cette ouverture permet au dNTP entrant d'accéder à son site de fixation. Les doigts se referment ensuite sur le dNTP au niveau du site catalytique et la réaction de polymérisation peut avoir lieu. Enfin, les doigts se rouvrent pour libérer les produits de la réaction de polymérisation et permettre la translocation de la chaîne nucléique [5].

Concernant le site catalytique de la transcriptase inverse

Le site catalytique de la TI est formé d'une triade de groupements carboxylates capables de complexer deux ions Mg^{2+} (motif YMDD). Ces cations divalents sont des catalyseurs de la réaction de polymérisation qui positionnent de manière très précise le dNTP au cours de la polymérisation grâce à la formation d'un complexe.[5]

Lorsque le dNTP est correctement aligné, le groupement 3' hydroxyl terminal (3'OH) libre du brin matrice réalise une attaque nucléophile sur le phosphate en α du dNTP comme représenté sur la figure 18. L'incorporation de ce dernier allonge la chaîne d'un nucléotide et libère les produits de la réaction.

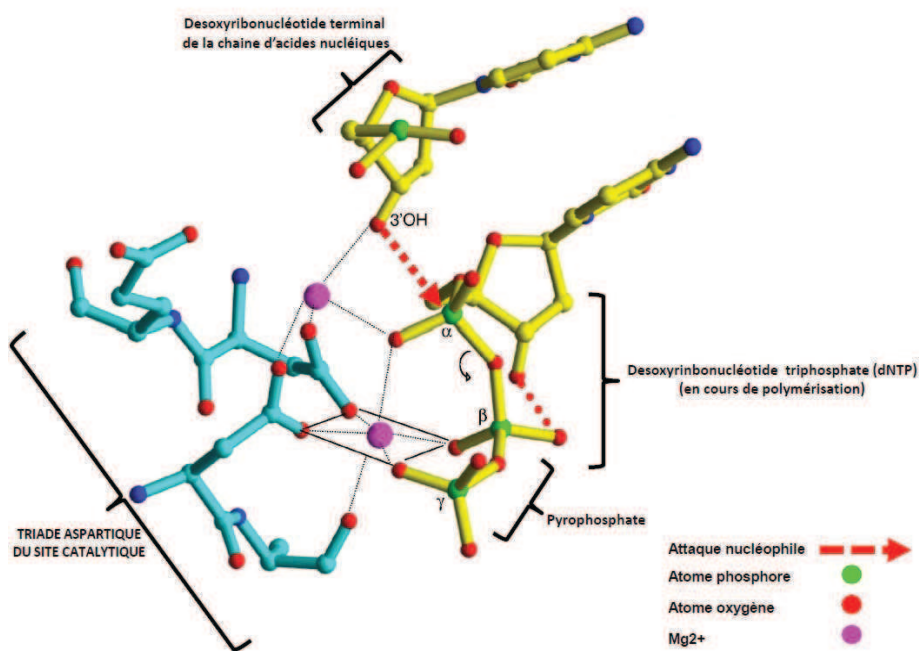


Figure 18 : Polymérisation d'un dNTP après chélation au niveau du site actif de la TI. (d'après Sarafianos, *J Mol Biol*, 2009 [5])

β) Mécanismes d'action des INTI et principales mutations pourvoyeuses de résistances

Actuellement, il existe deux classes d'inhibiteurs de la TI commercialisées, les inhibiteurs nucléosidiques de la TI et les inhibiteurs non nucléosidiques de la TI :

➤ Les INTI

Les INTI sont des analogues des nucléosides naturels dépourvus de groupement OH en 3'. Comme les substrats naturels, ils doivent être triphosphorylés avant d'être utilisés par la TI. Lorsqu'ils sont intégrés à la chaîne d'acide nucléique, l'absence de groupement hydroxyle en 3' bloque l'élongation de l'ADN : ils sont aussi appelés "nucléotides terminateurs de chaîne". Il existe deux grands mécanismes pourvoyeurs de résistance à la TI :

- Les mutations d'excision

Les mutations associées aux analogues nucléosidiques de la thymidine (TAM's) sont sélectionnées par l'AZT et la d4T. En augmentant l'affinité de l'ATP au niveau du site de polymérisation, ils provoquent l'excision des nucléotides terminateurs de chaîne déjà incorporés [20]. L'ATP va venir phosphoryler le médicament et permettre aux nucléosides naturels de se fixer de nouveau à la chaîne pour continuer l'élongation.

Un premier profil de TAM's associe les mutations T215Y, L210W, M41L. Un second profil composé des mutations T215F, D67N, K70R, K219E/Q induit une capacité répliquative moindre et possède donc une fréquence plus faible [3, 21].

- Les mutations d'exclusion

Ces mutations de résistance consistent en une sélection préférentielle des nucléosides naturels au détriment des INTI. De manière concomitante, ces mutations ne doivent pas altérer de manière démesurée la capacité répliquative de la TI afin que la réplication du virus puisse se poursuivre.

- *la mutation M184V*

Cette mutation sélectionnée lors des traitements comprenant 3TC ou FTC [22], se situe au niveau de la paume de la TI dans le motif YMDD du site catalytique [23, 24]. Elle confère un très haut niveau de résistance au 3TC et au FTC. Cependant, la présence de cette mutation diminue la capacité répliquative du virus [25, 26] et autoriserait le maintien du 3TC ou du FTC, lorsque le choix de molécule se restreint et à condition que les autres composants du traitement soient pleinement actifs.

- *la mutation K65R*

Cette mutation est sélectionnée essentiellement par des traitements contenant du TDF, de l'ABC et du DDI lorsque la trithérapie est insuffisamment efficace. Elle provoque une résistance à la grande majorité des INTI. Au niveau des doigts de la TI, zone d'incorporation

des nucléotides, la K65R remplace la lysine en position 65 par une arginine. L'arginine plus volumineuse et moins flexible entraîne une diminution de l'incorporation des INTI et des substrats naturels, cependant cette diminution d'incorporation est beaucoup plus marquée pour le médicament [3]. Néanmoins, la baisse d'affinité pour les substrats naturels a un effet délétère sur la capacité répliquative du virus, mais cet effet délétère est compensé par une augmentation de la fidélité et de la processivité de la TI [27, 28]. La mutation K65R et les TAM's sont antagonistes et ne peuvent être présentes chez un même génotype viral. Dès lors en présence d'une K65R, l'AZT est l'INTI de premier choix [15, 29].

- la *L74V*

Cette mutation est sélectionnée essentiellement par des traitements comprenant la DDI et de l'ABC [22]. Cette position se situe au niveau des doigts de la TI. Elle a un effet délétère sur la capacité répliquative du virus en diminuant la fixation du brin matrice sur la TI et en diminuant l'incorporation des nucléotides. Elle est présente chez 15% des patients en échec virologique sous ABC ou DDI.

- le complexe de mutations *Q151M*

La Q151M, sélectionnée par des traitements associant la DDI à l'AZT ou au d4T [22, 30], est une MDR *multidrug resistance*. Seule, la Q151M entraîne une résistance intermédiaire à élevée à l'AZT, au DDI, au d4T et à l'ABC. L'addition de mutations complémentaires A62V, V75I, F77L, F116Y augmentent le niveau de résistance aux INTI cités et permet au virus de retrouver une meilleure capacité répliquative [3]. La sensibilité du TDF n'est pas affectée en présence de Q151M.

➤ **Les INNTI**

Les INNTI se fixent dans une poche hydrophobe très proche du site catalytique. La fixation de l'inhibiteur dans cette poche entraînerait des modifications conformationnelles de la triade catalytique, empêchant ainsi le recrutement de Mg^{2+} catalyseur de la réaction. Cette fixation entraînerait aussi une diminution de la mobilité du pouce pendant la polymérisation, selon le modèle du "pouce arthritique" [31].

Les principaux acides aminés de cette poche (L100, K101, K103, V106, T107, V108, V179, Y181, Y188, G190) correspondent à des positions de mutations de résistance aux INNTI (figure 19).

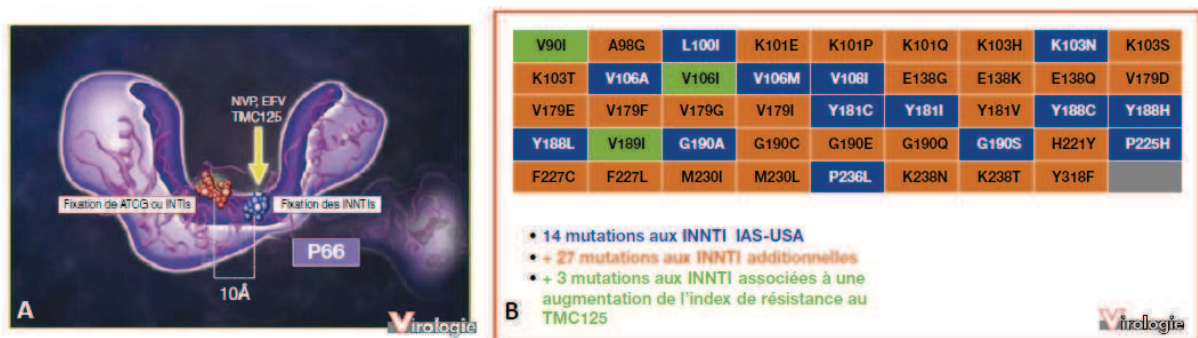


Figure 19 : Site de fixation des INTI et des INNTI et principaux acides aminés impliqués dans la formation de la poche hydrophobe (d'après A.Chéret, *Virologie*, 2008 [32]).

Les INNTI de première génération, la NVP et l'EFV, sont caractérisés par le fait qu'une seule mutation est capable d'empêcher la fixation et l'action de l'INNTI dans la poche hydrophobe, tout en conférant une résistance croisée à l'autre INNTI.

Ces molécules, bien qu'ayant une action antivirale puissante, possèdent donc une barrière génétique faible:

- la mutation *Y181C*

Cette mutation, sélectionnée en majeure partie par la NVP [22], confère une résistance croisée à l'EFV.

- la mutation *K103N*

Cette mutation, sélectionnée en majeure partie par l'EFV [22], confère une résistance croisée à la NVP.

b) La protéase

a) Structure et fonction

La PR joue un rôle déterminant dans la réplication et la maturation des virions en clivant les précurseurs protéiques : les polyprotéines *Gag* et *Gag-Pol*.

Les protéases rétrovirales (HIV/SIV) appartiennent à la famille des protéases aspartiques. Cette famille de protéase est définie par la présence de groupements aspartates au niveau du site catalytique de l'enzyme et regroupe en son sein des protéases cellulaires aux fonctions bien connues, telles que la rénine et la pepsine. Cependant contrairement aux protéases cellulaires, qui sont constituées d'un seul monomère protéique (figure 20), les protéases rétrovirales sont beaucoup plus petites et résultent de la dimérisation de deux monomères identiques [33].

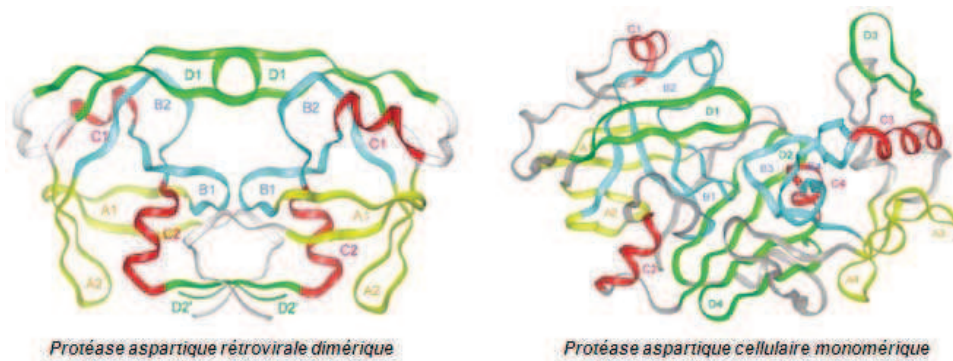


Figure 20 : Schéma comparatif des structures secondaires des protéases aspartiques rétrovirales et cellulaires [33] .

Chacun des monomères de la PR rétrovirale, participent de manière égale à la formation des différentes structures fonctionnelles de l'enzyme dont les principales sont représentées sur la figure 21 :

- **La zone de dimérisation** dont le rôle majeur consiste à stabiliser le dimère
- **Les volets de la protéase ou "flap"** qui permettent aux substrats d'accéder au site actif, lorsque les volets sont ouverts, et de maintenir les substrats dans le cœur de la protéase lorsque les volets sont fermés.
- **Le site actif DTG** lieu de clivage de la liaison peptidique par la triade d'acide aminés (D25; T26; G27).

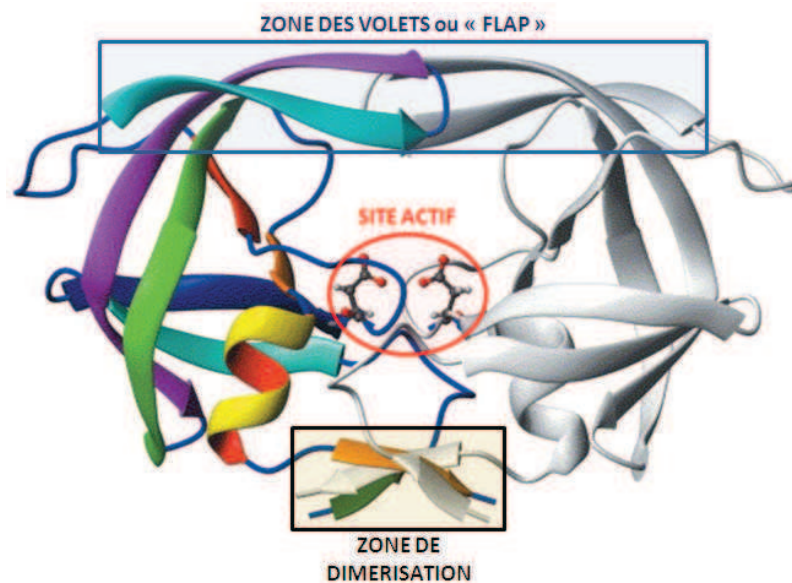


Figure 21 : Structure tertiaire de la protéase du VIH (d'après Zoete, *J Mol Biol*, 2002 [34])

β) Mécanismes d'action des IP et principales mutations pourvoyeuses de résistance

Les IP sont des analogues de substrat de la protéase rentrant en compétition avec les substrats naturels. Ces inhibiteurs compétitifs de PR sont aussi appelés des peptidomimétiques car ils miment les liaisons peptidiques présentes dans les polyprotéines gag et gag/pol, à la différence près que ces liaisons sont non clivables dans le cas des IP. Le ritonavir (Norvir[®]) est un IP qui n'est plus utilisé comme ARV mais comme inhibiteur des cytochromes hépatiques qui améliore la biodisponibilité de l'antiprotéase qui lui est associé : c'est l'effet *boost*.

La résistance aux IP est un phénomène graduel et cumulatif : en effet plusieurs mutations sont nécessaires avant que la résistance s'exprime, et les molécules de cette classe thérapeutique sont qualifiées d'ARV à barrière génétique élevée. Les mutations survenant sur la PR sont classées en deux catégories, et on distingue :

➤ Les mutations majeures ou primaires

Ces mutations, sélectionnées les premières, concernent très souvent les positions des acides aminés en contact avec les IP dans la cavité contenant le site actif de l'enzyme. En modifiant la structure des zones d'interaction entre l'enzyme et l'IP, ces mutations entraînent une diminution de la fixation du médicament et donc une diminution de son activité antirétrovirale. Certaines mutations n'ont qu'un effet mineur sur la résistance, mais lors d'un traitement prolongé, des mutations secondaires apparaissent, et majorent considérablement le niveau de résistance préexistant.

- la mutation I47A

Sélectionnée chez les patients traités par le LPV/r, la mutation I47A est située au niveau des volets de la PR. Elle est très souvent associée à la V32I et procure un haut niveau de résistance au LPV/r et au FPV/r.

- la mutation I50L

Cette mutation au niveau des volets est sélectionnée chez les patients en échec virologique traités par l'ATV/r. Elle entraîne une résistance élevée à l'ATV/r.

- la mutation I84V

Cette mutation sélectionnée par la majorité des IP, entraîne une résistance d'emblée au NFV et à l'IDV. Lorsqu'elle est associée à d'autres mutations, elle participe à la résistance des IP les plus utilisés que sont l'ATV/r, le LPV/r et le DRV/r.

- La mutation L90M

Elle est sélectionnée par la grande majorité des IP, dont elle réduit la sensibilité. Lorsqu'elle est présente avec d'autres mutations, elle participe à la résistance au LPV/r et à l'ATV/r.

➤ Les mutations secondaires

Les mutations primaires affectent très souvent la capacité répliquative du virus. L'apparition de mutations secondaires, généralement situées à distance du site actif, permet au virus d'accroître sa capacité répliquative et/ou d'augmenter le profil de résistance d'une mutation primaire.

➤ Les mutations polymorphes

Certaines mutations secondaires, généralement présentées comme mutations accessoires pour le sous-type B, sont présentes naturellement chez les sous-types non-B. On parle alors de polymorphisme.

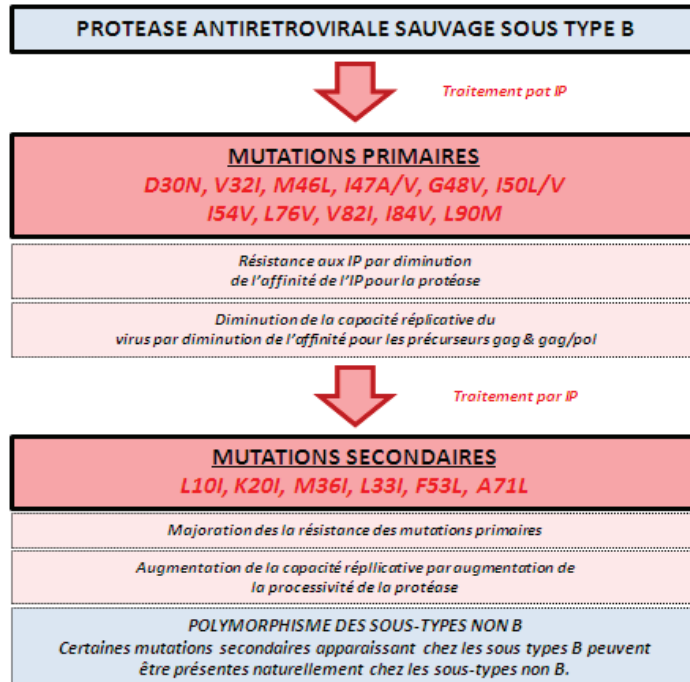


Figure 22 : Schéma représentant la séquence d'apparition des mutations de la PR.

2-Analyse de la résistance

L'analyse des résistances, chez les patients atteints du VIH, est une question difficile et importante à laquelle les équipes médicales sont confrontées pour le suivi et le traitement de leurs malades. Contrairement à l'utilisation de routine des antibiogrammes en bactériologie, l'antivirogramme, ou phénotypage, ne peut être réalisé facilement pour des raisons techniques (temps et coût), c'est pourquoi le génotypage est utilisé de façon préférentielle pour prédire les résistances au traitement.

L'apparition de mutations dans une population virale, est un phénomène complexe qui pose de nombreuses questions quant à l'impact réel de celles-ci sur le traitement, le degré de résistance associée, et la capacité à prédire *in vivo* un échec virologique en fonction d'un sous-type viral et d'un traitement donné.

De plus, le VIH existe *in vivo* sous la forme d'une quasi espèce virale regroupant de nombreuses sous-populations virales différentes; dès lors, pour des raisons techniques liées à la PCR, le génotypage d'une souche ne représente que la population virale majoritaire qui se réplique, avec pour risque d'ignorer les populations virales minoritaires pouvant abriter des mutations de résistances.

Les systèmes d'interprétation, ou algorithmes, ont été créés afin de prédire la réponse virologique au traitement en fonction de la présence, ou non, de mutations de résistance. Ces algorithmes permettent de s'assurer de l'efficacité des différents traitements avant la mise sous traitement de première ligne, mais aussi de changer de traitement en cas d'échec virologique (persistance d'une répllication virale sous traitement).

a) Les outils techniques

α) Le test phénotypique ou antivirogramme

Les tests phénotypiques mesurent la quantité de virus produite par des cultures cellulaires soumises à des concentrations croissantes d'antirétroviral [1]. L'antivirogramme permet de définir les concentrations de médicament capables d'inhiber 50% et 90% de la production virale. Ces concentrations sont respectivement appelées CI50 et CI90.

Les virus résistants sont capables de se multiplier en présence d'une concentration antirétrovirale plus forte que les virus sensibles. Ceci se traduit par une augmentation de la CI50 comme le montre la figure 23. Le rapport des CI50 entre une souche mutée et une souche sauvage de référence permet de définir le *fold change FC*, ou le rapport définissant la

réduction de sensibilité. Pour exemple si le FC=6, on pourra dire qu' *in vitro*, il faut 6 fois plus de médicament pour être aussi efficace sur la souche mutée que sur la souche sauvage.

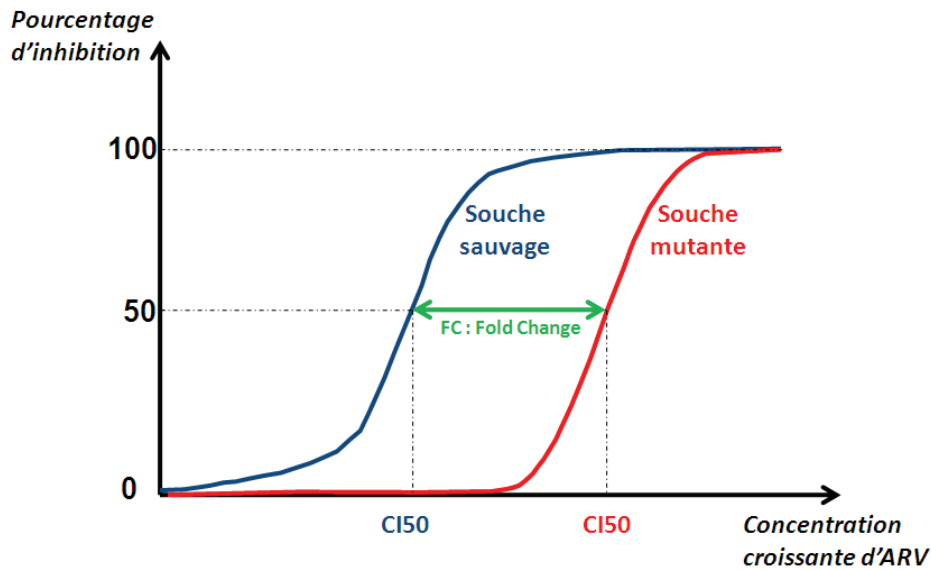


Figure 23 : Détermination des CI50 d'une souche sauvage et d'une souche mutée (d'après Wilson [35]).

β) Le test génotypique ou séquençage de résistance

Le génotypage permet l'étude des mutations présentes sur les gènes codant pour les protéines cibles des ARV : la TI, la PR, l'IN, la gp41 et la région C2V3 de la gp120 pour l'étude du tropisme.

Après amplification de la région cible par PCR et séquençage, la séquence d'acide nucléique est traduite en protéine par un logiciel, puis comparée à une séquence de référence. Cette comparaison permet d'identifier les mutations non silencieuses et de prédire, grâce aux algorithmes, l'impact qu'elles auront sur l'efficacité du traitement. Ces algorithmes nécessitent une mise à jour régulière, lorsque de nouvelles données sont disponibles, ou lors de la commercialisation de nouvelles molécules.

b) Les données exploitables pour la construction des algorithmes

La construction des algorithmes s'appuie sur les trois types de données suivantes [2, 36, 37] :

α) La mise en évidence des mutations apparaissant *in vitro* et *in vivo* sous pression de sélection

La connaissance des mutations sélectionnées *in vitro* et *in vivo*, lors d'une exposition à un antirétroviral sert de point de départ à l'élaboration des algorithmes. Cette étape permet de

mettre en évidence les mutations qui apparaissent lorsqu'une pression est exercée par un ARV *in vivo* et *in vitro*. Les souches virales, qui continuent de se multiplier chez les patients en échec thérapeutique lors des essais cliniques, et lors des tests phénotypiques, sont isolées en culture puis séquencées afin d'identifier le panel de mutations potentiellement responsables de la résistance.

β) Les données de corrélation entre un génotype viral et un phénotype

Ces corrélations ont pour but de quantifier l'effet d'une mutation sur la susceptibilité d'un ARV par rapport à une souche sauvage. Les souches virales étudiées proviennent d'isolats cliniques, ou de souches issues de techniques de mutagenèse.

Ce type de données a une signification clinique limitée pour plusieurs raisons :

- certaines mutations ne causent pas de résistance mais sont des marqueurs d'autres mutations de résistance, qui permettent de rétablir le *fitness viral*,
- certaines mutations diminuent la capacité répliquative du virus et peuvent inciter à continuer le traitement en dépit d'un haut niveau de résistance à un ARV,
- les ARV diffèrent dans leurs activités antivirales (mesurées par la CI50) et leurs propriétés pharmacocinétiques. Ainsi, la diminution de 50 fois de la sensibilité d'un ARV donné pourrait avoir la même signification qu'une diminution de 5 fois de la sensibilité pour un autre ARV.

γ) Les données de corrélation entre un génotype viral et une réponse virologique à un traitement

Cette étape permet de valider le caractère pronostique de la présence des mutations vis-à-vis de la réponse virologique. Ces données proviennent d'études qui mettent en relation un génotype viral et une réponse virologique après instauration d'un nouveau traitement. L'analyse de ces données est compliquée du fait de nombreuses variables tels que les traitements antérieurs, les autres ARV accompagnant la molécule testée, et le faible nombre de patients par étude.

c) Les différents algorithmes

Plusieurs systèmes ou règles d'interprétation de la résistance utilisant des données génotypiques ont été développés dans le but d'apporter aux cliniciens une information concise et simple sur la sensibilité des molécules antirétrovirales utilisées.

En France, l'algorithme de l'ANRS rapporte trois niveaux de résistance pour un antirétroviral donné : sensible, résistance possible, résistant. La règle d'interprétation de la

sensibilité d'un antirétroviral y repose sur l'analyse du succès ou de l'échec virologique *in vivo* chez des patients traités en fonction de la présence ou de l'absence d'une mutation identifiée comme pourvoyeuse de résistance. La version actuellement utilisée de l'algorithme de l'ANRS est disponible en annexe I.

Le système d'interprétation de l'université de Stanford repose, quant à lui, sur l'attribution d'un score de pénalité pour chaque mutation. La valeur du score de pénalité prend en compte à la fois des données de résistance phénotypique en fonction de la présence ou de l'absence de mutation génotypique, et aussi des données obtenues *in vivo* lors de l'analyse des essais cliniques chez l'homme. La somme des différents scores de pénalité permet d'obtenir un score final qui classera le médicament en 5 niveaux de résistance : sensible, potentiel faible niveau de résistance, faible niveau de résistance, niveau de résistance intermédiaire, haut niveau de résistance.

IV PRISE EN CHARGE DE L'INFECTION A VIH AU SUD

A-DEPISTAGE

1-Stratégie et outils du dépistage dans les pays à ressources limitées

Le dépistage du VIH dans les pays à ressources limitées est un enjeu majeur, car il conditionne l'accès des personnes malades à la prise en charge thérapeutique. La bonne réalisation et interprétation des tests de dépistage est sous la dépendance de nombreuses variables telles que l'implication des politiques en place en matière de santé publique, les ressources humaines et financières disponibles, et les conditions d'entretien du matériel utilisé.

L'algorithme conventionnel utilisé au Nord pour le diagnostic sérologique du VIH emploie un test immuno-enzymatique de type ELISA pour dépister les échantillons positifs, puis ces échantillons réactifs sont ensuite confirmés par un western blot. Cependant, l'application de cet algorithme dans les pays à faible revenu présente de nombreux inconvénients :

- le WB est cher et nécessite une expertise technique,
- les résultats du WB peuvent être indéterminés,
- le WB exige un délai plus long pour sa réalisation et un laboratoire équipé.

Plusieurs stratégies de dépistage alternatives, sans WB, sont proposées par l'OMS (figure 24). Ces algorithmes proposent d'utiliser différents tests immuno-enzymatiques de dépistage, soit de manière simultanée, soit de manière séquentielle. Le choix et la mise en œuvre d'une stratégie alternative est conditionnée par des critères tels que l'objectif du test (sécurité transfusionnelle ou diagnostic), la spécificité et la sensibilité des tests, ou la prévalence du VIH dans la population considérée [38, 39].

Dans le cadre du don de sang et de la sécurité transfusionnelle, l'algorithme utilisé présentera moins d'étapes de vérification dans la mesure où tout sérum ayant une réactivité faussement positive ou indéterminée sera systématiquement écarté du don [38].

En revanche, dans le cadre du dépistage et du diagnostic de l'infection par le VIH, il apparaît primordial de s'affranchir des erreurs de sensibilité et de spécificité d'une stratégie de dépistage basée sur une seule technique. De plus, dans les pays à faible revenu, l'absence de confirmation lors des erreurs d'identification risque de priver un patient contaminé d'une prise

en charge préventive et thérapeutique, et de traiter à tort un patient avec des molécules parfois toxiques, sans compter la stigmatisation inutile du sujet.

Afin d'éviter de traiter inutilement une personne séronégative, l'OMS préconise des étapes de vérification sérologique sur de nouveaux prélèvements et par d'autres techniques (test de diagnostic rapide), afin que l'annonce du résultat au patient soit un acte définitif et certain. Les résultats de plusieurs études montrent que les stratégies utilisant des combinaisons de plusieurs tests ELISA sont moins coûteuses et préservent de très bons résultats en termes de sensibilité (100%), mais aussi en termes de spécificité (>99% pour certaines trousse de réactifs) dans des régions où la variabilité virale est la plus forte [39-41]. Dans tous les cas, l'OMS et l'ONUSIDA recommandent d'utiliser des tests ayant une sensibilité d'au moins 99 % et une spécificité d'au moins 98 % [38].

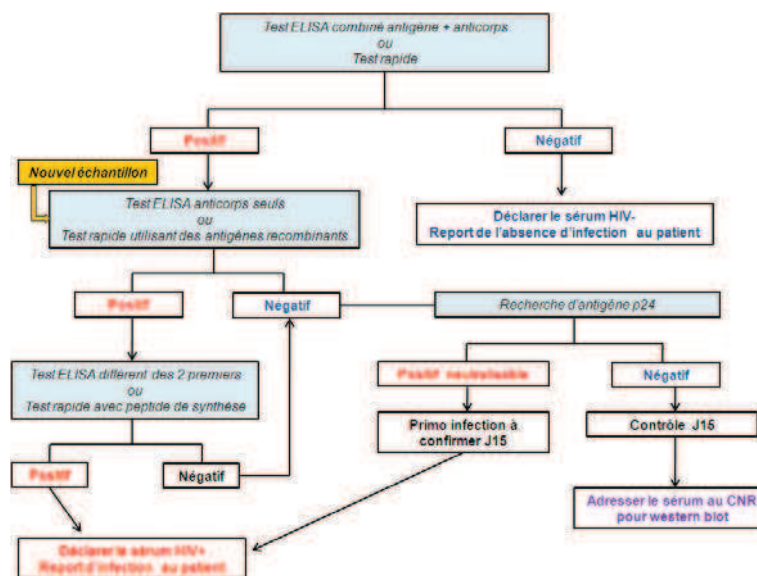


Figure 24 : Stratégie diagnostique par combinaison de 3 tests selon la stratégie n°3 de l'OMS (d'après "L'OMS et les stratégies de dépistage du VIH sans WB " [1, 38]).

2-Bilan initial

La numération des CD4 au début de la prise en charge est un outil majeur pour apprécier l'état du système immunitaire, mais aussi afin de guider la décision d'initiation d'une trithérapie antirétrovirale. Cette première numération des CD4 servira de référence pour le suivi thérapeutique après mise sous traitement.

Une série de mesures procure davantage d'informations qu'une mesure unique, car elle permet d'apprécier une dynamique de croissance ou de décroissance des CD4. Dès lors, il

est préférable de répéter la numération des CD4 si une décision majeure concernant le patient en dépend.

En situation de ressources limitées, il n'est pas nécessaire de mesurer la charge virale plasmatique (ARN du VIH) avant de commencer un TAR. La mesure de la charge virale est utilisée pour détecter les échecs thérapeutiques. Une détection plus précoce de l'échec virologique permet à la fois de cibler les interventions relatives à l'observance et de mieux préserver l'efficacité des schémas thérapeutiques de deuxième intention.

B-PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE : RECOMMANDATIONS OMS

1-Contexte général

En 2005, le nombre de personnes ayant accès aux traitements ARV dans les pays à ressources limitées était estimé à 1,3 millions de personnes. Ce chiffre représentait 20% de la population réelle en ayant besoin, estimé à 6,5 millions.

L'élargissement de l'accès aux ARV à toutes les personnes qui en ont besoin a été acté par les pays membres du G8 et la résolution A/60/L43 de l'assemblée générale des nations unies. Cet élargissement résulte aussi de l'acceptation de l'utilité du traitement ARV dans la stratégie préventive à l'échelle individuelle comme à l'échelle collective.

Les recommandations "*Traitement antirétroviral de l'infection VIH chez l'adulte et l'adolescent*" de l'OMS s'adressent aux équipes médicales, aux responsables régionaux et de manière générale à tous les décideurs et acteurs de la lutte contre le VIH dans les pays à ressources limitées.

2-Initiation du traitement

L'évolution des recommandations OMS entre 2006 et 2010 concernant les critères d'éligibilité à la mise sous TAR (table 3) permettrait, selon les estimations pour la période 2010-2015, une augmentation de 49% du nombre de personnes mises sous traitement et une réduction de la mortalité liée au VIH de 20%. Cette évolution aboutirait aussi à une meilleure prévention de la transmission sexuelle et de la transmission materno-foetale.

Les risques attendant à cette forte augmentation des personnes mises sous TAR sont, d'une part, l'augmentation du cout général du TAR (estimée à près de 57% pour la période 2010-2015), et d'autre part, le risque de devoir faire face à un manque de traitement pour des personnes en situations d'urgence thérapeutique. Enfin, une exposition plus précoce au TAR signifie aussi une augmentation du nombre d'effets indésirables, et une augmentation de la

résistance aux ARV avec tous les problèmes d'observance, et de suivi clinique et biologique qui en résultent.

Table 3 : Evolution des recommandations OMS de la mise sous TAR entre 2006 et 2010 [42, 43]

STADE CLINIQUE OMS	RECOMMANDATIONS OMS 2006	RECOMMANDATIONS OMS 2010
1	Commencer le TAR si les CD4 \leq 200/mm ³	Commencer le TAR si les CD4 \leq 350/mm ³
2	Commencer le TAR si les CD4 \leq 200/mm ³	Commencer le TAR si les CD4 \leq 350/mm ³
3	Envisager le TAR CD4 si les CD4 \leq 350/mm ³ Commencer le TAR CD4 si les CD4 \leq 200/mm ³ (*)	Commencer le TAR quel que soit le nombre de CD4
4	Commencer le TAR quel que soit le nombre de CD4	Commencer le TAR quel que soit le nombre de CD4

(*) Il était recommandé de commencer le traitement avant que le nombre de CD4 ne passe en dessous de 200 cellules/mm³

En résumé en 2010, l'OMS recommande d'instaurer un traitement antirétroviral chez :

- Les patients présentant un stade clinique 3 ou 4 de la classification OMS (table 4) quel que soit le nombre de CD4
- Les patients présentant un taux de CD4 inférieur à 350 cellules/mm³ quel que soit le stade clinique OMS
- Les patients coinfecteds par l'hépatite B ou ayant une tuberculose active

De plus, l'OMS recommande que tous les patients présentant un stade clinique de l'OMS 1 ou 2 aient accès au test de numération des CD4 pour déterminer le moment où commencer un traitement.

Table 4 : Stade clinique OMS (d'après les recommandations OMS 2010 [42]).

STADE CLINIQUE OMS			
Stade 4	Stade 3	Stade 2	Stade 1
<ul style="list-style-type: none"> - Syndrome cachectique dû au VIH - Pneumonie à <i>Pneumocystis</i> - Pneumonie bactérienne récurrente - Infection herpétique chronique - Candidose œsophagienne - Tuberculose extra pulmonaire - Sarcome de Kaposi - Infection à cytomégalovirus - Toxoplasmose cérébrale - Encéphalopathie à VIH - Cryptococcose - Infection mycobactérienne non tuberculeuse disséminée - Leucoencéphalopathie multifocale progressive - Cryptosporidiose chronique - Isosporose chronique - Mycose disséminée - Septicémie récurrente - Lymphome cérébral ou lymphome non hodgkinien à cellules B - Carcinome invasif du col de l'utérus - Leishmaniose atypique disséminée - Néphropathie associée au VIH - Myocardopathie associée au VIH 	<ul style="list-style-type: none"> - Perte de poids sévère inexplicable - Diarrhée chronique inexplicable depuis plus d'un mois - Fièvre persistante inexplicable - Candidose buccale persistante - Leucoplasie chevelue de la cavité buccale - Tuberculose pulmonaire - Infections bactériennes graves - Stomatite, ou gingivite, ou parodontite aiguë nécrosante - Anémie (<8 g/dl), neutropénie (<0,5 x 10⁹ par litre) et/ou thrombocytopénie chronique (<50 x 10⁹ par litre) inexplicables 	<ul style="list-style-type: none"> - Perte de poids modérée inexplicable - Infections récurrentes des voies respiratoires supérieures - Zona - Chéilite angulaire - Ulcérations buccales récurrentes - Prurigo - Dermite séborrhéique - Infections fongiques de l'ongle 	<ul style="list-style-type: none"> - Asymptomatique - Lymphadénopathie généralisée persistante

3-Schéma thérapeutique de première intention

Chez les personnes naïves de traitement, et éligible pour en recevoir un, l'OMS recommande l'utilisation en première intention de l'un des schémas thérapeutiques suivant [42]:

- AZT + 3TC + EFV
- AZT + 3TC + NVP
- TDF + 3TC (ou FTC) + EFV
- TDF + 3TC (ou FTC) + NVP

L'utilisation de l'abacavir ABC et de la didanosine ddI en première intention n'est pas recommandée pour des problèmes liés au coût pour le premier et de toxicité pour le second. L'arrêt et le remplacement progressif de la d4T par le TDF ou l'AZT est justifié par le fait que les effets indésirables importants de cette molécule (acidose lactique et lipodystrophie) peuvent avoir des conséquences sur l'observance et le suivi de ces patients.

4-Schéma thérapeutique de deuxième intention

L'utilisation d'un IP, associé à deux INTI, est recommandé comme schéma thérapeutique de deuxième intention. Les IP disponibles sont ATV/r et LPV/r.

Il est aussi préconisé d'utiliser une combinaison d'INTI différente de celle prescrite en première intention par exemple : " si la combinaison [d4T ou AZT]+[3TC ou FTC] a été utilisée dans le TAR de première intention, il faut utiliser une base d'INTI associant [TDF]+[3TC ou FTC] pour le TAR de deuxième intention et si la combinaison [TDF]+[3TC ou FTC] a été utilisée dans le TAR de première intention, utiliser une base d'INTI associant [AZT] + [3TC] pour le TAR de deuxième intention [42] ".

5-Décision de changement de traitement lors d'un échec thérapeutique.

Lorsqu'un traitement antirétroviral est instauré, le suivi thérapeutique organisé doit permettre de détecter précocement les échecs thérapeutiques afin de pouvoir changer de traitement. Lors d'une prise en charge optimale, le suivi thérapeutique regroupe un examen clinique, une mesure du nombre de CD4 et une mesure de la charge virale.

Cependant dans les pays à ressources limitées, certains outils biologiques, notamment la mesure de la charge virale, ne sont pas toujours disponibles pour des raisons techniques et financières. Pour autant, il est avéré que la mesure de la charge virale est un indicateur plus sensible de l'échec thérapeutique que les indicateurs cliniques ou immunologiques.

L'OMS propose deux types de stratégies d'utilisation de la charge virale dans le suivi thérapeutique des personnes recevant des ARV:

La première stratégie dite "stratégie ciblée de mesure de la CV" ne préconise la mesure de la CV que dans le but de confirmer un échec thérapeutique suspecté sur une base clinique ou immunologique (figure 25A). Elle possède l'avantage de minimiser les coûts financiers. Une mesure de la charge virale entre 4 et 6 mois après le début du traitement, peut tout de même être utilisée afin d'évaluer l'observance du patient.

La deuxième stratégie dite "stratégie de mesure systématique de la charge virale" a pour objectif de détecter l'échec virologique de façon précoce (figure 25B). Elle permet des interventions rapides sur l'observance ou sur le changement de traitement qui limiteront la réplication virale avec pour conséquence une diminution du risque d'accumulation de mutations de résistance.

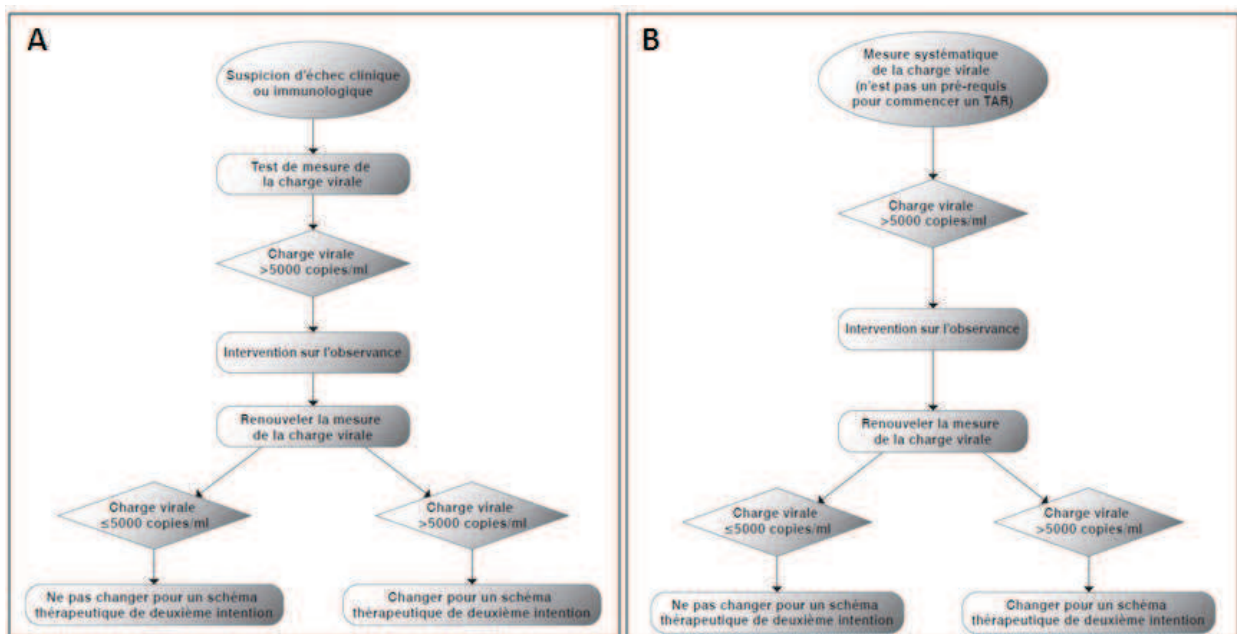


Figure 25 : Recommandations OMS pour l'utilisation de la charge virale pour le suivi des patients vivant avec le VIH [42].

C- CAS PARTICULIER DE LA PRISE EN CHARGE PEDIATRIQUE

En 2009, l'OMS estime à 2.5 millions le nombre d'enfants vivant avec le VIH dans le monde. Cette même année, les nouvelles infections de nourrissons et d'enfants ont été évaluées à 430 000. La très grande majorité de ces nouvelles infections ont lieu en Afrique sub-saharienne et sont dues à une transmission mère-enfant.

1-Risque de transmission mère-enfant

La transmission mère-enfant du VIH s'effectue à différents stades de la grossesse par des voies de contamination différentes :

- la transmission *in utero*

Elle est qualifiée de transmission précoce et résulte d'un contact hématogène transplacentaire entre le sang de la mère et le liquide amniotique du fœtus,

- la transmission lors de l'accouchement ou per partum,

Elle est qualifiée d'infection tardive et s'effectue lors du passage dans la filière génitale pendant le travail : la peau et les muqueuses du nouveau-né se retrouvent en contact avec les sécrétions cervico-vaginales et/ou le sang de la mère,

- la transmission en période post natale par l'allaitement

Le risque de transmission du VIH persiste, en effet, tout au long de l'allaitement.

En l'absence d'intervention thérapeutique ou préventive, plusieurs études ont situé le risque de transmission du virus de la mère à son enfant entre 20 et 50% [44-46]. Une synthèse des données de plusieurs essais cliniques concernant des stratégies préventives de la transmission mère-enfant par des thérapeutiques antirétrovirales a permis d'approximer le risque de transmission du VIH, en fonction du terme de la grossesse, dans des populations de femmes allaitantes ou non. La table 5 récapitule ces estimations.

Table 5 : Approximation du risque de transmission du VIH en fonction du terme de la grossesse. (d'après Athena P Kourtis, *Lancet Infect Dis*, 2006 [47])

POPULATIONS	RISQUE GLOBAL DE TRANSMETTRE LE VIRUS A L'ENFANT (%)	RISQUE DE TRANSMISSION DU VIRUS EN FONCTION DU TERME DE LA GROSSESSE (%)				
		AVANT LA 14 SA	ENTRE LA 14-36 SA	ENTRE LA 36 SA ET LE TRAVAIL	ACCOUCHEMENT	PÉRIODE POST-NATALE
PAS D'ALLAITEMENT	25	3	17	50	30	N/A
ALLAITEMENT JUSQU'À 6 MOIS	31	4	13	39	26	18
ALLAITEMENT JUSQU'À 18-24 MOIS	41	2	10	29	20	39

Dans les pays occidentaux, ce taux de transmission serait aujourd'hui inférieur à 2 % grâce aux nombreux progrès effectués en matière de prise en charge préventive tels que le traitement antirétroviral pendant la grossesse, la prophylaxie néonatale, l'utilisation de la césarienne et l'absence d'allaitement lorsque cela est possible [48-51].

Dans les pays à ressources limitées, de nombreuses stratégies préventives ont montré leur efficacité en réduisant très significativement le risque de transmission mère-enfant.

2-Diagnostic de l'infection VIH chez l'enfant et le nourrisson

Selon l'OMS, le diagnostic d'une infection VIH chez un enfant, ou un nourrisson, doit pouvoir être proposé le plus rapidement possible aux enfants nés de mères séropositives. Un diagnostic précoce permet aux acteurs de santé d'offrir une prise en charge thérapeutique rapide aux enfants infectés (enfants pouvant rapidement progresser vers un SIDA) avec tous les bénéfices apportés par celle-ci en termes de réduction de la morbi-mortalité. La connaissance du statut du nourrisson vis-à-vis de l'infection VIH permet de guider la mère quant au choix de l'alimentation de l'enfant. Des réductions de coûts sur les traitements ARV seront également faites chez les enfants ayant des tests virologiques négatifs à la sixième semaine.

a) Les tests sérologiques

Chez les enfants de plus de 18 mois, l'utilisation des tests sérologiques permet de conclure sur la présence ou non d'une infection VIH chez le sujet testé.

Chez les enfants de moins de 18 mois, en raison de la transmission passive des anticorps maternels, les résultats des tests sérologiques ne permettent que de dire si l'enfant a été exposé ou non au VIH pendant la grossesse de sa mère. Cependant, pour un nourrisson exposé au VIH pendant la grossesse de sa mère, l'absence de diminution du titre d'anticorps au cours de la première année de vie oriente vers la présence d'une infection VIH qui devra être confirmée par un test virologique.

b) Les tests virologiques

Les tests virologiques mettent directement en évidence le virus ou une partie des composants de celui-ci. Le génome viral est détecté par des techniques de biologie moléculaire comme la RT-PCR. La détection de l'antigène p24 traduit la présence dans le sérum des composants de la capsid virale. Enfin, la particule virale entière peut être isolée par culture cellulaire du virus.

Lors d'une démarche diagnostique, la cinétique de positivité des tests informe sur la date et le mode d'infection du nourrisson. Lorsque le test virologique est positif dans les quarante huit premières heures de vie de l'enfant, on s'oriente vers une transmission mère-enfant *in utero* [52, 53]. La transmission lors de l'accouchement se traduit par un test virologique négatif à la naissance puis positif entre la première et la 6^{ème} semaine de vie du nouveau né [52, 53]. Un premier test virologique effectué à l'âge de 4 à 6 semaines permettra d'identifier plus de 95% des nourrissons infectés *in utero* ou lors de l'accouchement [54, 55]. Chez les enfants allaités par des mères séropositives, la réalisation des tests virologiques doivent être effectués 6 semaines après l'arrêt de l'allaitement afin de garantir le statut de l'enfant vis-à-vis du VIH : un test virologique se positivant à l'issue de cette période est le reflet d'une infection VIH chez l'enfant ayant eu lieu au cours de l'allaitement.

3-Prise en charge thérapeutique

A partir des recommandations OMS, chaque pays élabore sa politique spécifique en termes de prise en charge. Dans ce paragraphe, nous détaillerons les recommandations OMS pour la prise en charge des enfants infectés par le VIH tout en montrant comment s'effectue la prise en charge au CHUP-CDG.

a) Initiation du traitement

Dans les pays à ressources limitées, les enfants infectés par le VIH non traités décèdent généralement avant leur cinquième anniversaire, entraînant ainsi une forte augmentation de mortalité infantile dans ces pays [56, 57]. Une mortalité infantile plus forte et une progression vers le stade SIDA plus rapide ont été constatées chez les enfants ayant acquis l'infection par transmission *in utero* ou au moment du travail, par rapport à ceux l'ayant acquis plus tardivement au moment de l'allaitement [57].

Les résultats d'une méta-analyse rassemblant des données clinico-biologiques concernant 3941 enfants issus de cohortes, ou d'essais cliniques randomisés, confirment le fait que pour un taux de CD4 donné, les enfants en bas âge non traités, ou traités par monothérapie d'AZT, ont une mortalité beaucoup plus importante, et une évolution vers le stade SIDA beaucoup plus rapide, que les enfants infectés plus âgés, comme le montre la figure 26 [58].

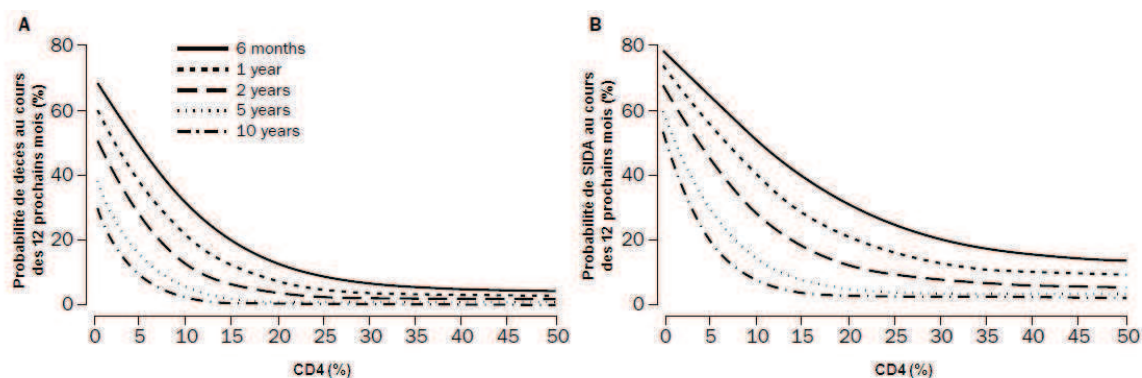


Figure 26 : Probabilité de décès (A) et probabilité d'apparition d'événement classant SIDA (B) en fonction du taux de CD4 et de l'âge. (d'après Dunn, *Lancet*, 2003 [58])

Ces données soulignent l'importance cruciale de l'initiation précoce d'une thérapeutique adéquate chez ces enfants afin d'améliorer leur survie par un contrôle immuno-virologique de l'infection.

Concernant le moment de l'initiation thérapeutique, une étude randomisée sud-africaine a étudié l'évolution des enfants traités avant l'âge de 3 mois par rapport à ceux chez qui le traitement n'était débuté que si l'enfant développait des symptômes ou si le taux de CD4 chutait en dessous de 20%. Cette étude montre une surmortalité de 75% dans le groupe des enfants au traitement différé [59, 60].

Ces différents travaux de recherche ont permis de faire évoluer les recommandations de l'OMS sur le moment opportun pour initier un traitement antirétroviral chez le nourrisson. Actuellement, l'OMS recommande d'initier un traitement dans les situations suivantes :

Table 6 : Recommandations OMS pour l'instauration d'un traitement antirétroviral chez l'enfant [53].

	STADE CLINIQUE OMS & CRITERE IMMUNOLOGIQUE (CD4)
AGE < 24 MOIS	Commencer un traitement antirétroviral dès le diagnostic posé, quel que soient le stade clinique OMS et le nombre de CD4
AGE > 24 MOIS	<ul style="list-style-type: none"> • STADE CLINIQUE OMS 3 & 4 : Commencer le traitement quel que soit la valeur des CD4. • STADE CLINIQUE OMS 1 & 2 : Commencer le traitement en fonction de la valeur des CD4 : <ul style="list-style-type: none"> - Si l'âge de l'enfant est compris entre 24 et 59 mois, commencer un traitement antirétroviral avant que les CD4 soient inférieurs à 750/mm³ ou 25%. - Si l'enfant est âgé de plus de 5 ans, commencer un traitement antirétroviral avant que les CD4 soient inférieurs à 350/mm³.

b) Schéma thérapeutique de première intention

Chez les nourrissons infectés par le VIH et n'ayant pas été exposés à la NVP lors du traitement préventif de la transmission materno-foetale, l'OMS recommande l'utilisation de d'une trithérapie composée de deux INTI et un INNTI, la NVP. Trois schémas sont proposés :

- AZT + 3TC + NVP
- ABC + 3TC + NVP
- d4T + 3TC + NVP

Ce schéma thérapeutique peut être modifié en fonction des situations suivantes :

- le remplacement de la névirapine par l'EFV est possible à partir de l'âge de 3 ans,
- en cas d'exposition à la NVP, il existe une probabilité non négligeable que le virus soit résistant à la classe des INNTI, le traitement recommandé par l'OMS associe alors deux INTI et un IP, le LPV/r
- si le patient est infecté par un VIH de type 2, les INNTI inefficaces peuvent être remplacés par un IP,
- l'association de 3 INTI, bien que moins efficace, peut être utilisée chez les patients ayant une tuberculose,
- en cas d'anémie lors du bilan initial, le d4T est préféré mais sera substitué par de l'AZT dès que possible.

c) Schéma thérapeutique de deuxième intention

L'utilisation d'un IP, associé à deux INTI, est recommandé comme schéma thérapeutique de deuxième intention. La molécule privilégiée est le LPV/r.

Il est aussi préconisé d'utiliser une combinaison d'INTI différente de celle prescrite en première intention par exemple : " si la combinaison [d4T ou AZT]+[3TC] a été utilisée dans le TAR de première intention, il faut utiliser une base d'INTI associant [ABC+3TC] pour le TAR de deuxième intention et si la combinaison [ABC+3TC] a été utilisée dans le TAR de première intention, utiliser une base d'INTI associant [AZT+ 3TC] pour le TAR de deuxième intention". Il est également possible d'utiliser la combinaison [ABC+DDI] comme base d'INTI.

PARTIE 2 : TRAVAIL PERSONNEL

I OBJECTIFS

L'objectif général était de décrire les caractéristiques épidémiologiques et immuno-virologiques de l'infection à VIH chez les enfants suivis au laboratoire d'analyses biomédicales du CHUP-CDG, et de préciser les aspects génotypiques des virus infectant ces enfants.

II METHODOLOGIE

A-POPULATION DE L'ETUDE

Ont été inclus dans notre étude, tous les enfants infectés par le VIH traités et non traités, âgés de 0 à 15 ans, et ayant bénéficié d'au moins une charge virale VIH-1 au laboratoire d'analyse du CHUP-CDG entre 2005 et 2011.

N'ont pas été inclus dans notre étude, tous les enfants ayant bénéficié d'une charge virale à visée diagnostique se révélant négative, et les enfants infectés par le VIH-2.

B-CADRE DE L'ETUDE

Notre étude s'est déroulée dans le cadre d'une collaboration inter-hospitalière entre les CHUP-CDG et Charles Nicolle de Rouen.

Situé dans le cœur de la ville de Ouagadougou, le CHUP-CDG, actuellement doté d'une capacité d'accueil de 120 lits, assure entre autre la prise en charge des enfants infectés par le VIH depuis 2003. Le laboratoire de virologie du CHU de Rouen intervient en tant que soutien technique et de formation.

C-TYPE DE L'ETUDE

Il s'agit d'une étude rétrospective à visée descriptive portant sur 559 enfants infectés par le VIH et suivis au laboratoire d'analyses biomédicales du CHUP-CDG entre 2005 et 2011.

D-METHODES UTILISEES POUR LES EXAMENS BIOLOGIQUES

1-La numération des CD4

La numération des lymphocytes CD4 a été réalisée par le cytomètre de flux Facscount (Becton Dickinson®) au CHUP-CDG. Le principe de cette technique consiste au marquage

sélectif des lymphocytes CD4 par des fluorochromes conjugués à des anticorps monoclonaux anti-CD3, anti CD4 et anti CD8.

2-La charge virale plasmatique

La charge virale a été déterminée par RT-PCR temps réel avec le kit Generic HIV (Biocentric[®]). Ce test développé par l'ANRS pour les pays à ressources limitées est beaucoup moins coûteux que les tests commerciaux. Les amorces utilisées dans cette technique ciblent la région LTR, région suffisamment conservée pour permettre l'amplification de la grande majorité des sous-types viraux du groupe M (A, B, C, D, CRF01_AE, F, CRF02_AG, H). L'extraction est réalisée par le kit QIAamp viral RNA Mini (Qiagen[®]). Le protocole utilisé au CHUP-CDG nécessite un volume 200µL de plasma pour l'extraction. L'éluât d'un volume de 60 µL est conservé entre 2 et 8°C avant d'être testé le jour même, conformément aux recommandations du fournisseur.

Le kit charge virale Generic HIV utilise 5 standards compris entre 10³ UI/mL (soit 500 copies/mL ou 2,7 log/mL) et 10⁷ UI/mL (soit 5 000 000 copies/mL ou 6,7 log/mL). Ces deux bornes, 2,7 log/mL et 6,7 log/mL, représentent les limites de quantification de la technique. La limite de détection de la méthode, qui représente la plus petite quantité de virus qui peut être détectée mais pas nécessairement quantifiée de manière précise, est estimée à 300 copies/mL ou 2,5 log/mL et la détection est réalisée par l'automate ABI PRISM[®]7000 (Applied Biosystem[®]). Dans la suite de nos travaux, nous avons utilisé le seuil de quantification de la technique pour définir la suppression virologique, soit 2,7 log/mL.

Afin de s'assurer de la qualité de rendu des résultats de charge virale, le laboratoire du CHUP-CDG participe régulièrement à un contrôle de qualité international QCMD.

3-Le génotypage de résistance

a) L'échantillon biologique : le DPS (Dried Plasma Spot)

α) Le dépôt, le transport et la réception du buvard dans le service

Les buvards utilisés sont des buvards Whatman 903[®]. Trois dépôts de 50 µL de plasma sont effectués, puis les buvards doivent sécher au moins 3 heures à température ambiante. Ces buvards sont transportés via une personne en provenance de Ouagadougou. Une fois à Rouen, les DPS sont congelés à -80°C jusqu'à analyse.

β) L'éluition du buvard

Les buvards sont, dans un premier temps, élués afin de libérer les molécules d'acides nucléiques séquestrées dans la matrice au moyen d'un tampon approprié. Les points de dépôts de plasma sur le buvard sont découpés en quatre morceaux à l'aide de ciseaux stériles. Afin d'éviter les contaminations inter-échantillons, une paire de ciseaux différente est utilisée pour chaque échantillon. Ces morceaux de buvards sont ensuite placés dans un cône eppendorf® avec 500 µL de PBS filtré, puis incubés pendant une heure à 4°C sous agitation entre 800 et 1000 tours/minutes. Après la période d'incubation, les surnageants sont récupérés et centrifugés afin que les traces de papiers buvards, pouvant inhiber la PCR, puissent être éliminées. On récupère ainsi 400 µL de surnageant qui serviront à l'extraction des acides nucléiques sur l'automate d'extraction EZ-1(Quiagen®).

γ) L'extraction de l'éluât du buvard

Cette étape permet d'extraire les acides nucléiques présents dans notre échantillon patient de 400 µL. L'EZ-1 est un automate qui permet une extraction et une purification rapides et automatisées des acides nucléiques à l'aide de billes magnétiques. Le fonctionnement de cet automate peut être résumé en trois étapes :

- La lyse des composants de la matrice par la protéinase K

Cette étape a pour objectif de lyser les tissus et les cellules de l'échantillon, d'inactiver et dégrader les protéines et les enzymes présentes, tout en conservant l'intégrité structurale des acides nucléiques que l'on souhaite amplifier par la suite. Elle s'effectue par l'ajout d'une enzyme dégradant les protéines, la protéinase K, en présence d'un tampon permettant à l'enzyme de fonctionner de manière optimale et dans des conditions de température élevées.

- L'adsorption des acides nucléiques et la purification des lysats

Après l'étape de lyse, les lysats sont mis en présence d'un tampon contenant des billes. Ces billes possèdent deux propriétés indispensables au bon déroulement de l'extraction et de la purification : le magnétisme et la capacité d'adsorption des acides nucléiques. Grâce à ces deux propriétés, les billes vont adsorber spécifiquement les molécules d'ARN ou d'ADN présentes dans le lysat, puis elles vont être retenues par magnétisme dans une zone où s'écouleront les différents tampons de lavage permettant la purification de notre échantillon.

- L'éluition des acides nucléiques restés sur les billes dans la zone magnétique

Dans une dernière étape, un tampon d'éluition sera utilisé afin de dissocier les acides nucléiques présents à la surface des billes magnétiques. Les extraits finaux d'un volume de 60 µL sont ainsi disponibles pour l'étape d'amplification.

- Traitement à la DNase

Afin d'amplifier spécifiquement l'ARN du virus, toute trace d'ADN est éliminée par un traitement à la DNAase.

b) L'amplification et le séquençage des gènes d'intérêt

α) Les PCR externes

Cette PCR amplifie le génome ARN du VIH présent dans l'extrait en de nombreuses copies d'ADN virales, grâce à une étape de transcription inverse, et de cycles de polymérisation par une ADN polymérase thermorésistante. Cette étape permet l'amplification de deux fragments du gène *pol* du VIH correspondant à deux enzymes : la TI et la PR. L'amplification du fragment de la PR, comprenant 653 paires de bases, s'effectue à partir des amorces **5'prot-1** & **3'prot-1**. L'amplification du fragment de la TI, comprenant 941 paires de bases s'effectue à partir des amorces **Mj3** & **Mj4**. Ces couples d'amorces, dont la localisation est schématiquement illustrée dans la figure 27, sont recommandés par l'ANRS pour le génotypage de résistance du VIH.

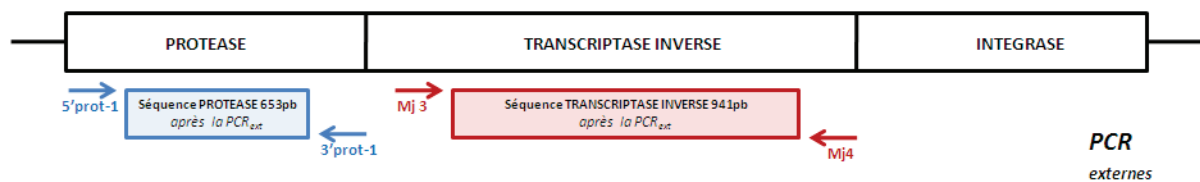


Figure 27 : Représentation schématique de la localisation des amorces des PCR_{ext} sur le gène *pol*.

Dans un premier temps, les deux mix d'amplification (celui de la PR et celui de la TI) sont préparés dans une pièce dédiée uniquement à la préparation des mix : la salle des mix. Cette salle isolée du reste du laboratoire, permet d'éviter de contaminer les réactifs d'amplification avec des extraits de patients positifs. Le tableau suivant récapitule les différents composants nécessaires à la préparation du mix PR et TI pour un échantillon.

	1 réaction de PCR	4 réactions de PCR		1 réaction de PCR	4 réactions de PCR
Mix contenant la TI	25 µL	100 µL	Mix contenant la TI	25 µL	100 µL
MgSO ₄	8 µL	32 µL	MgSO ₄	8 µL	32 µL
Eau	2 µL	8 µL	Eau	2 µL	8 µL
Amorce 5'prot1	2 µL	8 µL	Amorce Mej 4	2 µL	8 µL
Amorce 3'prot1	2 µL	8 µL	Amorce Mej 3	2 µL	8 µL
TAQ haute fidélité	1 µL	4 µL	TAQ haute fidélité	1 µL	4 µL
TOTAL	40 µL	160 µL	TOTAL	40 µL	160 µL

Figure 28 : Composition des mix de la PR (en bleu) et de la TI (en rouge).

L'enzyme assurant l'activité TI et Taq est la Superscript® III présente dans le kit SuperScript® III Platinum One-Step (Invitrogen life technologies®).

Les extraits et les témoins (10µL) sont ensuite déposés dans les tubes contenant les mix. Après dépôt, les cupules sont disposées dans un thermocycler dans la salle d'amplification. Le programme d'amplification comprend une étape de 30 minutes à 50°C permettant la transcription du génome viral ARN en ADN suivie d'une inactivation de l'enzyme à 94°C. Les étapes suivantes permettent l'amplification de l'ADN virale par la Taq de haute fidélité (ADN polymérase ADN dépendante) :

- 50°C pendant 30 minutes
 - 94°C pendant 2 minutes
 - 94°C pendant 30 secondes
 - 55°C pendant 30 secondes
 - 68°C pendant 90 secondes
 - 68°C pendant 7 minutes
- } 35 cycles
 ↗ dénaturation
 → hybridation
 ↘ élongation

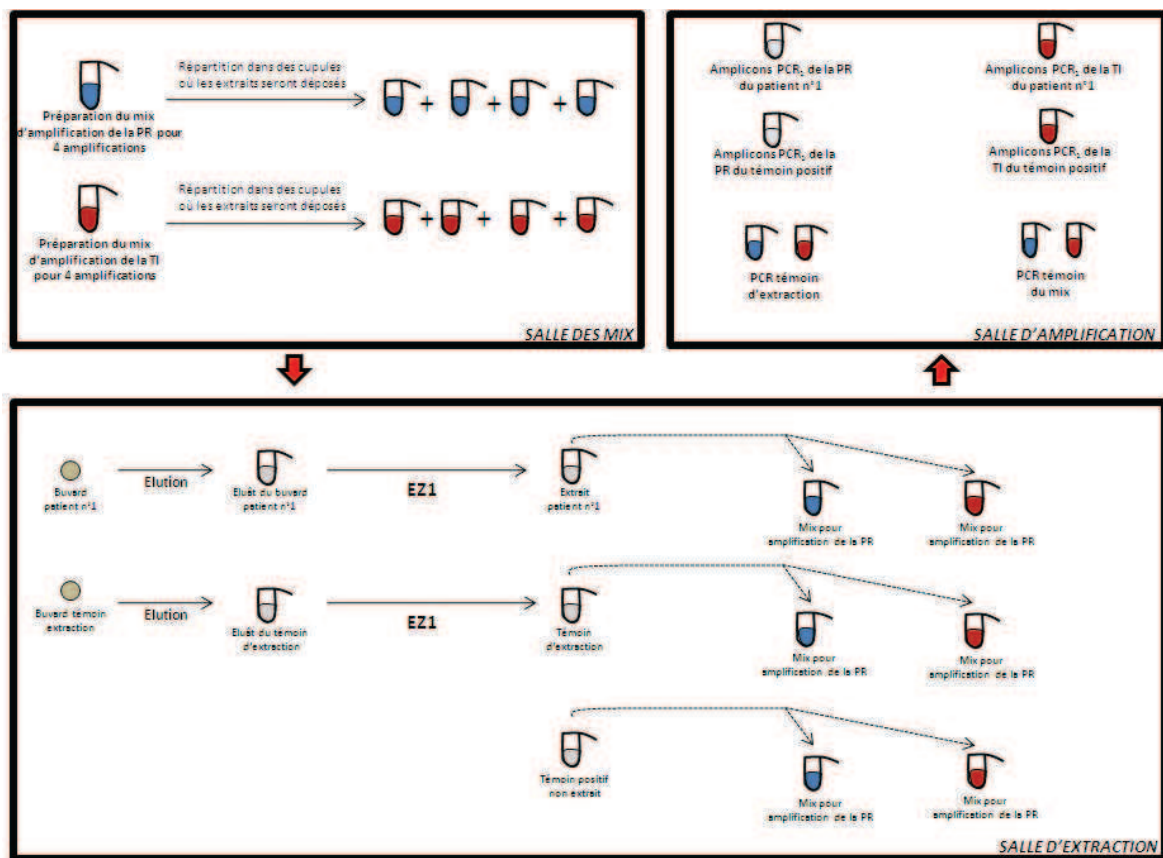


Figure 29 : Schéma récapitulatif des étapes de manipulation de l'élué des buvards jusqu'à la première réaction de PCR_{ext}.

β) Les PCR internes

Une deuxième réaction de PCR, dite nichée et nommée PCR_{int}, est réalisée sur les amplicons obtenus lors de la première réaction de PCR. Cette nouvelle amplification de séquence permet d'augmenter la sensibilité et la spécificité du séquençage.

Deux nouveaux jeux d'amorces représentés sur la figure 30 (pour la TI et la PR), sont utilisés pour cette réaction :

- les amorces de la PR : **5'prot-2 & 3'prot-2**
- les amorces de la TI : **A35 & NE1(35)**

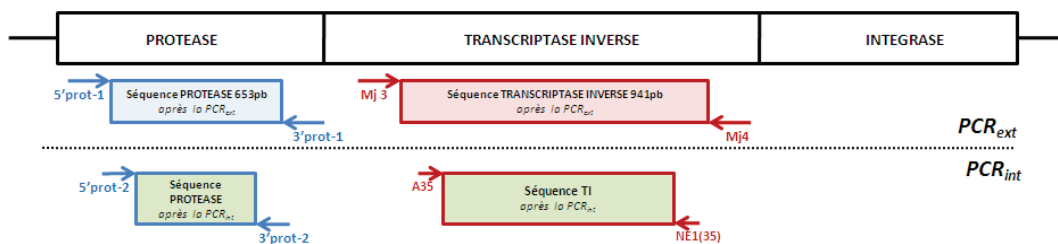


Figure 30 : Localisation schématique des couples d'amorces des PCR nichées.

Les étapes de cette PCR nichée sont similaires à celle de la PCR externe. On prépare et on répartit les mix de la PCR_{int} dans des cupules réactionnelles pour PCR; chaque cupule contient 25 µL de Hot Start Taq Master Mix (Quiagen®), 2 µL de MgCl₂, 17 µL d'eau, 2 µL d'amorce sens et 2 µL d'amorce anti-sens soit un volume total de 48 µL de mix. On dépose 2 µL de produits de la PCR_{ext} dans les cupules réactionnelles contenant les 48 µL de mix. On centrifuge et on dispose les cupules dans un thermocycler avec le programme suivant :

- 95°C pendant 15 minutes
 - 94°C pendant 30 secondes
 - 55°C pendant 30 secondes
 - 72°C pendant 1 minute
 - 72°C pendant 1 minute
- } 30 cycles
- dénaturation
 - hybridation
 - élongation

γ) La révélation et la purification des produits de la PCR

Cette étape permet de mettre en évidence la présence ou l'absence d'amplification de séquences après la réaction de PCR_{int}. Elle consiste en une migration électrophorétique sur un gel d'agarose contenant un agent intercalant de l'ADN aux propriétés fluorescentes: le bromure d'éthidium ou BET. En cas d'amplification positive, l'ADN chargé négativement va migrer vers l'anode et le BET va se fixer à l'ADN. Après le dépôt des échantillons et d'un marqueur de taille de l'ADN, la migration est effectuée pendant 45 minutes. Les gels sont

ensuite révélés par excitation du BET sous UV et une photo de la lumière émise est prise par une camera UV. La photo du résultat de la migration est imprimée, comme le montre la figure 31.

Après avoir révélé les produits ADN issus de nos réactions PCR, on réalise une étape de purification afin d'enlever les amorces et les nucléotides ainsi que les enzymes, les sels et les autres impuretés présentes dans le milieu réactionnel. On utilise les colonnes de purification du kit Nucleospin Gel and PCR Clean Up (Macherey-Nagel®). Le volume d'élution varie et dépend de l'intensité de la bande de fluorescence obtenue (50µL pour une petite bande et 150 µL pour une bande très épaisse). Le tampon d'élution est incubé une minute à température ambiante, puis l'éluat est récupéré par une dernière centrifugation de 11000g pendant une minute. Cet éluât, ou purifiât, sera utilisé pour lancer la réaction de séquence.



Figure 31 : Photographie d'un gel d'agarose après migration électrophorétique .

δ) La réaction de séquence

La troisième et dernière réaction de PCR est appelée réaction de séquence ou méthode de Sanger. Cette PCR "non conventionnelle" permet la formation de nombreuses copies d'ADN de toutes les tailles (de la plus petite à la plus grande) du fragment d'ADN que l'on souhaite séquencer. Au cours des cycles de polymérisation, la taille du fragment d'ADN dépendra du nombre de nucléotides "normaux" (dNTP) qui seront polymérisés par l'ADN polymérase avant qu'un nucléotide "terminateurs de chaînes et fluorescents" (ddNTP) ne viennent terminer la chaîne.

Les conditions de réaction sont déterminées afin que le nombre de fragments de taille n soit statistiquement équivalent au nombre de fragments de taille $n+1$, $n+2$, $n+3$ etc...

Sur une plaque de 96 puits, on effectue dans un premier temps le dépôt des mix préparés à l'aide du DCTS Quick Start Kit (Beckman Coulter®), de l'eau et des amorces des PCR nichées (**5'prot-2 & 3'prot-2** et **A35 & NE1**) dans les puits de la plaque. Puis on dépose le purifiât de chaque patient dans le puits de la plaque qui lui est associé. On place ensuite la plaque dans un thermocycler et on lance le programme suivant:

- 96°C pendant 25 secondes
 - 50°C pendant 25 secondes
 - 60°C pendant 4 minutes
- } 30 cycles

L'ADN est précipité par de l'éthanol et, une fois purifié, on reprend le culot dans 40 μ L de Sample Loading Solution du DCTS Quick Start Kit (Beckman Coulter®).

ε) Le séquençage : la migration électrophorétique capillaire

La plaque contenant les produits de la réaction de séquence est disposée dans le séquenceur CEQ-8000 (Beckman & Coulter®) représenté sur la figure 32B et dont le mode de fonctionnement repose sur le principe de l'électrophorèse capillaire. Les fragments d'ADN contenus dans les puits de la plaque vont être injectés dans le capillaire puis vont migrer le long de celui-ci à une vitesse qui dépendra de la taille et de la charge du fragment. Un faisceau laser va exciter les fluorochromes présents sur les ddNTP terminateurs de chaîne et ces derniers vont réémettre une fluorescence caractéristique pour chaque ddNTP. L'enregistrement et l'analyse spectrale de la fluorescence spécifique du ddNTP permettra alors d'assigner la base correspondante et de déterminer la séquence nucléotidique du brin d'ADN. L'ensemble de la séquence sera ensuite traduite automatiquement en protéines par le logiciel informatique pour permettre de déterminer les mutations de résistance aux ARV. La détermination des sous-types viraux pourra également être effectuée en comparant la séquence de la TI, ou de la PR dans différentes bases de données disponibles sur internet.

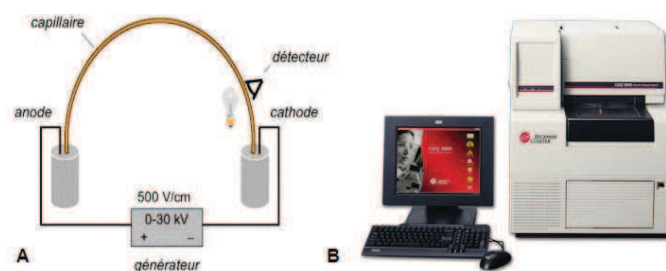


Figure 32 : A :Représentation schématique d'un appareillage de l'électrophorèse capillaire (A) (d'après F.Cotton [61]) & B : le séquenceur Beckman Coulter CEQ 8000.

E-RECUEUIL DES DONNEES

1-Les données récoltées au laboratoire du CHU Charles De Gaulle

Tous les résultats de charges virales effectuées au laboratoire du CHUP-CDG sont conservés dans une base de données mise à jour régulièrement, après la réalisation de chaque série de charge virale VIH. Les informations contenues dans cette base sont le numéro d'anonymat du patient, l'âge, le sexe, le dernier traitement antirétroviral prescrit, ainsi que la date d'initiation de ce dernier, la date de réalisation ainsi que le résultat en mm^3 et en % des différentes numérations de CD4 réalisées, la date de réalisation de la charge virale ainsi que le résultat de celle-ci. Les résultats des données analysées et présentées dans la suite de ce travail proviennent de la version de Novembre 2011.

2-Les données du géotypage de résistance du CHU Charles Nicolle

Un tableau répertoriant dans chaque gène (PR ou TI) la présence ou l'absence de mutations sur les positions prises en compte dans l'algorithme 2011 de l'ANRS, a été établi. Celui-ci a permis de prendre en compte l'interprétation de la résistance des souches séquencées selon les données de l'algorithme 2011 de l'ANRS, et ceci, quelle que soit l'année où le séquençage a été effectué. La charge virale, la thérapeutique et la numération des CD4 dans la période précédant et succédant le séquençage ont été relevées, lorsqu'elles étaient connues, afin de décrire l'état immuno-virologique de ces patients dont certains étaient en situation d'échec thérapeutique. Le géotype viral a pu être déterminé en comparant notre séquence avec la séquence de nombreux virus présents dans les bases de données des sites suivant :

<http://www.hiv.lanl.gov/content/index>

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genotyping/formpage.cgi>

III RESULTATS

A-CARACTERISTIQUES DES ENFANTS INFECTES SUIVIS AU CHUP

De 2005 à 2011, 559 enfants âgés de 1 mois à 15 ans ont bénéficié d'un suivi virologique par charge virale VIH-1. La figure 33 rassemble les données d'âge et de sexe de cette population.

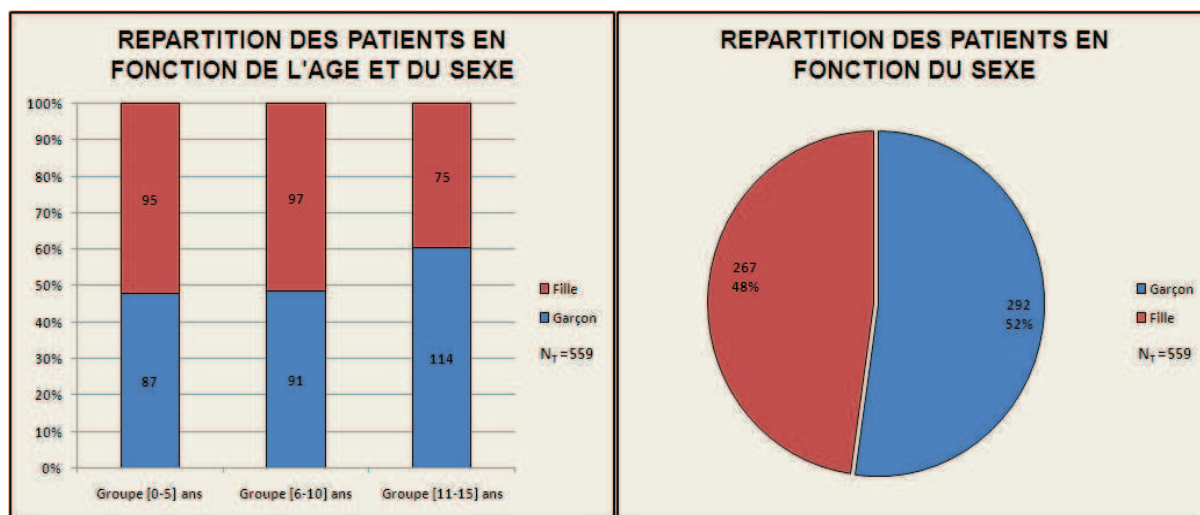


Figure 33 : Répartition de l'ensemble des enfants en fonction du sexe et de l'âge

Cette population regroupe 292 garçons et 267 filles soit un sex ratio de 1,1. On dénombre 182 enfants entre 0 et 5 ans, 188 entre 6 et 10 ans, et 189 entre 11 et 15 ans, pour un âge médian de 8 ans.

La figure 34 expose le nombre moyen d'examen immunologiques et virologiques réalisés par patient et par catégorie d'âge.

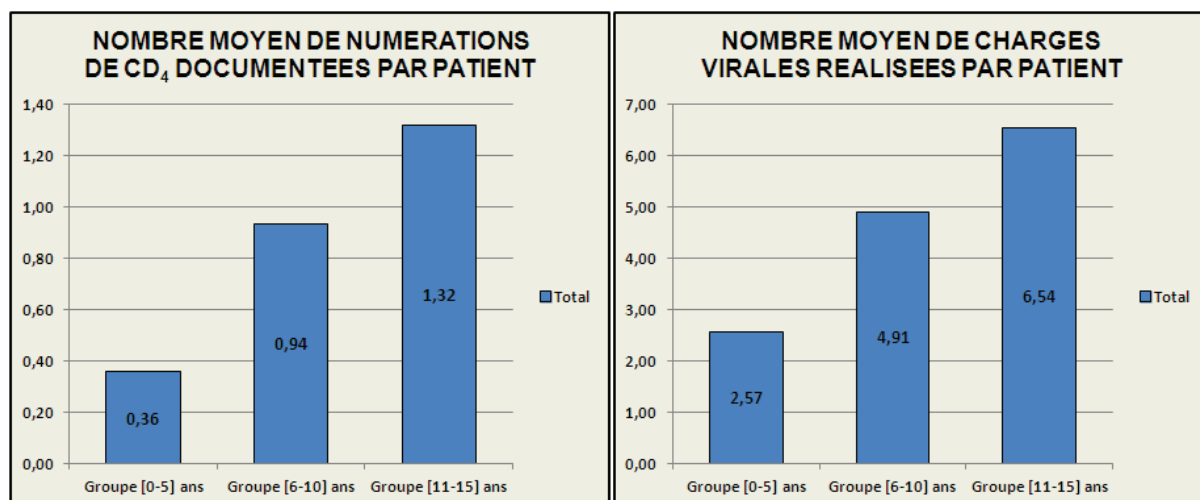


Figure 34 : Nombre moyen de numération CD4 et de charges virales réalisées par patient pour un groupe d'âge donné.

Le nombre total de numérations de CD4 réalisées est de 490. La moyenne de numérations réalisées par patient est de 0,88 pour l'ensemble de la population (n=559). On constate une augmentation significative de cette moyenne dans les différents groupes d'âge : la moyenne de numérations de CD4 par patient entre 6 et 10 ans est significativement plus forte qu'entre 0 et 5 ans ($p=1,3.10^{-7} < 0.05$; test de Student unilatéral) et la moyenne de numérations de CD4 par patient entre 11 et 15 ans est significativement plus forte que celle des enfants âgés 6 à 10 ans ($p=4.10^{-3} < 0.05$; test de Student unilatéral).

Le nombre total de charges virales réalisées est de 2628 avec un nombre moyen de charges virales réalisées pour chaque patient de 4,7. 288 patients ont bénéficié d'au moins 4 mesures de charge virale ce qui représente plus de 50% de l'ensemble des patients. L'analyse statistique montre que le nombre moyen de charges virales réalisées par patient croît de manière significative avec l'âge : la moyenne de charges virales par patient est significativement plus forte dans le groupe des 6 à 10 ans que dans le groupe des 0 à 5 ans ($p=1,8.10^{-13} < 0.05$; test de Student unilatéral) et la moyenne de charges virales par patient est significativement plus forte dans le groupe des 11 à 15 ans que dans le groupe des 6 à 10 ans ($p=1,4.10^{-5} < 0.05$; test de Student unilatéral).

On constate que le nombre moyen de charges virales réalisées par patient est significativement supérieures au nombre moyen de numération de CD4 réalisées par patient ($p=7,6.10^{-90} < 0.05$; test de Student unilatéral).

Dans la suite des résultats, nous avons utilisé la valeur de la dernière charge virale et de la dernière numération de CD4 pour rendre compte du statut immuno-virologique des enfants. Selon les recommandations du rapport Yeni 2010, l'état immunologique des enfants de 0 à 5 ans est apprécié en pourcentage des CD4, en raison de l'hyperlymphocytose physiologique des enfants à cet âge. Après 5 ans, l'état immunologique est apprécié comme chez l'adulte par la valeur des CD4/mm³.

B-CARACTERISTIQUES DES PATIENTS TRAITES ET NON TRAITES

1-Les patients non traités

a) L'ensemble de la population

Sur les 559 patients, 134 patients sont considérés comme ne recevant pas de traitement, ce qui représente 24% de l'ensemble des enfants infectés. La figure 35 représente ces enfants par groupe d'âge.

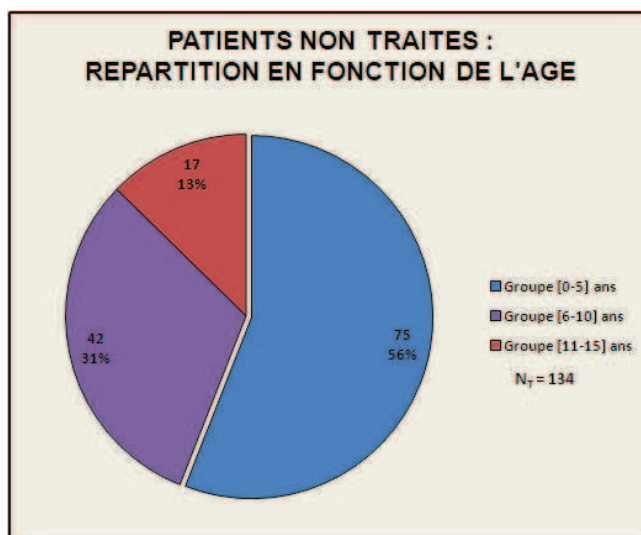


Figure 35 : Répartition des enfants non traités en fonction de l'âge.

L'âge médian des enfants non traités est de 5 ans (écart-type = 3,8 ans). La répartition des sexes est homogène avec un sex ratio de 1 (68/69). 56 % des patients sont âgés de 0 à 5 ans. Ce sous-groupe qui comprend les patients les plus fragiles sera détaillé dans la suite des résultats.

➤ les données immunologiques

La figure 36 expose l'état immunologique des patients non traités en se référant au résultat de la dernière numération de CD4.

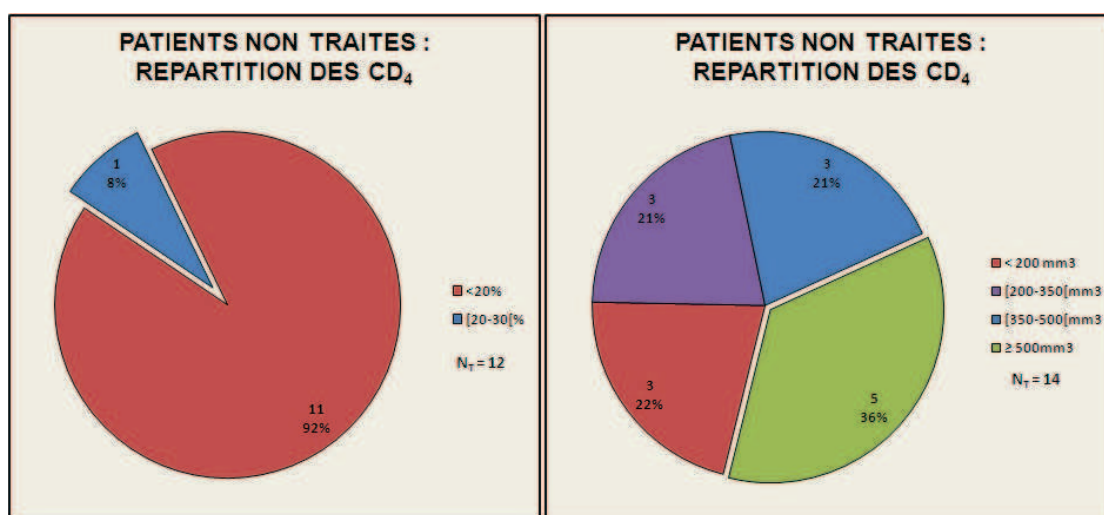


Figure 36 : Répartition des taux de CD4 en % et en mm³ chez les patients non traités.

Seuls 14 enfants sur 134, soit 10%, ont bénéficié d'une numération de CD4. Chez 12 d'entre eux, le pourcentage de CD4 était rapporté. La valeur moyenne du pourcentage de CD4 est de 9,5 %, et on constate que chez 11 patients sur 12, la valeur de cette dernière numération est inférieure à 20%. 75% des patients (9/12) ont un taux de CD4 inférieur à 15%. Concernant cette même valeur en mm^{-3} , 64% des valeurs (9/14) observées sont inférieures à $500/mm^3$.

➤ **les données virologiques**

La figure 37 expose la répartition des différentes charges virales observées chez les patients non traités.

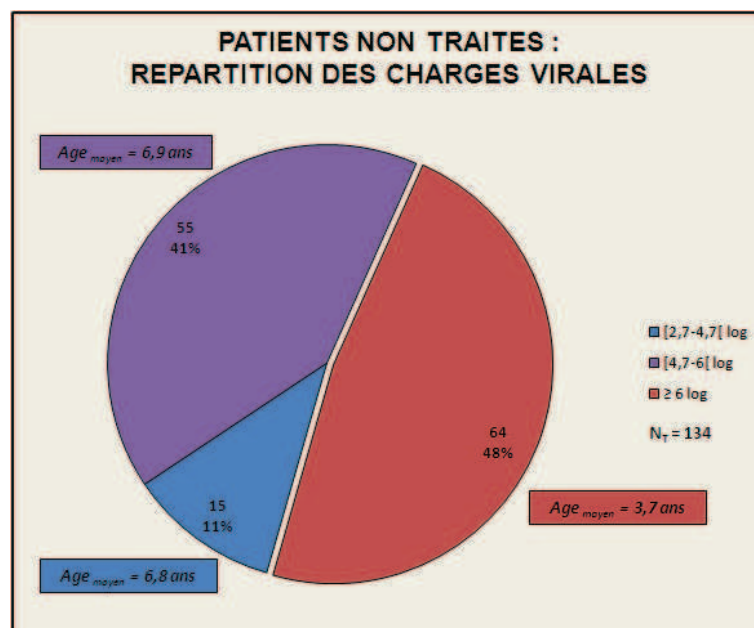


Figure 37 : Répartition de la valeur de la dernière charge virale chez les patients non traités.

48% des valeurs sont supérieures à 6 log/mL. 83% des valeurs sont supérieures à 5 log/mL. La moyenne d'âge est significativement plus basse dans la classe des charges virales supérieures à 6 log/mL (3,7 ans) que dans la classe des charges virales comprises entre 4,7 et 6 log/mL (6,9 ans) ($p=9,8.10^{-7} < 0.005$).

b) Le groupe des enfants non traités âgés de 0-5 ans

La figure 38 expose la répartition des différentes charges virales observées chez les patients non traités âgés de 0 à 5 ans (n=75).

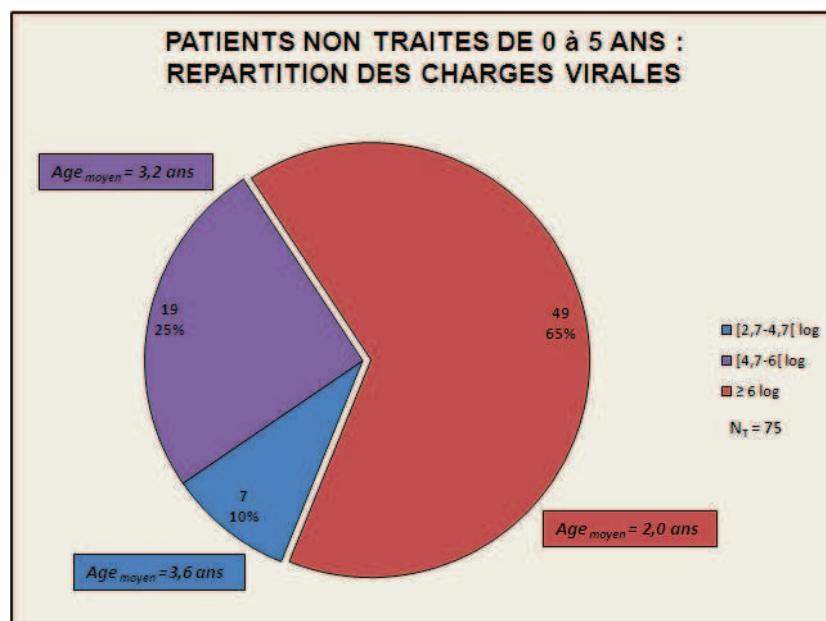


Figure 38 : Répartition de la valeur de la dernière charge virale chez les patients non traités âgés de 0 à 5 ans.

En observant le schéma ci-dessus, on constate que 65% des charges virales sont supérieures à 6 log/mL. De plus, la moyenne d'âge des enfants ayant une charge virale supérieure à 6 log/mL est significativement plus basse (2,0 ans) que la moyenne d'âge des enfants ayant des charges virales comprises entre [4,7-6[log (3,2 ans) ($p=0.004 < 0,05$; test de Student unilatéral). Les enfants âgés de moins de 2 ans ont des charges virales supérieures à 6 log/mL dans plus de 80% des cas tandis que chez les enfants âgés de 2 à 5 ans, cette proportion est de 52%. Au final, plus les enfants sont jeunes plus les charges virales observées sont élevées.

Concernant l'état immunologique de ces malades, 7 enfants ont eu une numération de CD4. La proportion des CD4 était inférieure à 20% dans tous les cas.

2-Les patients traités

Les patients bénéficiant d'un traitement antirétroviral représentent 76% de l'ensemble des patients suivis, soit un total de 425 enfants. L'âge médian est de 10 ans et le sexe ratio est de 1,1. La figure 39 expose les proportions des différentes lignes observées chez les enfants traités. Les critères de mise sous traitement ont été décrits dans la table 6.

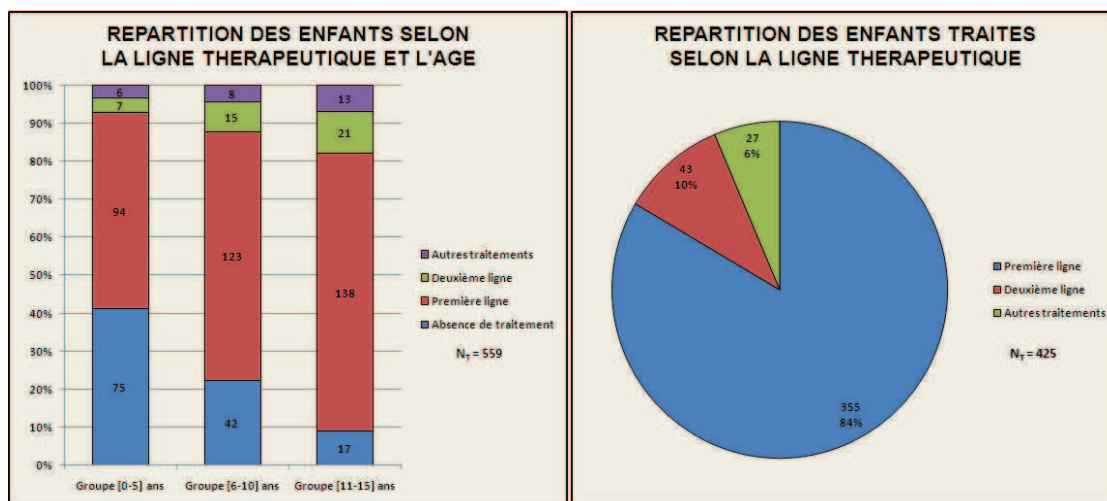


Figure 39 : Proportion globale et par âge des différentes lignes thérapeutiques.

Les traitements de première ligne représentent 84% de l'ensemble des traitements. On remarque que 59% (n=107) des enfants reçoivent un traitement entre 0 et 5 ans, près de 80% (n=146) entre 6 et 10 ans, et 91% (n=172) entre 11 et 15 ans.

a) Les patients bénéficiant d'un traitement de première ligne

Avec 355 patients, ce groupe représente 64% de l'ensemble des patients suivis et 84% des patients recevant un traitement. L'âge médian de ce groupe est de 9 ans et le sex-ratio est de 1,1 (185 /170). Les différents traitements utilisés sont exposés dans la figure 40. Les quatre associations mentionnées ci-dessous ont été classées dans les traitements de première ligne.

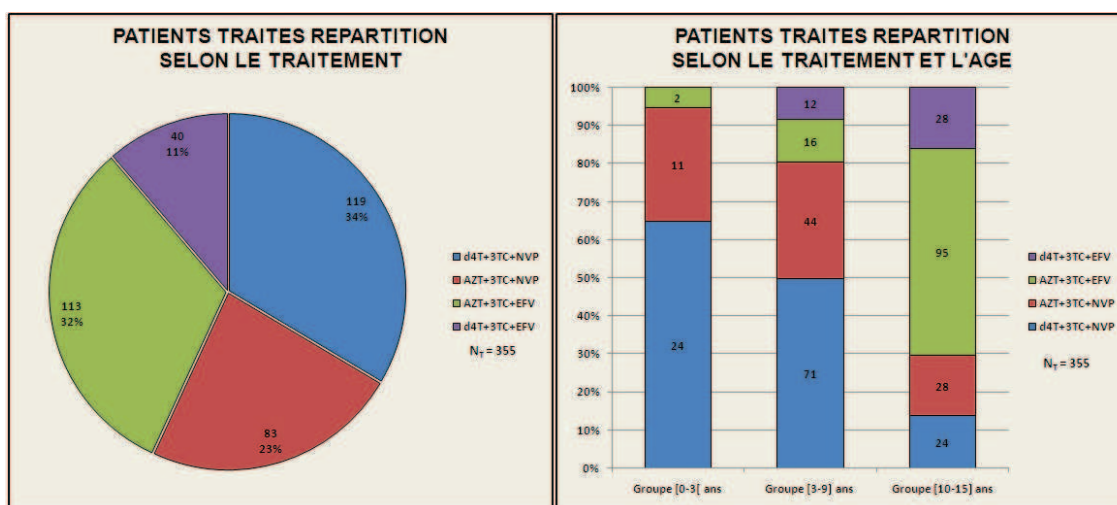


Figure 40 : Répartition des trithérapies utilisées en première ligne.

On remarque que les deux associations les plus utilisées en première ligne sont [d4T+3TC+NVP] et [AZT+3TC+EFV]. Elles représentent respectivement 34% et 32% des associations de premières lignes. En regardant l'évolution de l'utilisation de l'association [d4T+3TC+NVP] en fonction de l'âge, on constate que celle-ci prédomine chez les enfants âgés de 0 à 3 ans, avec une utilisation dans plus de 60% des cas, alors que chez les enfants âgés de 10 à 15 ans, elle ne représente que 14% des traitements. Concernant l'association [AZT+3TC+EFV], le phénomène inverse est observé, avec une utilisation dans seulement 6% des traitements entre 0 et 3 ans, 11% des traités entre 3 et 9 ans, alors qu'elle représente plus de 50% des traitements utilisés chez les enfants âgés de 10 à 15 ans.

La figure 41 expose l'utilisation préférentielle de l'AZT par rapport au d4T, et de l'EFV par rapport à la NVP, en fonction de l'âge des patients.

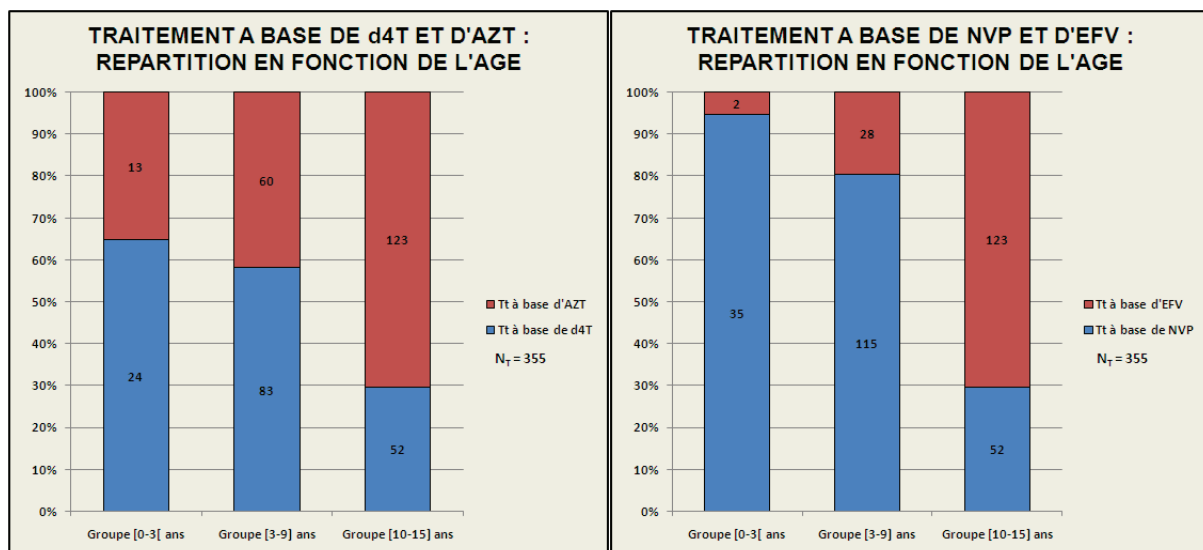


Figure 41 : Comparaison de l'utilisation préférentielle des INTI et INNTI.

En observant le schéma ci-dessus, on observe une diminution de l'utilisation du d4T avec l'âge. Il est utilisé dans plus de 60% des traitements entre 0 et 3 ans, et diminue à moins de 30% des cas entre 10 et 15 ans. Concernant l'utilisation de l'EFV, on remarque le phénomène inverse : il n'intervient que dans 20% des schémas thérapeutiques entre 3 et 9 ans alors qu'il est présent dans près de 70% des schémas thérapeutiques entre 10 et 15 ans.

➤ les données immunologiques

La figure 42 montre comment sont réparties les valeurs de numérations de CD4.

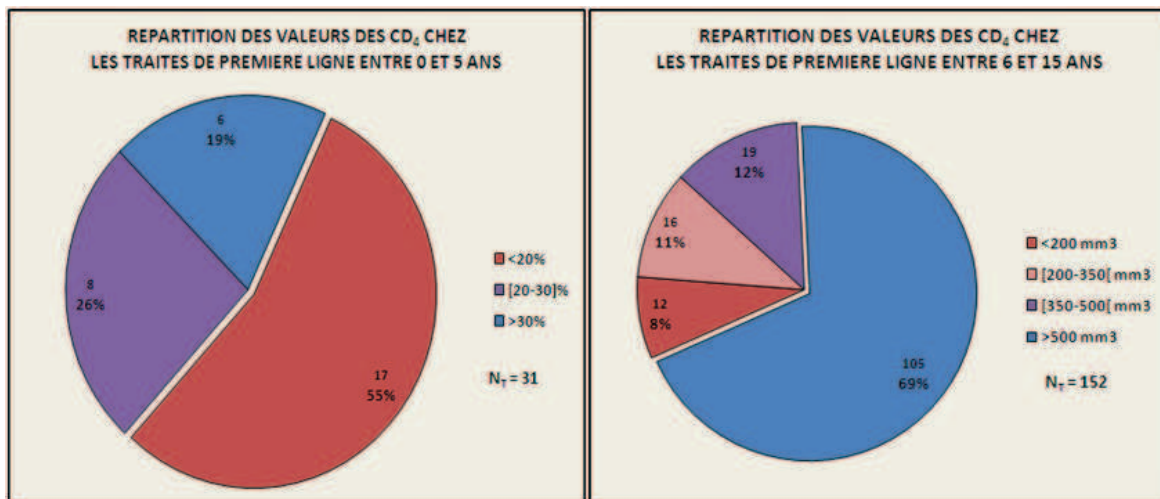


Figure 42 : Répartition de la dernière valeur de CD4 observée chez les patients traités en première ligne.

Sur la figure 42 , on note que plus de la moitié des enfants âgés de 0 à 5 ans (55%), ont une valeur de leur dernière numération de CD4 inférieure à 20%. Chez les enfants âgés de 6 à 15 ans, près de 70% de ces valeurs sont supérieures à 500 éléments/mm³.

La moyenne du taux de CD4 pour l'ensemble des enfants âgés de 0 à 15 ans est de 23,6% (n=179). La différence entre le taux de CD4 des patients traités de première ligne et des patients non traités (Δ CD4) est égale à 14,1% (23,6%-9,5%).

➤ les données virologiques

Sur la figure 43, sont réparties les valeurs des dernières charges virales observées chez les patients recevant un traitement de première ligne.

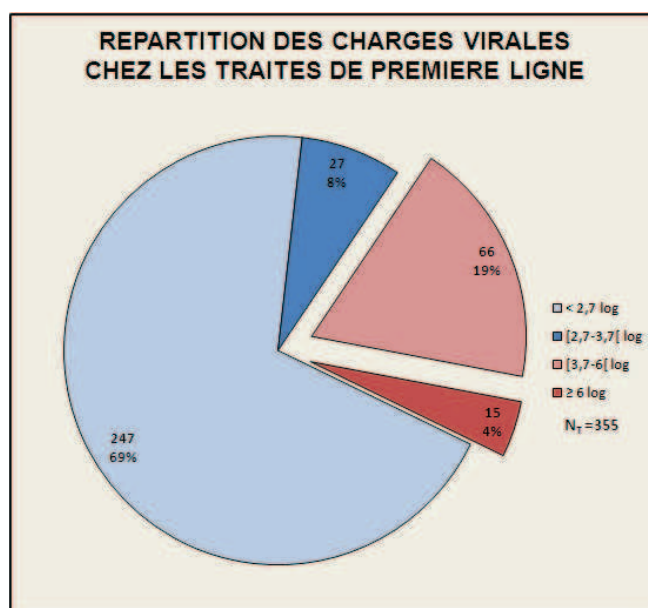


Figure 43 : Répartition des valeurs de charge virale par tranche.

Les données virologiques collectées chez les 355 patients traités par une association de première ligne, montrent que près de 70% des patients ont une charge virale indétectable lors de leur dernier examen, et que 77% d'entre eux ont une charge virale inférieure au seuil d'échec virologique défini par l'OMS soit 3,7 log/mL ou 5 000 cp/mL.

Echec virologique au seuil de 3,7 log/mL (seuil OMS d'échec virologique)

On constate que 81 patients soit 23% des traités de première ligne, ont une dernière charge virale supérieure à 3,7 log/mL. Parmi ces 81 patients, 54 ont leurs deux dernières charges virales supérieures à 3,7 log/mL. En rapportant ces 54 patients à l'ensemble des traités de premières ligne, on peut estimer à environ 15% (54/355) le taux d'échec virologique dans cette population selon les critères OMS.

Echec virologique au seuil de 2,7 log/mL (limite de quantification de la technique)

Au seuil de quantification, 108 patients soit 30 % des traités de première ligne, ont une dernière charge virale détectable. Parmi ces 108 patients, 61 ont deux antécédents successives de charge virale détectable. En rapportant ces 61 patients à l'ensemble des traités de première ligne, on peut estimer à environ 17% (61/355) le taux d'échec virologique dans cette population par rapport aux limites de la technique.

b) Les patients bénéficiant d'un traitement de deuxième ligne

46 enfants reçoivent un traitement de deuxième ligne. L'âge médian est de 10 ans et le sexe ratio est de 1,3. Ce groupe représente 11 % de l'ensemble des enfants traités. La figure 44 ci-dessous répertorie les traitements utilisés en deuxième ligne.

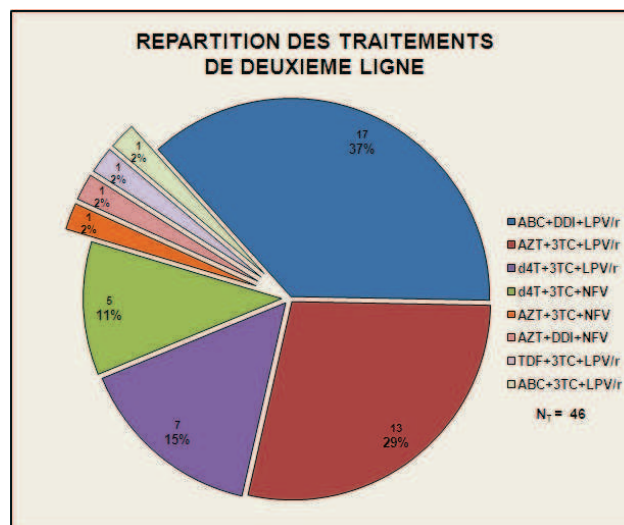


Figure 44 : Trithérapies utilisées dans les thérapies de deuxième ligne.

On remarque que les trois associations majeures regroupant 81% des traitements de deuxième ligne, sont [ABC+DDI+LPV/r] (37%) , [AZT+3TC+LPV/r] (29%), [d4T+3TC+LPV/r] (15%). Les associations contenant du LPV/r sont représentées à hauteur de 85% de l'ensemble de ces thérapies.

➤ **les données immunologiques**

La figure 45 étudie la répartition des valeurs de numérations de CD4.

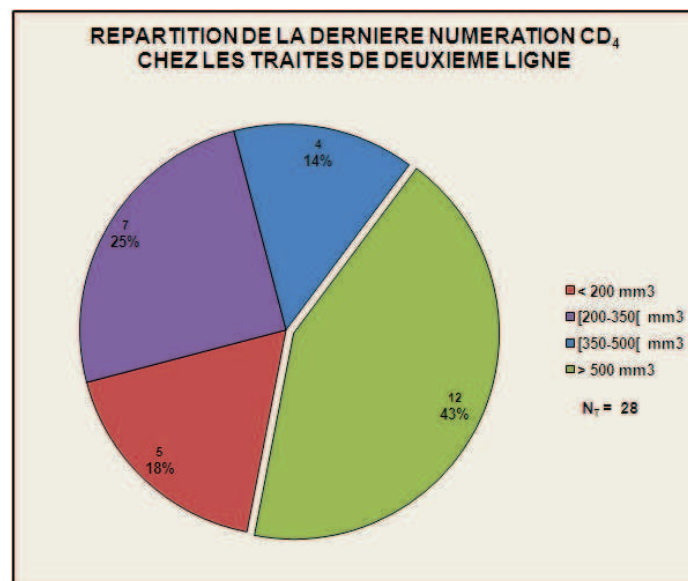


Figure 45 : Répartition des CD4 chez les traités de deuxième ligne.

Comme dans ce groupe, la majorité des enfants ayant bénéficié d'une numération CD4 sont âgés de plus de 5 ans [90%], nous avons étudié leur répartition en mm^{-3} . On note que plus de la moitié des enfants ont une dernière numération de CD4 inférieure à 500 / mm^3 . Les patients fortement immunodéprimés (<200 / mm^3) représentent 18% des enfants du groupe.

➤ **les données virologiques**

Sur la figure 46, les valeurs des dernières charges virales observées chez les patients de deuxième ligne sont classées par groupe.

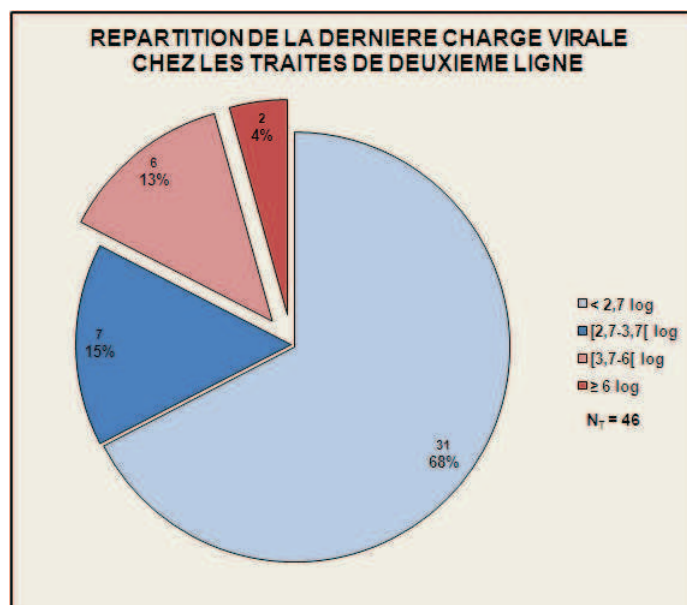


Figure 46 : Répartition des valeurs de charges virales observées chez les traités de deuxième ligne.

Les données virologiques chez les 46 patients traités par une association de deuxième ligne montrent que 68% des patients ont une charge virale indétectable lors de leur dernier examen. 83 % d'entre eux ont une charge virale inférieure au seuil d'échec virologique défini par l'OMS, soit 3,7 log/mL.

Echec virologique au seuil de 3,7 log/mL (seuil OMS d'échec virologique)

8 patients avaient une charge virale supérieure à 3,7 log/mL et 3 d'entre eux ont leurs deux dernières charges virales supérieures à 3,7 log/mL. En rapportant ces 3 patients à l'ensemble des traités de deuxième ligne, on peut estimer à environ 7% (3/46) le taux d'échec virologique dans cette population selon les critères OMS.

Echec virologique au seuil de 2,7 log/mL (limite de quantification de la technique)

15 patients avaient une charge virale au seuil de quantification de la technique soit 2,7 log/mL. 5 patients avaient leurs deux dernières charges virales supérieures à cette limite. Par conséquent, en rapportant ces 5 patients à l'ensemble des traités de deuxième ligne, on peut estimer à environ 11% (5/46) le taux d'échec virologique par rapport aux limites de la technique.

c) Les patients bénéficiant de traitements atypiques

Nous avons répertorié 24 patients dans cette population. L'âge médian y est de 11 ans. Afin d'évaluer au mieux les traitements utilisés dans cette classe, nous les avons regroupés par catégorie comme le montre la table 7 et la figure 47.

Table 7 : Différentes associations utilisées dans les traitements atypiques.

QUADRITHERAPIE	2 INTI + 1 INNT	3 INTI	1 INTI + 1 INNTI + 1IP	BITHERAPIE
<ul style="list-style-type: none"> ▪ d4T+3TC+LPV/r+NFV ▪ AZT+d4T+3TC+NVP ▪ AZT+3TC+EFV+NFV ▪ AZT+3TC+DDI+EFV ▪ ABC+DDI+LPV/r+EFV 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ AZT+d4T+EFV ▪ AZT+d4T+NVP ▪ ABC+DDI+NVP ▪ ABC+3TC+EFV 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ ABC+DDI+TDF ▪ AZT+3TC+ABC ▪ AZT+d4T+3TC ▪ d4T+3TC+DDI 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 3TC+NVP+LPV/r 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ 3TC+LPV/r ▪ ABC+DDI ▪ DDI+LPV/r ▪ ABC+LPV/r

La répartition des classes de traitement mentionnées dans la table 7 est exposée dans la figure ci-dessous.

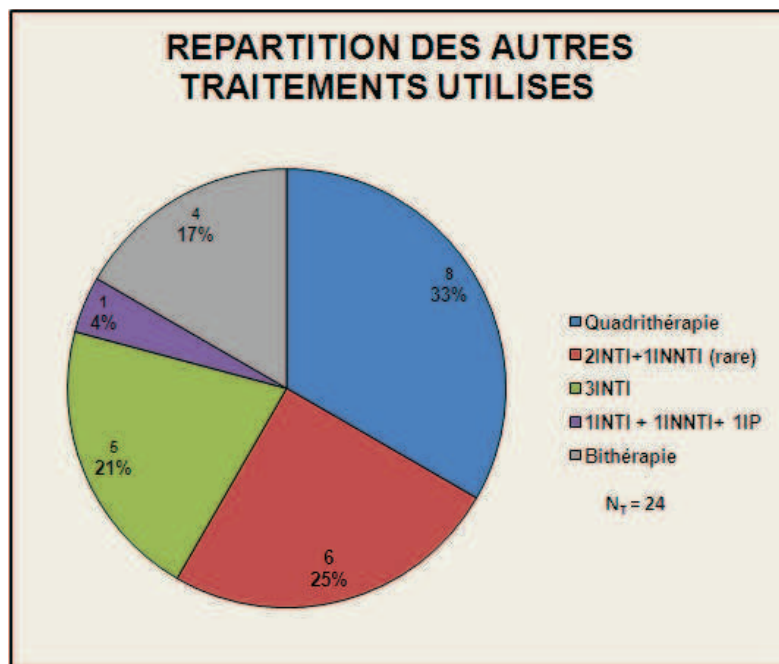


Figure 47 : Répartition des traitements atypiques par groupe de thérapie.

La quadrithérapie représente 33% des thérapeutiques de cette population. Le groupe des 3INTI représentent 21% des traitements et les bithérapies 17% des traitements.

➤ les données immunologiques

La figure 48 expose la répartition des taux de CD4, chez les patients recevant un traitement atypique.

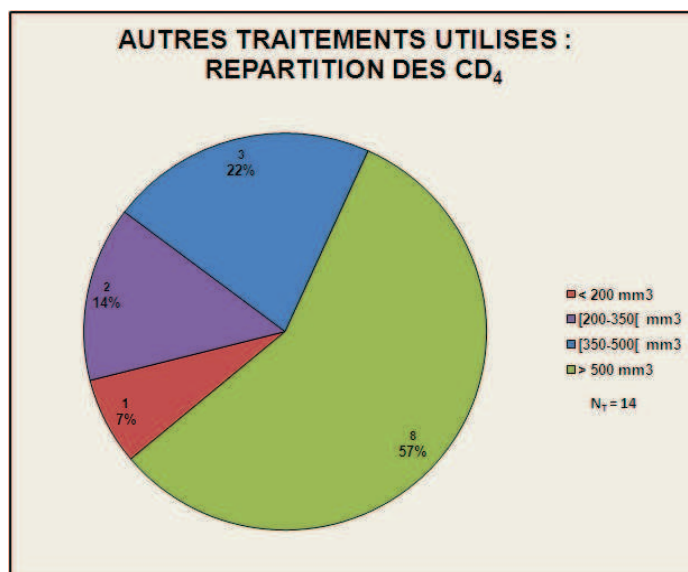


Figure 48 : Répartition des CD4 chez patients classés dans la catégorie traitements atypiques.

On constate que 43% des patients ont une dernière valeur de CD4 inférieure à 500 mm³ et un seul patient était fortement immunodéprimé avec une valeur de CD4 inférieure à 200 mm³.

➤ les données virologiques

Les valeurs des dernières charges virales observées chez les patients de ce groupe (n=24) sont classées dans la figure 49.

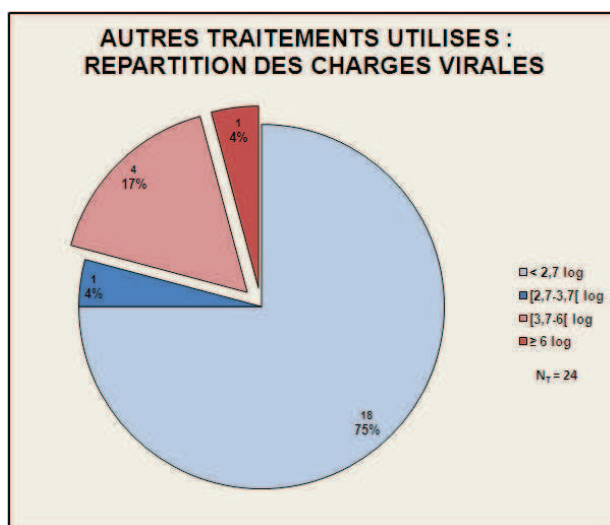


Figure 49 : Répartition des valeurs de la dernière charge virale dans le groupe des traitements atypiques.

18 patients sur 24 (75%) ont leur dernière charge virale indétectable. 5 patients ont une charge virale supérieure à 3,7 log/mL.

Echec virologique au seuil de 3,7 log/mL (seuil OMS d'échec virologique)

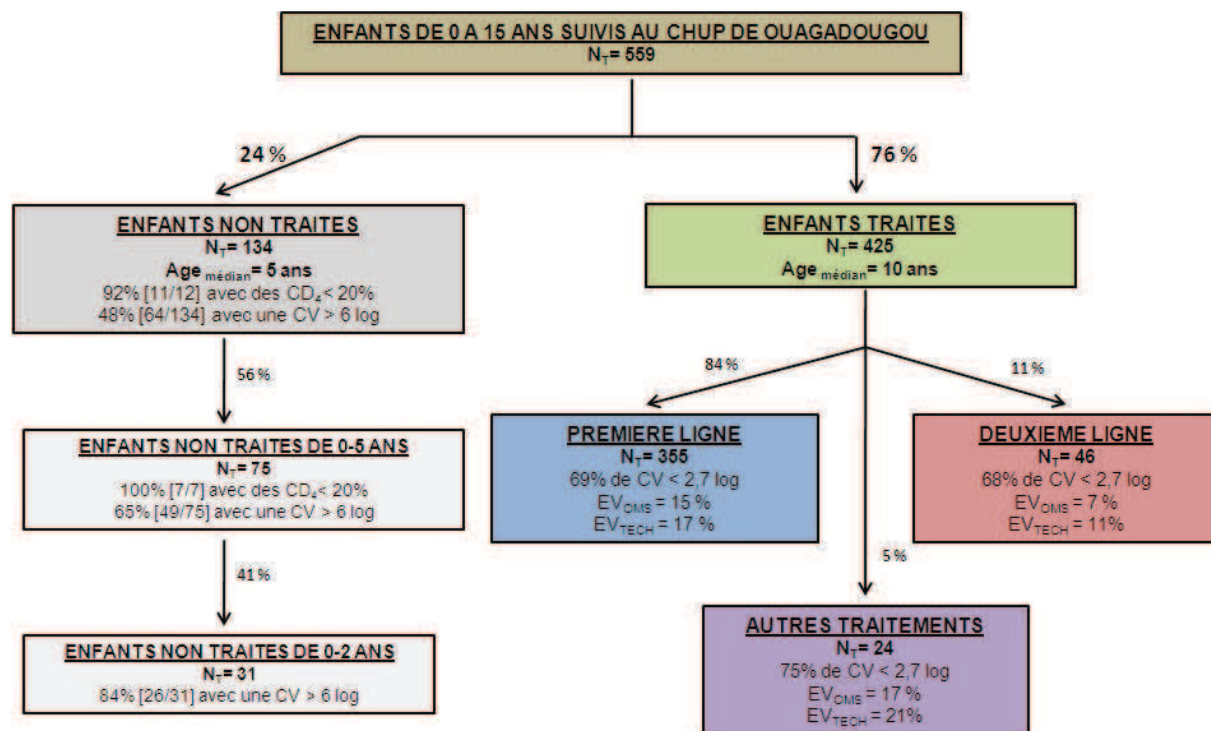
5 patients avaient donc une charge virale supérieure à 3,7 log/mL et 4 d'entre eux ont leurs deux dernières charges virales supérieures à 3,7 log/mL. En rapportant ces 4 patients à l'ensemble des traités de ce groupe, on peut estimer à environ 17% le taux d'échec virologique dans cette population selon les critères OMS.

Echec virologique au seuil de 2,7 log/mL (limite de quantification de la technique)

6 patients avaient une charge virale au seuil de quantification de la technique soit 2,7 log/mL. 5 patients avaient leurs deux dernières charge virales supérieures à cette limite. Par conséquent, en rapportant ces 5 patients à l'ensemble des traités de ce groupe, on peut estimer à environ 21% le taux d'échec virologique par rapport aux limites de la technique.

3-Ensemble des données des enfants suivis

L'ensemble des observations présentées jusqu'alors est représenté dans la figure 50.



EV_{OMS} : Echec virologique selon les critères OMS
EV_{TECH} : Echec virologique au seuil de quantification de la technique

Figure 50 : Récapitulatif de l'ensemble des enfants suivis entre 2005 et 2011 au CHUP-CDG.

C-PATIENTS AYANT BENEFICIE D'UN GENOTYPAGE DE RESISTANCE

1-Etude de la diversité virale

Parmi les 41 patients ayant bénéficié d'un test de résistance au sein de la cohorte pédiatrique, nous avons pu déterminer le sous-type viral de 37 d'entre eux, après l'étude des séquences de la TI et de la PR.

La proportion de ces sous-types viraux de VIH-1 est décrite dans la figure 51.

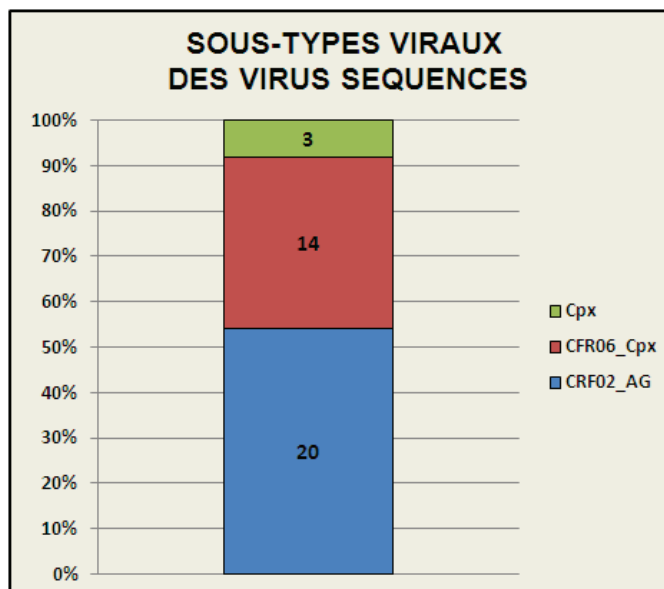


Figure 51 : Répartition des sous-types viraux étudiés dans la cohorte pédiatrique du CHUP-CDG.

Les résultats des séquençages effectués retrouvent 20 CRF02_AG, 14 CRF06_cpx, et 3CRF_cpx. Les CRF02 et CRF06 représentent ensemble près de 92% des sous-types viraux observés.

2-Les patients naïfs de traitement

Les caractéristiques immuno-virologiques de cet échantillon sont représentatives des caractéristiques immuno-virologiques de l'ensemble de la population non traitée, avec une immunodépression marquée et des charges virales élevées.

Pour déterminer les mutations impliquées dans la résistance aux INTI, INNTI et aux IP, nous nous sommes basés sur l'algorithme de l'ANRS version 2011 disponible en annexe.

Prévalence des mutations impliquées dans la résistance aux INTI

Aucune mutation associée à la résistance aux INTI n'a été trouvée parmi les 21 gènes de TI séquencés.

Prévalence des mutations impliquées dans la résistance aux INNTI

Une mutation impliquée dans la résistance aux INNTI a été retrouvée dans les séquences de TI de 3 patients : 2 V179I et 1 V106I.

Prévalence des mutations causant une résistance aux IP



Figure 52 : Prévalence des mutations observées sur le gène de la protéase.

Aucune mutation majeure aux IP n'a été trouvée. Des mutations de polymorphisme ont été fréquemment observées compte tenu des sous-types des virus étudiés. Les mutations K20I/R, M36I et H69K ont été trouvées dans 100% des séquences. La mutation L89M a été trouvée dans 90% des séquences. Les mutations G16E et L63P ont été trouvées dans près de 30% des séquences ($n_{L63P}=6$ et $n_{G16E}=7$). 5 mutations en position L10I et 4 mutations I15V ont été observées.

3-Les patients traités

Les séquences de 20 patients traités en situation d'échec virologique étaient disponibles entre 2005 et 2011. L'âge médian de ces patients était de 4 ans. 19 patients étaient des traités de première ligne, 1 patient recevait un traitement de deuxième ligne. La répartition des traitements de ces patients est représentée dans la figure 53.

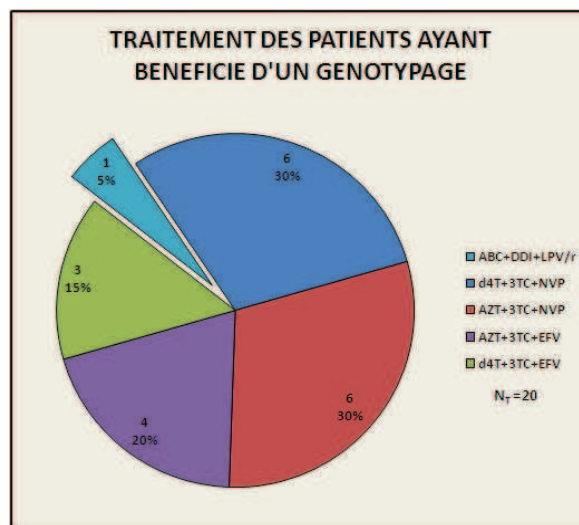


Figure 53 : Répartition des molécules utilisées chez les patients traités en échec virologique.

La situation immuno-virologique des patients au moment du séquençage est représentée sur la figure 54.

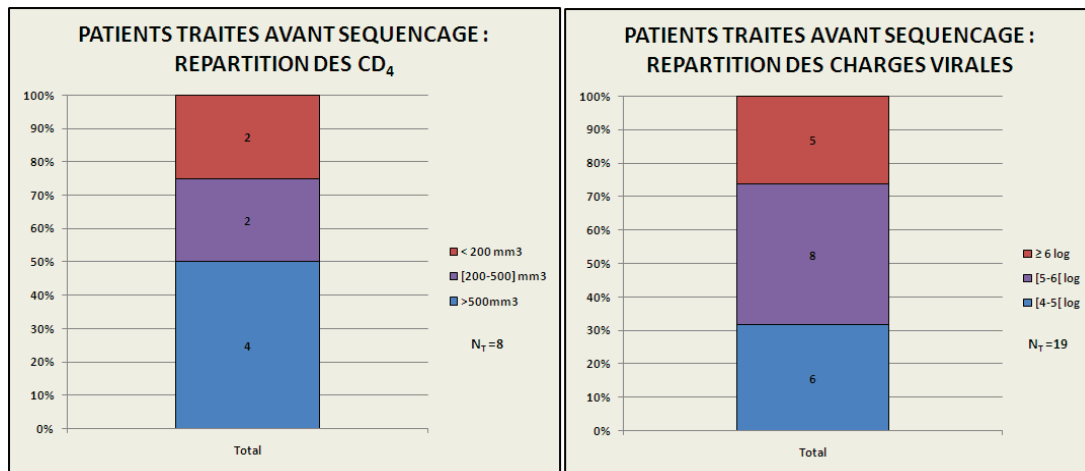


Figure 54 : Etat immuno-virologique des patients traités dont les virus ont été génotypés.

Chez les enfants ayant bénéficié d'une numération de CD4 (n=8), on constate que la moitié d'entre eux avaient un taux de CD4 inférieure à 500 mm³. Nous n'avons pas pu étudier le taux de CD4 en pourcentage en raison de l'absence de données. 70% des charges virales disponibles (n=19) étaient supérieures à 5 log.

a) Mutations associées à la résistance aux INTI

La figure 55 représente le nombre de séquences de patients possédant des mutations de résistance aux INTI. Les mutations de types TAM's sont représentées en rouge tandis que les mutations d'exclusion sont représentées en bleu.

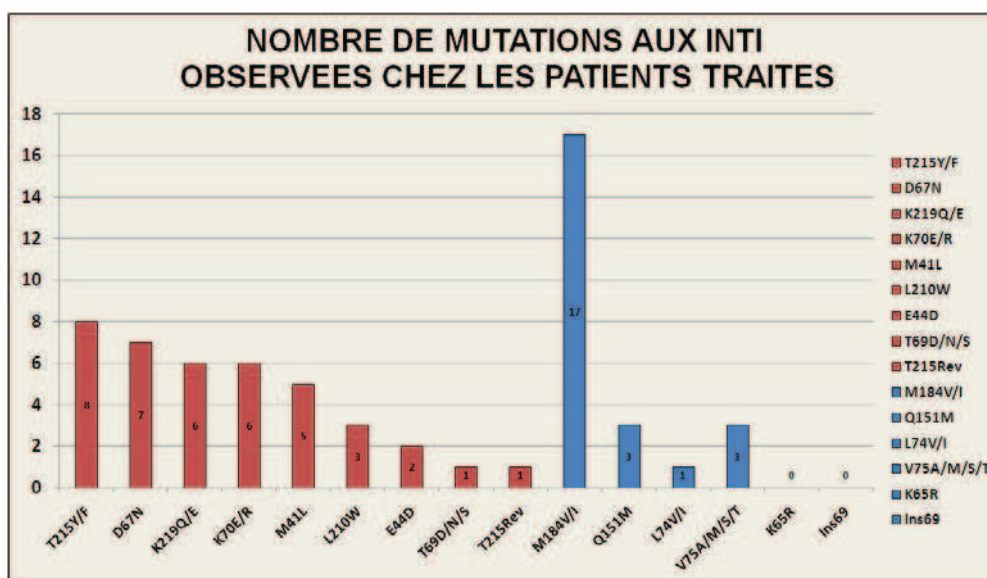


Figure 55 : Effectif des mutations de résistance aux INTI chez les traités.

On remarque que la mutation M184V est présente dans 85% des cas (17/20). La mutation principale des TAM's, la T215Y/F, est trouvée dans 40% des séquences (n=8). 12 patients présentent au moins une TAM's et le nombre moyen de TAM's trouvées chez ces 12 patients est de 3,1. La mutation de polyrésistance aux INTI, la Q151M, est trouvée chez 3 patients soit 15% (3/20) du groupe.

Le profil de résistance aux INTI, interprété avec l'algorithme ANRS 2011, est représenté dans la figure 56.

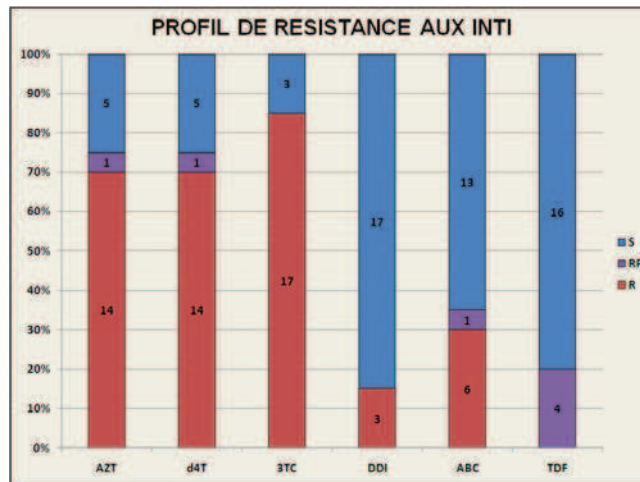


Figure 56 : Profil de résistance aux INTI des enfants traités.

La résistance au 3TC est présente dans 85% (17/20) des cas. La résistance à l'AZT et à la d4T sont observées dans 70% (14/20) des cas. Les molécules conservant le plus fréquemment leur sensibilité sont la DDI et le TDF dans respectivement 85% (17/20) et 80% (16/20) des cas.

b) Mutations associées à la résistance aux INNTI

La figure 57 répertorie le nombre de mutations associées à la résistance aux INNTI.

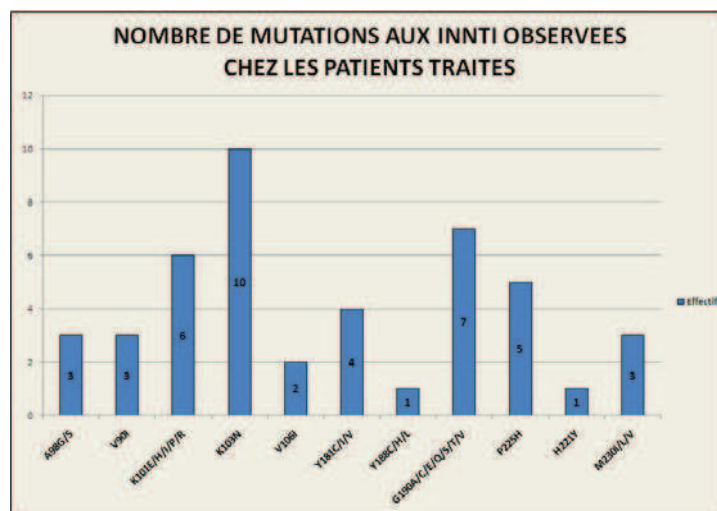


Figure 57 : Effectif des mutations de résistance aux INNTI chez les traités.

La K103N est la mutation la plus représentée avec une prévalence de 50% (10/20). Suivent ensuite en terme de fréquence les mutations K101E/H/I/P/R, et G190A/C/E/Q/S/T/V avec des prévalences respectives de 30% (6/20) et de 35%(7/20).

Le profil de résistance aux INTI est représenté dans la figure 58.

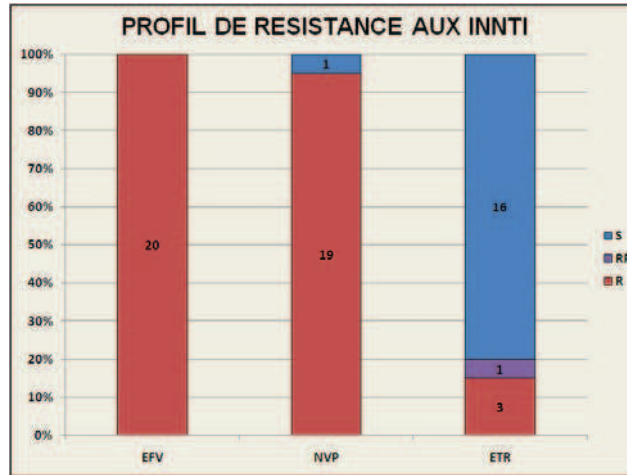


Figure 58 : Profil de résistance aux INNTI des enfants traités.

La résistance à l'EFV est présente dans 100% (20/20) des cas et celle à la NVP dans 95% (19/20) des cas. Les souches présentant une résistance à l'ETR sont au nombre de 4 soit 20% des virus.

c) Mutations associées à la résistance aux IP

La figure 59 montre le nombre de mutations associées à la résistance aux IP. Les mutations majeures sont représentées en rouge, les mutations hautement polymorphiques sont représentées en violet, et les mutations mineures, atypiques ou faiblement polymorphiques sont représentées en bleu.

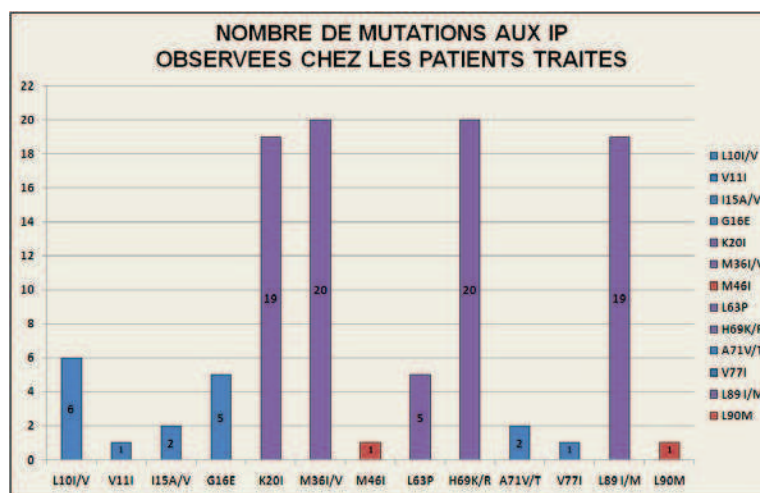


Figure 59 : Effectif des mutations pouvant être impliquées dans la résistance aux IP.

Les mutations les plus fréquemment retrouvées sont : la M36I/V et la H69K/R dans 100% (20/20) des cas et la K20I et la L89I/M dans 95% (19/20) des cas. Les deux mutations majeures M46I et L90M n'ont été retrouvées qu'une fois et ce chez le même patient.

Le profil de résistance aux IP est représenté dans la figure 60.

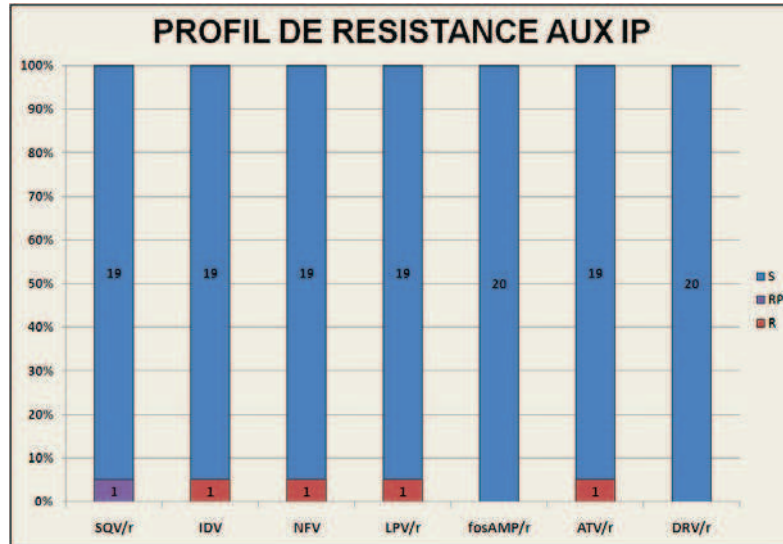


Figure 60 : Profil de résistance aux IP.

Un seul profil de résistance est observé parmi les 20 souches virales présentes : cette résistance impacte sur la sensibilité au LPV/r, NFV, IDV et ATV/r. La sensibilité générale des IP est conservée dans au moins 95% des cas.

IV DISCUSSION

La prévalence de l'infection par le VIH au Burkina Faso diminue de manière régulière depuis de nombreuses années. Estimée par l'OMS à 7,17% en 1997, à 2,3% en 2005, elle serait de 1,2% en 2009. Cette prévalence de 1,2% correspond à environ 110000 personnes vivant avec le VIH, dont 70000 femmes et 17000 enfants [62].

L'objectif de ce travail est de décrire les aspects épidémiologiques, thérapeutiques, et immuno-virologiques des enfants suivis au CHUP-CDG de Ouagadougou. La description des caractéristiques de la population pédiatrique infectée, dans son ensemble, est un préalable nécessaire à la description des enfants en situation d'échec virologique dont les virus peuvent présenter des mutations de résistance aux ARV.

Les données rétrospectives de ce travail ont été colligées sur plusieurs bases de données différentes, rendant parfois difficile l'exhaustivité des informations biologiques et thérapeutiques des patients. L'analyse de la base de données présente également une limite, dans la mesure où nous avons considéré uniquement les dernières données immuno-virologiques renseignées pour chaque patient. Or, les données de certains patients peuvent dater d'années précédant 2011.

Grâce à la collaboration et à l'échange de données avec le CHUP-CDG, nous avons cependant pu décrire les caractéristiques thérapeutiques et immuno-virologiques de 559 patients suivis entre 2005 et 2011.

La répartition des patients en fonction de l'âge et du sexe est homogène (sex ratio H/F = 1,1). Concernant l'évolution du nombre moyen d'examen immuno-virologiques réalisés par patient, il existe une augmentation significative de ce nombre avec l'âge : cette augmentation traduit le fait que la prise en charge et le suivi thérapeutique des patients diagnostiqués sont continus et montre l'adhésion des patients au processus de prise en charge. De plus, on remarque que le nombre de charges virales réalisées est significativement plus important que le nombre de numérations de CD4 effectuées : ceci montre que l'examen virologique est privilégié par rapport à l'examen immunologique pour le suivi des malades. Ces résultats diffèrent des recommandations OMS pour le suivi biologique des enfants infectés. Cependant, plusieurs études rapportent une faible sensibilité et un manque de spécificité de l'évaluation immuno-clinique pour l'appréciation de l'échec virologique par rapport à la quantification de la charge virale [63, 64]. Cette mauvaise appréciation peut entraîner un retard dans la modification du traitement, favorisant la sélection de souches

résistantes du virus. Elle risque aussi d'entraîner à l'inverse des changements thérapeutiques chez des patients ayant une charge virale indétectable, engendrant par la même un surcoût des traitements. Au vue de nos résultats, l'attitude adoptée au CHUP-CDG semble privilégier l'examen virologique pour le suivi biologique des malades, ce qui est bénéfique pour leur prise en charge.

Les patients non traités

Parmi les enfants infectés suivis au CHUP-CDG, près de 25% (n=134) d'entre eux ne sont pas traités par TAR. Plus de la moitié de ces enfants non traités (56%) sont âgés de 0 à 5 ans.

D'un point de vue immunologique, nous avons souhaité étudier, conformément aux recommandations, la répartition des derniers CD4 en % chez ces enfants dont la médiane d'âge est de 5 ans. Bien que ces numérations ne soient documentées que chez 12 patients (9%), il en ressort qu'un taux de CD4 inférieur à 15% est observé pour 75% des patients traduisant ainsi la profonde immunodépression au moment de la réalisation de ce test. La moyenne observée de ce taux était de 9,6% dans notre étude. En faisant l'hypothèse que ces numérations correspondent au début de la prise en charge, nous observons que l'état immunitaire dégradé des patients est comparable à celui d'enfants naïfs décrits dans des cohortes provenant de nombreux autres pays à ressources limitées. Ainsi, dans une méta-analyse portant sur les données de cohortes d'enfants de pays à ressources limitées [65], le taux moyen de CD4 des 5928 enfants naïfs de traitement inclus, était de 8,1%, corroborant ainsi les données de notre étude. La très grande majorité des taux moyens de CD4 observés dans chacune des 12 cohortes étudiées par cette méta-analyse, était inférieure à 15%.

D'un point de vue virologique, on observe que près de 83% des patients non traités ont des valeurs de charge virale supérieures à 5 log/mL. Des valeurs fortes de charges virales sont également observées dans cette même méta-analyse [65] où les charges virales moyennes des enfants naïfs de traitement étaient toutes supérieures à 5 log/mL. De plus, nous observons que l'âge moyen de 3,7 ans des enfants ayant une charge virale supérieure à 6 log/mL est significativement plus bas que celui des enfants ayant une charge virale inférieure, et comprise entre 4,7 et 6 log/mL (âge moyen = 6,9 ans).

Cette observation nous a incité à étudier plus spécifiquement les caractéristiques immuno-virologiques des enfants non traités de 0 à 5 ans.

Les patients non traités âgés de 0 à 5 ans

L'état immunitaire des enfants non traités âgés de 0 à 5 ans est très similaire à celui de l'ensemble des non traités : 100% des enfants ont ainsi un taux de CD4 inférieur à 20% et 86% un taux inférieur à 15%.

C'est en étudiant le niveau des charges virales chez ces patients que l'on constate des différences. Si l'on considère tout d'abord la part des charges virales supérieures à 6 log/mL, nous montrons dans les figures 37 et 38 qu'elle représente une part plus importante dans le groupe des 0 à 5 ans que pour l'ensemble des non traités (65% contre 48%). Si l'on considère ensuite l'âge moyen des enfants en fonction de la valeur de la charge virale (figure 38), on constate que les enfants présentant une charge virale supérieure à 6 log/mL sont significativement plus jeunes (âge moyen = 2 ans) que les enfants présentant une charge virale plus basse. Le système immunitaire immature des très jeunes enfants contient difficilement l'infection virale, ce qui explique que de fortes valeurs de charges virales soient observées chez ces derniers [66, 67]. En grandissant, ces valeurs ont tendance à diminuer chez les enfants plus âgés, au fur et à mesure que le système immunitaire gagne en maturité. Considérant également que la réponse du système immunitaire face à l'infection serait conditionnée en partie par le moment de la transmission mère-enfant (*in utero/per partum/post partum*) [68], cet écart peut peut-être également s'expliquer par des profils d'enfant contaminés à des moments différents. Chez des enfants infectés, un retard de consultation et/ou de diagnostic explique également une détérioration rapide du système immunitaire ainsi que la forte charge virale associée.

Les patients traités

Parmi les 559 enfants suivis, 425 enfants reçoivent un TAR ce qui représente près de 75% de l'ensemble de la population. Comme le montre la figure 40, on remarque que la proportion d'enfants traités augmente de manière conséquente entre les différentes tranches d'âge, passant de près de 60% entre 0 et 5 ans, à plus de 90% entre 11 et 15 ans.

Les patients traités par une première ligne

Les patients recevant un traitement de première ligne représentent 84% des enfants traités. Chez les enfants âgés de 0 à 3 ans, le traitement majoritairement utilisé est l'association [d4T+3TC+NVP] avec près de 65% des traitements. L'utilisation de cette association va décroître de manière importante avec l'âge pour ne représenter qu'un peu plus de 10% des traitements entre 10 et 15 ans. L'utilisation de NVP est très largement majoritaire

entre 0 et 3 ans avec une présence dans plus de 90% des associations utilisées (figure 41). Ceci s'explique par le fait que l'EFV n'est utilisable chez l'enfant qu'à partir de 3 ans, et que l'utilisation de l'IP en première intention n'est pas recommandée, sauf en cas d'exposition à la NVP lors de la prévention de la transmission de l'infection VIH de la mère à l'enfant. Toujours chez ces enfants âgés de 0 à 3 ans, on remarque que les associations à base de d4T sont majoritaires et représentent 65% des cas d'utilisation. Dans une étude rétrospective menée au CHUP-CDG entre janvier 2003 et juin 2006 [69], on note que près de 75% des enfants suivis au CHUP-CDG pour une infection VIH étaient anémiés au début de leur prise en charge. Cette anémie peut s'expliquer par de nombreuses causes : paludisme, hémoglobinopathies, déficits enzymatiques, dénutrition. C'est pourquoi, les associations contenant de l'AZT sont faiblement utilisées à cet âge pour ne pas ajouter aux autres causes de l'anémie, les effets myélotoxiques et anémiant de l'AZT. Enfin, l'existence d'une co-formulation regroupant la d4T, le 3TC et la NVP dans les comprimés de Triomune[®], peut expliquer une utilisation préférentielle de ces molécules dans le but d'améliorer l'observance thérapeutique chez des enfants âgés de 3 à 9 ans au moment de l'initiation du traitement.

Chez les enfants âgés de 10 à 15 ans, le traitement le plus utilisé est l'association [AZT+3TC+EFV] qui représente près de 54% des associations. Dans ce groupe d'âge, on remarque la large utilisation de l'AZT et de l'EFV qui sont présents dans près de 70% des associations prescrites. Le remplacement de la d4T par l'AZT peut s'expliquer par le fait qu'une fois l'anémie corrigée, les cliniciens préfèrent réduire les effets secondaires de la d4T, tels que les lypodystrophies pour améliorer l'observance et le confort de vie des patients. Ceci correspond en tous points aux recommandations OMS actuelles.

Comme attendu, l'état immunologique des patients traités par une première ligne est meilleur que celui des patients non traités (figures 36 et 42). En effet, la proportion d'enfant ayant un taux de CD4 inférieur à 20% passe de 94% (11/12) chez les non traités à 55% (17/31) chez les traités de première ligne. Le gain moyen de CD4 (ou Δ CD4%) entre ces deux populations, estimé à 14,1% (9,5% \rightarrow 23,6%), témoigne aussi de l'amélioration de l'état immunologique des enfants traités. La méta-analyse de Ciaranello et al. [65] a étudié le gain moyen de CD4 de 1839 enfants, entre le moment de l'initiation du TAR et après 12 mois de traitement : le gain moyen Δ CD4 (%) est estimé à 13,7%. Ces valeurs sont comparables avec les valeurs trouvées dans notre étude. Cependant la méta-analyse présente des données issues d'un suivi longitudinal de patients contrairement à nos données étudiées rétrospectivement.

Concernant les données virologiques, la dernière charge virale des patients était indétectable dans 69% des cas (247/355), au seuil de 2,7 log/mL. Comme pour les données

immunologiques, nos données concordent également avec celles observées dans d'autres études similaires. Chez les 1097 enfants ayant bénéficié d'un suivi virologique dans la méta-analyse de Ciaranello et al. [65], le taux de suppression virologique 12 mois après l'initiation d'un traitement de première ligne était de 70%, au seuil à 2,6 log/mL. Dans notre étude le seuil technique appliqué pour la définition de l'échec virologique, ne semble pas avoir eu d'impact sur la proportion d'enfants concernés par cet échec (15% pour un seuil à 3,7 log/mL contre 17% pour un seuil à 2,7 log/mL).

Les patients traités par une deuxième ligne

Une faible proportion de patients (n=46) reçoit un traitement de deuxième ligne soit 11% des enfants traités du CHUP-CDG. Lors de l'atelier de programmation ESTHER pour le plan VIH 2013-2015, l'évaluation provenant du logiciel ESOPE, qui permet de suivre les différentes cohortes d'ESTHER, rapporte un taux de 7,7% de patients traités en deuxième ligne pour le CHUP-CDG. Sur son site internet, ESTHER [62] affiche une proportion d'enfants en deuxième ligne thérapeutique de 7,4%, pour l'ensemble du Burkina Faso. Notre évaluation du nombre de patients traités de deuxième ligne est légèrement supérieure aux proportions données par ESOPE pour le CHUP-CDG et ESTHER pour l'ensemble du Burkina Faso. Cet écart s'explique par deux biais introduits lors de l'exploitation de la base de données. Le premier biais est dû aux patients ayant été exposés à la NVP pour la prévention de la transmission materno-fœtale et qui reçoivent comme traitement de première ligne une trithérapie à base d'IP. Lors de l'exploitation de la base nous les avons classés comme patients traités de deuxième ligne, les IP n'étant généralement pas accessibles en première intention. Le second biais provient probablement de quelques patients d'autres centres qui viennent effectuer leur suivi virologique au CHUP-CDG, lorsque les moyens techniques de leur hôpital ne le permettent pas.

Comme le montre la figure 44, les trithérapies à base de LPV/r représentent 85% des traitements utilisés en deuxième ligne. Cette forte prévalence du LPV/r dans les traitements est en accord avec les recommandations OMS pour le suivi et la prise en charge des enfants infectés par le VIH [53]. L'association [ABC+DDI+LPV/r] est la combinaison préférentiellement utilisée.

Sur les figures 42 et 45, les patients fortement immunodéprimés représentent 18% des traités de deuxième ligne contre 8% pour les traités de première ligne. La proportion de patients ayant des CD4 supérieurs à 500/mm³ (objectif immunologique) est de 43% pour les traités deuxième ligne contre 69% pour les traités de première ligne : ces différences

pourraient s'expliquer par l'échec immuno-virologique précédant le passage à la deuxième ligne.

Les données virologiques pour les traités de deuxième ligne sont encourageantes. En effet, près de 68% des patients de ce groupe sont en situation de suppression virologique pour leur dernière charge virale. Ce taux est très proche de celui trouvé à la suite d'un traitement de première ligne (69%) dans cette même cohorte. Concernant les patients en échec virologique, nous constatons que, quel que soit le seuil virologique utilisé (seuil OMS ou seuil de quantification), nous obtenons un taux d'échec virologique proche : 7% pour le seuil OMS et 11% pour le seuil de quantification. Ces taux d'échec virologique semblent plus faibles en deuxième ligne qu'en première ligne, probablement en raison de l'utilisation du LPV/r dont la puissance et la barrière génétique sont élevées.

Etude de la diversité virale

Concernant la diversité génétique de ces virus, on montre que près de 92% des sous-types analysés sont des CRF02_AG (54%) et des CRF06_Cpx (38%). Une étude portant sur l'analyse de 46 échantillons de patients suivis au centre Muraz de Bobo-Dioulasso, deuxième plus grande ville du Burkina Faso, conforte nos résultats avec près de 93% de CRF02 et de CRF06 [70]. Une deuxième étude menée sur les échantillons de 104 patients suivis au CHU de Yalgado à Ouagadougou, retrouve une répartition similaire des sous types viraux avec 85% de sous-types CRF06_Cpx ou CRF02_AG [71].

Les patients naïfs de traitement avant bénéficié d'un génotypage

En ce qui concerne la prévalence des mutations observées sur le gène de la TI, on note qu'aucune mutation associée à la résistance aux INTI n'est présente sur les 21 séquences analysées. Pour la résistance aux INNTI, 2 mutations isolées la V179I (n=2) et la V106I (n=1), toutes deux impliquées dans la résistance à l'étravirine, sont observées chez trois patients. Ces mutations seraient plus le reflet d'un polymorphisme viral que d'une transmission materno-fœtale de mutant résistant. En effet, aucune autre mutation pourvoyeuse de résistance aux INTI et/ou aux INNTI n'a été retrouvée en dépit des fortes prévalences que peuvent atteindre certaines d'entre elles chez des patients traités (M184V, K103N, TAM's). De plus, ces mutations sont rapportées comme "polymorphisme commun" sur le site de l'université de Stanford [22].

En ce qui concerne la prévalence des mutations observées sur le gène de la PR, la prévalence des mutations K20I/R, M36I, H69K et L89M est de 100%. Ces mutations de la PR

se situent sur des positions hautement polymorphiques : en effet, elles sont souvent absentes chez les virus de sous-types B naïfs de traitement, et présentes chez la quasi-totalité des virus de sous-types non-B naïfs de traitement comme le montre la figure 61.

	POSITION 20	POSITION 36	POSITION 69	POSITION 89
SOUS-TYPE B	K98%	M84%	H94%	L98%
SOUS-TYPE C	K82%	I85%	K99%	M83%
SOUS-TYPE A	K81%	I98%	K97%	M98%
CRF02	I98%	I98%	K97%	M95%
CRF01	K84%	I99%	K98%	M97%

Figure 61 : Prévalence des acides aminés majoritaires sur le gène de la PR en fonction des sous-types viraux de patients naïfs (adapté d'après le site de l'université de Stanford [72])

Les patients sous traitement ayant bénéficié d'un géotypage

Parmi les 20 enfants que nous avons étudiés, 19 d'entre eux recevaient un traitement de première ligne et un seul recevait un traitement de deuxième ligne. Leur état immunologique au moment du séquençage est hétérogène : en effet la moitié d'entre eux ont une numération de CD4 inférieure à 500/mm³. Du côté virologique, on observe une multiplication virale intense chez la majorité des enfants : près de 70% des enfants ont une charge virale supérieure à 5 log/mL. Les virus séquencés présentent au moins une mutation de résistance aux ARV dans 100% des cas. Dans l'étude de Sigaloff et al. [73], étudiant la prévalence des mutations de résistance chez plus de 1000 enfants de pays à ressources limitées en situation d'échec virologique, on observe que près de 90% des enfants possèdent au moins une mutation de résistance aux ARV.

En ce qui concerne les mutations pourvoyeuses de résistances aux INTI décrites en figure 56, la mutation M184I/V, trouvée chez 85% des souches étudiées, est la mutation la plus prévalente. L'article de Sigaloff et al. [73] constate également cette prédominance de la M184V chez 63% (587/934) des enfants en situation d'échec virologique. Cette forte prévalence de la M184V s'explique par la fréquente utilisation du 3TC dans les associations antirétrovirales prescrites. Malgré la résistance qu'elle procure au 3TC et au FTC, les virus porteurs des mutations M184I/V se multiplient moins bien (*fitness diminué*) que les virus sauvages. De plus, ces virus mutés seraient beaucoup plus sensibles à l'action du TDF et de l'AZT. Ainsi dans ses lignes directrices [53], l'OMS recommande de poursuivre l'utilisation

du 3TC dans les schémas thérapeutiques de deuxième intention malgré la présence probable d'une M184V plutôt que de la remplacer par la DDI. Notre étude montre une relative adéquation avec ces recommandations, en effet on note que la 3TC est associée aux IP dans 61% des traitements de deuxième ligne contre 39% pour la DDI.

Du fait de la forte utilisation de l'AZT et de la d4T dans les traitements de première ligne, les TAM's représentent une part non négligeable des mutations observées. La mutation principale des TAM's, la T215Y/F, s'observe chez 40% des enfants de ce groupe. Les souches virales présentant des TAM's, en possèdent en moyenne 3 : ceci est certainement en rapport avec la longue exposition au d4T et à l'AZT, des patients en situation d'échec virologique.

Notre étude retrouve 3 mutations Q151M chez des patients tous traités par des associations contenant de la d4T. Il semble que cette mutation de résistance à large spectre soit plus fréquente chez des patients recevant l'association [d4T+3TC] que chez ceux recevant l'association [AZT+3TC], avec des fréquences évaluées à 5,6% et 0.3% respectivement, des souches recensées dans la base de données du site de l'université de Stanford [74].

Le profil de sensibilité aux INTI (figure 57) montre une résistance à l'AZT et à la d4T dans 75% des cas, et une résistance au 3TC dans 85% des cas. La DDI conserve sa sensibilité dans 85% des cas et l'ABC dans près de 70% des cas, expliquant leur utilisation importante en deuxième ligne. Le TDF quant à lui, conserve sa sensibilité dans près de 80% des cas, faisant également de cet ARV une molécule de choix en cas d'échec virologique.

En observant le profil de résistance aux INNTI sur la figure 59, la résistance à l'EFV et à la NVP, respectivement présentes dans 100% et 95% des cas, témoigne de la large utilisation de ces molécules, et de la faible barrière génétique des INNTI de première génération. Dans l'étude de Sigaloff et al. [73], une mutation de résistance aux INNTI était retrouvée chez 88% des patients ayant bénéficié d'un séquençage de la TI. Dans notre étude, ce profil de résistance est dû le plus souvent à la présence des mutations K103N, G190A, et K101E/H/P. Le recours à l'ETR, INNTI de deuxième génération présentant une barrière génétique plus forte, semble être une alternative intéressante pour ces patients en situation d'échec virologique. Cependant, il n'est que très rarement disponible dans les pays à ressources limitées, et en dépit de résultats très encourageants d'études pédiatriques [75, 76], il ne possède pas encore l'AMM pour l'enfant. Notre étude rapporte 4 cas de résistance à l'ETR chez des patients non exposés à cette molécule, comme le montre la figure 59. Cette résistance à l'ETR est due, dans la majorité des cas, aux mutations de résistance comme la

Y181C, la K101E/H/P, la A98G et la G190A, qui s'accumulent lors de traitements par des INNTI de première génération. Notons également que cette résistance à l'ETR pourrait survenir encore plus rapidement, chez certains patients pouvant présenter des mutations de polymorphisme telles que la V90I, la V106I ainsi que la V179I [77]. Ces données révèlent que l'utilisation prolongée d'INNTI de première génération chez des enfants en situation d'échec virologique pourrait compromettre à long terme l'efficacité thérapeutique des INNTI de deuxième génération.

Concernant les mutations de résistances aux IP, nous constatons que la forte prévalence des mutations de polymorphisme décrites précédemment chez les patients non-traités s'observe en proportion égale chez les patients traités : les mutations K20I, M36I, H69K et L89M sont trouvées dans au moins 95% des séquences. Parmi les 20 patients étudiés de ce groupe, un seul reçoit une association à base d'IP et nous n'avons pas mis en évidence de mutations majeures de résistance chez ce patient. Deux mutations majeures de résistance aux IP, la L90M et la M46I, ont au contraire été retrouvées chez un patient de 15 ans traité par l'association [AZT+3TC+EFV]. En retraçant l'historique thérapeutique de ce patient, on note une notion d'exposition au NFV dans une ligne précédente, expliquant ainsi la présence de ces deux mutations. La très faible proportion de patients exposés aux IP dans ce groupe nous limite dans l'étude du profil de résistance à ces molécules. Néanmoins, nous pouvons constater l'absence de transmission materno-fœtale de virus résistants aux IP dans ce groupe de patients.

V CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les données décrites pour l'ensemble des enfants traités sont encourageantes. La grande majorité des patients traités (plus de deux tiers) parvient à obtenir une suppression virologique, et ce quelle que soit la ligne concernée. Il semble primordial de pouvoir préserver le plus longtemps possible l'efficacité du traitement de première ligne, sachant que le panel thérapeutique est restreint en situation de ressources limitées, et que les enfants malades, amenés à grandir, seront exposés plus longuement aux molécules antirétrovirales que les adultes infectés. Pour cela, il serait intéressant que la charge virale soit rendue accessible au plus grand nombre et particulièrement aux populations rurales vivant loin des grands centres de santé.

Les données concernant les enfants en situation d'échec virologique sont plus préoccupantes. En effet, la prévalence des mutations de résistance aux ARV est importante et l'absence d'alternative thérapeutique après un traitement de seconde ligne questionne sur la stratégie thérapeutique à adopter pour ces patients.

Ainsi, la mise à disposition de nouvelles molécules antirétrovirales doit pouvoir s'accompagner d'une juste utilisation de celles-ci, et l'accès au génotypage de résistance, bien qu'engendrant des coûts financiers conséquents, peut permettre d'atteindre cet objectif. Aussi, l'installation d'un séquenceur *in situ* présenterait de nombreux avantages comme celui d'améliorer le délai de rendu des résultats dans ces situations d'échec virologique. Dans le même temps, il serait intéressant qu'ESTHER puisse permettre d'intégrer les résultats des tests de résistance dans ESOPE, afin qu'au moment des consultations, les prescripteurs puissent avoir un accès rapide à ces données.

BIBLIOGRAPHIE

1. Huraux, J.-M., *Traité de virologie médicale*. 2003.
2. Girard, P.-M., *VIH*. 2011.
3. Tardy, J.C., *La résistance du VIH aux antirétroviraux*. 2007.
4. Permanyer, M., E. Ballana, and J.A. Este, *Endocytosis of HIV: anything goes*. Trends Microbiol, 2010. **18**(12): p. 543-51.
5. Sarafianos, S.G., et al., *Structure and function of HIV-1 reverse transcriptase: molecular mechanisms of polymerization and inhibition*. J Mol Biol, 2009. **385**(3): p. 693-713.
6. Pommier, Y., A.A. Johnson, and C. Marchand, *Integrase inhibitors to treat HIV/AIDS*. Nat Rev Drug Discov, 2005. **4**(3): p. 236-48.
7. Karn, J., *Tackling Tat*. J Mol Biol, 1999. **293**(2): p. 235-54.
8. Gheysen, D., et al., *Assembly and release of HIV-1 precursor Pr55gag virus-like particles from recombinant baculovirus-infected insect cells*. Cell, 1989. **59**(1): p. 103-12.
9. Martin-Serrano, J. and S.J. Neil, *Host factors involved in retroviral budding and release*. Nat Rev Microbiol, 2011. **9**(7): p. 519-31.
10. Simon, F., et al., *Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O*. Nat Med, 1998. **4**(9): p. 1032-7.
11. Plantier, J.C., et al., *A new human immunodeficiency virus derived from gorillas*. Nat Med, 2009. **15**(8): p. 871-2.
12. Buonaguro, L., M.L. Tornesello, and F.M. Buonaguro, *Human immunodeficiency virus type 1 subtype distribution in the worldwide epidemic: pathogenetic and therapeutic implications*. J Virol, 2007. **81**(19): p. 10209-19.
13. *Rapport ONUSIDA*. 2011.
14. Supervie V., N.J.C.D., *The hidden HIV epidemic : what do mathematical models tell us ? The case of France*. Conférence de l'International AIDS Society, Washington, juillet 2012, 2012.
15. Yéni, P., *Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH*. 2010.
16. HAS, *Dépistage de l'infection par le VIH en France : Stratégies et dispositif de dépistage*. 2009.

17. *Arrêté du 9 novembre 2010 fixant les conditions de réalisation des tests rapides d'orientation diagnostique de l'infection à virus de l'immunodéficience humaine (VIH 1 et 2) - JORF n°0266 du 17 novembre 2010.* 2010.
18. *Arrêté du 28 mai 2010 fixant les conditions de réalisation du diagnostic biologique de l'infection à virus de l'immunodéficience humaine (VIH 1 et 2) et les conditions de réalisation du test rapide d'orientation diagnostique dans les situations d'urgence - JORF n°0131 du 9 juin 2010.* 2010.
19. *A Randomized Trial to Evaluate the Effectiveness of Antiretroviral Therapy Plus HIV Primary Care versus HIV Primary Care Alone to Prevent the Sexual Transmission of HIV-1 in Serodiscordant Couples.* 2011.
20. Naeger, L.K., N.A. Margot, and M.D. Miller, *ATP-dependent removal of nucleoside reverse transcriptase inhibitors by human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase.* *Antimicrob Agents Chemother*, 2002. **46**(7): p. 2179-84.
21. Yahi, N., et al., *Structural analysis of reverse transcriptase mutations at codon 215 explains the predominance of T215Y over T215F in HIV-1 variants selected under antiretroviral therapy.* *J Biomed Sci*, 2005. **12**(5): p. 701-10.
22. *Stanford University HIV Drug Resistance Data Base.*
23. Tisdale, M., et al., *Rapid in vitro selection of human immunodeficiency virus type 1 resistant to 3'-thiacytidine inhibitors due to a mutation in the YMDD region of reverse transcriptase.* *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993. **90**(12): p. 5653-6.
24. Wainberg, M.A., et al., *Effectiveness of 3TC in HIV clinical trials may be due in part to the M184V substitution in 3TC-resistant HIV-1 reverse transcriptase.* *AIDS*, 1996. **10 Suppl 5**: p. S3-10.
25. Back, N.K., et al., *Reduced replication of 3TC-resistant HIV-1 variants in primary cells due to a processivity defect of the reverse transcriptase enzyme.* *EMBO J*, 1996. **15**(15): p. 4040-9.
26. Wei, X., et al., *Negative effect of the M184V mutation in HIV-1 reverse transcriptase on initiation of viral DNA synthesis.* *Virology*, 2003. **311**(1): p. 202-12.
27. Arion, D., et al., *The K65R mutation confers increased DNA polymerase processivity to HIV-1 reverse transcriptase.* *J Biol Chem*, 1996. **271**(33): p. 19860-4.
28. Shah, F.S., et al., *Differential influence of nucleoside analog-resistance mutations K65R and L74V on the overall mutation rate and error specificity of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase.* *J Biol Chem*, 2000. **275**(35): p. 27037-44.

29. Parikh, U.M., et al., *Molecular mechanisms of bidirectional antagonism between K65R and thymidine analog mutations in HIV-1 reverse transcriptase*. AIDS, 2007. **21**(11): p. 1405-14.
30. Shafer, R.W., et al., *Combination therapy with zidovudine and didanosine selects for drug-resistant human immunodeficiency virus type 1 strains with unique patterns of pol gene mutations*. J Infect Dis, 1994. **169**(4): p. 722-9.
31. Sluis-Cremer, N., N.A. Temiz, and I. Bahar, *Conformational changes in HIV-1 reverse transcriptase induced by nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor binding*. Curr HIV Res, 2004. **2**(4): p. 323-32.
32. A.Chéret, *Numéro spécial INNTI : Historique, structure, mécanismes d'action et nouvelles molécules*. Virologie, 2008.
33. Dunn, B.M., et al., *Retroviral proteases*. Genome Biol, 2002. **3**(4): p. REVIEWS3006.
34. Zoete, V., O. Michielin, and M. Karplus, *Relation between sequence and structure of HIV-1 protease inhibitor complexes: a model system for the analysis of protein flexibility*. J Mol Biol, 2002. **315**(1): p. 21-52.
35. Wilson, J.W. and P. Bean, *A physician's primer to antiretroviral drug resistance testing*. AIDS Read, 2000. **10**(8): p. 469-73, 476-8.
36. Liu, T.F. and R.W. Shafer, *Web resources for HIV type 1 genotypic-resistance test interpretation*. Clin Infect Dis, 2006. **42**(11): p. 1608-18.
37. Joubert, L.M., *Construction et validation des algorithmes de résistance du VIH aux antirétroviraux* Virologie, 2003. **Volume 7, Numéro 4, 281-8, Juillet 2003**.
38. *Directives pour l'évaluation des techniques de dépistage du VIH en Afrique*.
39. Sato, P.A., et al., *Strategies for laboratory HIV testing: an examination of alternative approaches not requiring Western blot*. Bull World Health Organ, 1994. **72**(1): p. 129-34.
40. Nkengasong, J.N., et al., *Evaluation of HIV serial and parallel serologic testing algorithms in Abidjan, Cote d'Ivoire*. AIDS, 1999. **13**(1): p. 109-17.
41. Andersson, S., et al., *Field evaluation of alternative testing strategies for diagnosis and differentiation of HIV-1 and HIV-2 infections in an HIV-1 and HIV-2-prevalent area*. AIDS, 1997. **11**(15): p. 1815-22.
42. OMS, *Traitement antirétroviral de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent*. 2010.
43. OMS, *Traitement antirétroviral de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent*. 2006.

44. *Children born to women with HIV-1 infection: natural history and risk of transmission. European Collaborative Study.* Lancet, 1991. **337**(8736): p. 253-60.
45. St Louis, M.E., et al., *Risk for perinatal HIV-1 transmission according to maternal immunologic, virologic, and placental factors.* JAMA, 1993. **269**(22): p. 2853-9.
46. Ryder, R.W., et al., *Perinatal transmission of the human immunodeficiency virus type 1 to infants of seropositive women in Zaire.* N Engl J Med, 1989. **320**(25): p. 1637-42.
47. Kourtis, A.P., et al., *Mother-to-child transmission of HIV-1: timing and implications for prevention.* Lancet Infect Dis, 2006. **6**(11): p. 726-32.
48. Siegfried, N., et al., *Antiretrovirals for reducing the risk of mother-to-child transmission of HIV infection.* Cochrane Database Syst Rev, 2011(7): p. CD003510.
49. *Caesarean section and risk of vertical transmission of HIV-1 infection. The European Collaborative Study.* Lancet, 1994. **343**(8911): p. 1464-7.
50. Connor, E.M., et al., *Reduction of maternal-infant transmission of human immunodeficiency virus type 1 with zidovudine treatment. Pediatric AIDS Clinical Trials Group Protocol 076 Study Group.* N Engl J Med, 1994. **331**(18): p. 1173-80.
51. *The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1--a meta-analysis of 15 prospective cohort studies. The International Perinatal HIV Group.* N Engl J Med, 1999. **340**(13): p. 977-87.
52. Bryson, Y.J., et al., *Proposed definitions for in utero versus intrapartum transmission of HIV-1.* N Engl J Med, 1992. **327**(17): p. 1246-7.
53. OMS, *Traitement antirétroviral de l'infection VIH chez le nourrisson et l'enfant 2010.*
54. Nesheim, S., et al., *Quantitative RNA testing for diagnosis of HIV-infected infants.* J Acquir Immune Defic Syndr, 2003. **32**(2): p. 192-5.
55. Lambert, J.S., et al., *Performance characteristics of HIV-1 culture and HIV-1 DNA and RNA amplification assays for early diagnosis of perinatal HIV-1 infection.* J Acquir Immune Defic Syndr, 2003. **34**(5): p. 512-9.
56. Walker, N., B. Schwartzlander, and J. Bryce, *Meeting international goals in child survival and HIV/AIDS.* Lancet, 2002. **360**(9329): p. 284-9.
57. Newell, M.L., et al., *Mortality of infected and uninfected infants born to HIV-infected mothers in Africa: a pooled analysis.* Lancet, 2004. **364**(9441): p. 1236-43.
58. Dunn, D., *Short-term risk of disease progression in HIV-1-infected children receiving no antiretroviral therapy or zidovudine monotherapy: a meta-analysis.* Lancet, 2003. **362**(9396): p. 1605-11.

59. Violari, A., et al., *Early antiretroviral therapy and mortality among HIV-infected infants*. N Engl J Med, 2008. **359**(21): p. 2233-44.
60. Goethebuer, T., *Prise en charge du nouveau-né infecté par le VIH*. 2010.
61. Cotton, F., et al., *Evaluation of an automated capillary electrophoresis system in the screening for hemoglobinopathies*. Clin Lab, 2009. **55**(5-6): p. 217-21.
62. *ESTHER : La solidarité en mouvement*. 2012 06/09/2012]; Available from: <http://www.esther.fr/nos-actions-dans-le-monde/burkinafaso>.
63. van Oosterhout, J.J., et al., *Diagnosis of antiretroviral therapy failure in Malawi: poor performance of clinical and immunological WHO criteria*. Trop Med Int Health, 2009. **14**(8): p. 856-61.
64. Mee, P., et al., *Evaluation of the WHO criteria for antiretroviral treatment failure among adults in South Africa*. AIDS, 2008. **22**(15): p. 1971-7.
65. Ciaranello, A.L., et al., *Effectiveness of pediatric antiretroviral therapy in resource-limited settings: a systematic review and meta-analysis*. Clin Infect Dis, 2009. **49**(12): p. 1915-27.
66. McIntosh, K., et al., *Age- and time-related changes in extracellular viral load in children vertically infected by human immunodeficiency virus*. Pediatr Infect Dis J, 1996. **15**(12): p. 1087-91.
67. Shearer, W.T., et al., *Viral load and disease progression in infants infected with human immunodeficiency virus type 1*. Women and Infants Transmission Study Group. N Engl J Med, 1997. **336**(19): p. 1337-42.
68. Rouet, F., et al., *Pediatric viral human immunodeficiency virus type 1 RNA levels, timing of infection, and disease progression in African HIV-1-infected children*. Pediatrics, 2003. **112**(4): p. e289.
69. Ouattara, B., *Aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques de l'infection à VIH chez 179 enfants sous traitement antirétroviral au CHU pédiatrique Charles De Gaulle*. 2008, Université de Ouagadougou: Ouagadougou.
70. Kagone, T.S., et al., *Characterization of HIV-1 genotypes and antiretroviral drug-resistance mutations among patients in Burkina Faso*. Pak J Biol Sci, 2011. **14**(6): p. 392-8.
71. Tebit, D.M., et al., *Analysis of the diversity of the HIV-1 pol gene and drug resistance associated changes among drug-naive patients in Burkina Faso*. J Med Virol, 2009. **81**(10): p. 1691-701.

72. *Stanford University HIV Drug Resistance Data Base : Prévalence des mutations de la PR en fonction du sous-type et du traitement.*; Available from:
<http://hivdb.stanford.edu/cgi-bin/MutPrevBySubtypeRx.cgi>.
73. Sigaloff, K.C., et al., *HIV-1-resistance-associated mutations after failure of first-line antiretroviral treatment among children in resource-poor regions: a systematic review*. *Lancet Infect Dis*, 2011. **11**(10): p. 769-79.
74. *Stanford University HIV Drug Resistance Data Base : Prévalence de la mutation Q151M en fonction du traitement du patient.* . Available from:
<http://hivdb.stanford.edu/cgi-bin/Marvel.cgi?pos=151&drug=D4T&class=NRTI>.
75. Konigs, C., et al., *Pharmacokinetics and short-term safety and tolerability of etravirine in treatment-experienced HIV-1-infected children and adolescents*. *AIDS*, 2012. **26**(4): p. 447-55.
76. Vigano, A., et al., *Successful rescue therapy with a darunavir/ritonavir and etravirine antiretroviral regimen in a child with vertically acquired multidrug-resistant HIV-1*. *Antivir Ther*, 2008. **13**(6): p. 839-43.
77. *Stanford University HIV Drug Resistance Data Base : Prévalence des mutations de la TI en fonction du sous-type et du traitement.*; Available from:
<http://hivdb.stanford.edu/cgi-bin/MutPrevBySubtypeRx.cgi>.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Structure d'une particule virale du VIH.....	8
Figure 2 : Organisation génomique de l'ADN proviral du VIH.....	9
Figure 3 : Cycle de multiplication du VIH.....	10
Figure 4 : Les différentes étapes de l'entrée du VIH dans la cellule	11
Figure 5 : Processus d'intégration du provirus catalysé par l'intégrase	14
Figure 6 : Schéma représentant les étapes d'assemblage, de bourgeonnement et de maturation du VIH	15
Figure 7 : Distribution géographique des sous-types du VIH.....	17
Figure 8: Nombre de personnes vivant avec le VIH dans le monde de 1990 à 2010.....	18
Figure 9 : Nombre des nouvelles infections et nombre de décès dus au VIH dans le monde de 1990 à 2010.....	18
Figure 10 : Nombre de personnes vivant avec le VIH dans les pays occidentaux.....	19
Figure 11 : Nombre de personnes vivant avec le VIH en Afrique subsaharienne.....	19
Figure 12 : Ressources disponibles pour le VIH dans les pays à faible revenu	20
Figure 13 : Dynamique des marqueurs viraux au cours de la primo-infection VIH.....	23
Figure 14 : Algorithme de dépistage du VIH en France (cas général).....	24
Figure 15 : Evolution naturelle de l'infection par le VIH.....	26
Figure 16 : Objectif immuno-virologique après instauration d'un premier traitement antirétroviral	27
Figure 17 : Représentation de la TI et organisation de ses différents domaines.....	29
Figure 18 : Polymérisation d'un dNTP après chélation au niveau du site actif de la TI.....	30
Figure 19 : Site de fixation des INTI et des INNTI et principaux acides aminés impliqués dans la formation de la poche hydrophobe	33
Figure 20 : Schéma comparatif des structures secondaires des protéases aspartiques rétrovirales et cellulaires.....	34
Figure 21 : Structure tertiaire de la protéase du VIH	34
Figure 22 : Schéma représentant la séquence d'apparition des mutations de la PR.....	36
Figure 23 : Détermination des CI50 d'une souche sauvage et d'une souche mutée.....	38
Figure 24 : Stratégie diagnostique par combinaison de 3 tests selon la stratégie n°3 de l'OMS	42
Figure 25 : Recommandations OMS pour l'utilisation de la charge virale pour le suivi des patients vivants avec le VIH	46
Figure 26 : Probabilité de décès (A) et probabilité d'apparition d'événement classant SIDA (B) en fonction du taux de CD4 et de l'âge.....	50
Figure 27 : Représentation schématique de la localisation des amorces des PCR _{ext} sur le gène <i>pol</i>	55
Figure 28 : Composition des mix de la PR (en bleu) et de la TI (en rouge).....	55

Figure 29 : Schéma récapitulatif des étapes de manipulation de l'élution des buvards jusqu'à la première réaction de PCR _{ext}	56
Figure 30 : Localisation schématique des couples d'amorces des PCR nichées.....	57
Figure 31 : Photographie d'un gel d'agarose après migration électrophorétique	58
Figure 32 : A :Représentation schématique d'un appareillage de l'électrophorèse capillaire (A) & B : le séquenceur Beckman Coulter CEQ 8000.	59
Figure 33 : Répartition de l'ensemble des enfants en fonction du sexe et de l'âge.....	61
Figure 34 : Nombre moyen de numération CD4 et de charges virales réalisées.....	61
Figure 35 : Répartition des enfants non traités en fonction de l'âge.....	63
Figure 36 : Répartition des taux de CD4 en % et en <i>mm3</i> chez les patients non traités.....	63
Figure 37 : Répartition de la valeur de la dernière charge virale chez les patients non traités.....	64
Figure 38 : Répartition de la valeur de la dernière charge virale chez	65
Figure 39 : Proportion globale et par âge des différentes lignes thérapeutiques.....	66
Figure 40 : Répartition des trithérapies utilisées en première ligne.	66
Figure 41 : Comparaison de l'utilisation préférentielle des INTI et INNTI.	67
Figure 42 : Répartition de la dernière valeur de CD4 observée chez les patients traités en première ligne.	68
Figure 43 : Répartition des valeurs de charge virale par tranche.	68
Figure 44 : Trithérapies utilisées dans les thérapies de deuxième ligne.....	69
Figure 45 : Répartition des CD4 chez les traités de deuxième ligne.....	70
Figure 46 : Répartition des valeurs de charges virales observées chez les traités de deuxième ligne... ..	71
Figure 47 : Répartition des traitements atypiques par groupe de thérapie.	72
Figure 48 : Répartition des CD4 chez patients classés dans la catégorie traitements atypiques.....	73
Figure 49 : Répartition des valeurs de la dernière charge virale dans le groupe des traitements atypiques.	73
Figure 50 : Récapitulatif de l'ensemble des enfants suivis entre 2005 et 2011 au CHUP-CDG.....	74
Figure 51 : Répartition des sous-types viraux étudiés dans la cohorte pédiatrique du CHUP-CDG. ...	75
Figure 52 : Prévalence des mutations observés sur le gène de la protéase.....	76
Figure 53 : Répartition des molécules utilisés chez les patients traités en échec virologique.....	76
Figure 54 : Etat immuno-virologique des patients traités dont les virus ont été génotypés.	77
Figure 55 : Effectif des mutations de résistance aux INTI chez les traités.....	77
Figure 56 : Profil de résistance aux INTI des enfants traités.....	78
Figure 57 : Effectif des mutations de résistance aux INNTI chez les traités.....	78
Figure 58 : Profil de résistance aux INNTI des enfants traités.....	79
Figure 59 : Effectif des mutations pouvant être impliquées dans la résistance aux IP.....	79
Figure 60 : Profil de résistance aux IP.....	80
Figure 61 : Prévalence des acides aminés majoritaires sur le gène de la PR en fonction.....	87

ANNEXE

ANRS - AC 11 : RESISTANCE GROUP
GENOTYPE INTERPRETATION: NUCLEOSIDE AND NUCLEOTIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

	Mutations associated with resistance	Mutations associated with « possible resistance »
ZDV	<ul style="list-style-type: none"> • T215Y/F • At least 3 mutations among : M41L, D67N, K70R, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V, K219Q/E [1, 2, 3, 4] • Q151M • Insertion at codon 69 	<ul style="list-style-type: none"> • T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V [1, 2, 3, 4]
3TC/FTC	<ul style="list-style-type: none"> • M184V/I • Insertion at codon 69 	<ul style="list-style-type: none"> • K65R [11, 12, 16] • Q151M
ddl	<ul style="list-style-type: none"> • At least a score of + 2 among: M41L + T69D + 215Y/F + K219Q/E – K70R – M184 V/I [5, 14, 15, 17, 18] • L74V/I [19] • Q151M • Insertion at codon 69 	<ul style="list-style-type: none"> • K65R [11, 12]
d4T	<ul style="list-style-type: none"> • V75A/M/S/T • T215Y/F [6] • At least 3 mutations among : M41L, D67N, K70R, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V, K219Q/E [4, 7, 14, 15] • K65R [30, 31, 32] • Q151M • Insertion at codon 69 	<ul style="list-style-type: none"> • T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V [4, 7]
ABC	<ul style="list-style-type: none"> • At least 4 mutations among : M41L, D67N, M184V/I, L210W, T215Y/F [8, 19, 29] • K65R [9, 11, 12] • L74V/I [24, 25, 26, 27, 28, 29] • Y115F • Q151M • Insertion at codon 69 	<ul style="list-style-type: none"> • 3 mutations among : M41L, D67N, M184V/I, L210W, T215Y/F [8, 19, 29]
TDF	<ul style="list-style-type: none"> • At least 6 mutations among: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215Y/F [13, 20, 33] • K65R [9, 10, 11, 12] • Insertion at codon 69 • K70E [21, 22, 23] 	<ul style="list-style-type: none"> • 3, 4 or 5 mutations among: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215Y/F [13, 33]

ZDV: zidovudine, 3TC: lamivudine, FTC: emtricitabine, ddl: didanosine, d4T: stavudine, ABC: abacavir, TDF: tenofovir

ANRS - AC 11 : RESISTANCE GROUP
GENOTYPE INTERPRETATION: NON-NUCLEOSIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

	Mutations associated with resistance	Mutations associated with « possible resistance »
EFV	<ul style="list-style-type: none"> • L100I • K101E • K103H/N/S/T [1] • V106M [2] • E138K [12, 13] • Y181C/I • Y188C/L • G190A/C/E/Q/S/T/V • P225H • M230L 	
NVP	<ul style="list-style-type: none"> • A98S (for HIV-1 subtype C only) [3] • L100I • K101E • K103H/N/S/T [1] • V106A/M [2] • Y181C/I • Y188C/H/L • G190A/C/E/Q/S/T/V • M230L 	<ul style="list-style-type: none"> • E138K [13]
ETR	<ul style="list-style-type: none"> • At least 4 among: V90I, A98G, L100I, K101E/H/I/P/R, V106I, V179D/F/I/L/M/T, Y181C/I, G190A/S, M230L [4, 7, 8, 9, 10, 11] • E138K [12, 13] • Y181V [5, 6] • Y181C+H221Y [7] 	<ul style="list-style-type: none"> • 3 mutations among: V90I, A98G, L100I, K101E/H/I/P/R, V106I, V179D/F/I/L/M/T, Y181C/I, G190A/S, M230L [4, 7, 8, 9, 10, 11] • E138A/G/Q/R [5, 6, 7, 8]
RPV	<ul style="list-style-type: none"> • K101E/P [9, 13] • E138A/G/K/Q/R/S [12, 13, 14] • V179L [9] • Y181C/I/V [13] • Y188L [9] • H221Y [13] • M230I/L/V [9] • L100I + K103N [9] 	

EFV: efavirenz, NVP: nevirapine, ETR: etravirine, RPV : rilpivirine

**ANRS - AC 11 : RESISTANCE GROUP
GENOTYPE INTERPRETATION: PROTEASE INHIBITORS**

	Mutations associated with resistance	Mutations associated with « possible resistance »
IDV	<ul style="list-style-type: none"> • M46I/L • V82A/F/M/S/T [11] • I84A/V [8] • L90M and at least 2 among : K20M/R, L24I, V32I, M36I, I54V/L/M/T, A71V/T, G73S/A, V77I 	<ul style="list-style-type: none"> • L90M
SQV/RTV 1000/100 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> • G48V • At least 4 mutations among: L10F/I/M/R/V, I15A/V, K20I/M/R/T, L24I, I62V, G73S/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [9] 	<ul style="list-style-type: none"> • 3 mutations among: L10F/I/M/R/V, I15A/V, K20I/M/R/T, L24I, I62V, G73S/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [9]
NFV	<ul style="list-style-type: none"> • D30N • I84A/V [8] • N88S/D • L90M 	<ul style="list-style-type: none"> • V82A/F/S/T and at least 2 among: L10I, M36I, M46I/L, I54V/L/M/T, A71V/T, V77I [1]
FPV/RTV 700/100 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> • I50V • V32I and I47A/V [2, 13, 14] • At least 4 mutations among: L10F/I/V, L33F, M36I, I54A/L/M/S/T/V, I62V, V82A/C/F/G, I84V, L90M [2, 20] 	
LPV/r	<ul style="list-style-type: none"> • At least 6 mutations among : L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [3, 4, 5, 21] • I47A [15, 16] • L76V [18, 19] 	<ul style="list-style-type: none"> • 4 or 5 mutations among: L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [3, 4, 5, 21]
ATV/RTV 300/100 mg QD	<ul style="list-style-type: none"> • I50L [6] • At least 3 mutations among: L10F/I/V, G16E, L33F/I/V, M46I/L, D60E, I84V, I85V, L90M [7, 12, 22] 	
TPV/RTV 500/200 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> • At least a score of + 3* : 36I/L/V – 53L/W/Y + 58E + 69I/K/N/Q/R/Y + 89I/M/R/T/V [10, 23] 	<ul style="list-style-type: none"> • A score of + 2* : 36I/L/V – 53L/W/Y + 58E + 69I/K/N/Q/R/Y + 89I/M/R/T/V [10, 23]
DRV/RTV 600/100 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> • At least 4 mutations among: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L/M, T74P, L76V, I84V, L89V [17, 24, 25, 26] 	<ul style="list-style-type: none"> • 3 mutations among: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L/M, T74P, L76V, I84V, L89V [17, 24, 25, 26]

October 2011- Version n°21

**IDV: indinavir, SQV: saquinavir, NFV: nelfinavir, RTV: ritonavir, FPV: fosamprenavir, LPV: lopinavir, ATV:atazanavir, TPV: tipranavir,
DRV : darunavir**

V82A is associated with better virological response to darunavir [27]

*** Insufficient data for HIV-1 subtype non-B**

ANRS - AC 11 : RESISTANCE GROUP
GENOTYPE INTERPRETATION: FUSION INHIBITOR

	Mutations associated with resistance
ENF	<ul style="list-style-type: none">• G36A/D/E/S/V [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]• V38A/E/K/M• Q40H/K/P/T• N42D/T• N43D/H/K/S• L44M• L45Q/M
T20	

ENF (T20): enfuvirtide

ANRS - AC 11 : RESISTANCE GROUP

GENOTYPE INTERPRETATION: INTEGRASE INHIBITORS

	Mutations associated with resistance	Mutations associated with « possible resistance »
RAL	<ul style="list-style-type: none"> • T66K [10] • E92Q [1, 2] • F121Y [10] • G140A/S [7] • Y143C/G/H/R/S [1, 3, 4, 5, 9] • Q148E/G/H/K/R [1, 2] • V151L [10] • N155H/S/T [1, 2, 10] • E157Q [2] 	<ul style="list-style-type: none"> • At least 3 mutations among : V72I, L74M, T97A, V151I, G163R, S230R [8, 10]
EVG	<ul style="list-style-type: none"> • T66I/A/K [6] • E92Q [6] • F121Y [10] • E138K • G140C/S • P145S [10] • S147G • Q148H/R/K [6] • V151L [10] • N155H/S/T [6, 10] 	
DTG	<ul style="list-style-type: none"> • V151L [10] • S153Y • T66K + L74M • E92Q + N155H • E138A/K + Q148H/K/R • G140C/S + Q148H/K/R • Q148R + N155H 	<ul style="list-style-type: none"> • T66K [10] • S153F

RAL: raltegravir, EVG: elvitegravir, DTG: dolutegravir

**ANRS - AC 11 : RESISTANCE GROUP
GENOTYPE INTERPRETATION FOR HIV-2**

NUCLEOSIDE AND NUCLEOTIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS
<ul style="list-style-type: none">• K65R : resistance to ddl, TDF, ABC [1]• Q151M : all NRTI except 3TC and FTC [1]• M184V : resistance to 3TC/FTC [1]• S215A/C/F/L/P/Y : resistance to AZT and d4T [1]
NON-NUCLEOSIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS
<ul style="list-style-type: none">• Naturally resistant to all NNRTI [2, 3]
PROTEASE INHIBITORS
<ul style="list-style-type: none">• Naturally resistant to APV and fosAPV [2, 3] <p>Contradictory data for ATV , TPV [2, 4]</p>
FUSION INHIBITOR
<ul style="list-style-type: none">• Naturally resistant to T20 [2, 3]
INTEGRASE INHIBITORS
<ul style="list-style-type: none">• Y143C/H/R : resistance to raltegravir [7]• Q148K/R : resistance to raltegravir [5]• N155H : resistance to raltegravir [6]

REFERENCES

Nucleoside and Nucleotide Reverse Transcriptase Inhibitors

- 1/ Riva C et al. Transmitted virus with substitutions at position 215 and risk of virological failure in antiretroviral naive patients starting highly active antiretroviral therapy. XI International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications , 2-5 July 2002, Seville, Spain, abstract 124.
- 2/ Lanier ER et al. Effect of baseline 215D/C/S « revertant » mutations on virological response to lamivudine /zidovudine- containing regimens and emergence of 215Y upon virological failure. XI International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 2-5 July 2002, Seville, Spain abstract 146.
- 3/ Garcia-Lerma et al. Increased ability for selection of zidovudine resistance in a distinct class of wild-type HIV-1 from drug-naive persons. PNAS 2001 ; 98 : 13907-13912.
- 4/ Chappey C et al. Evolution of amino acid 215 in HIV-1 reverse transcriptase in response to intermittent drug selection. XII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 10-14 June 2003, Los Cabos, Mexico, abstract 32.
- 5/ Costagliola D et al. Presence of thymidine –associated mutations and response to d4T, abacavir and ddi in the control arm of the Narval ANRS 088 trial. 8th Conference on Retroviruses and opportunistic Infections. 4-8 february 2001, Chicago, Illinois, poster 450.
- 6/ Calvez V et al. Impact of stavudine phenotype and thymidine analogs mutations on viral response to stavudine plus lamivudine in ALTIS 2 ANRS trial. Antiviral Therapy 2002, 7(3):211-218.
- 7/ García-Lerma JG, MacInnes H, Bennett D, Reid P, Nidtha S, Weinstock H, Kaplan JE, Heneine W. A novel genetic pathway of human immunodeficiency virus type 1 resistance to stavudine mediated by the K65R mutation. J Virol. 2003 May;77(10):5685-93.
- 8/ Brun-Vézinet F et al. Clinically relevant interpretation of genotype for resistance to abacavir : a study from the Narval trial (ANRS 088). AIDS 2003; 17(12):1795-802.
- 9/ Stone C, Ait-Khaled M, Craig C, Griffin P, Tisdale M. Human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase mutation selection during in vitro exposure to tenofovir alone or combined with abacavir or lamivudine. Antimicrob Agents Chemother. 2004 Apr;48(4):1413-5.
- 10/ Miller MD et al. Multivariate analyses of antiviral response to tenofovir DF therapy in antiretroviral–experienced patients. XI International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 2-5 July 2002, Seville, Spain abstract 14.
- 11/ Margot NA, Lu B, Cheng A, Miller MD; Study 903 Team. Resistance development over 144 weeks in treatment-naive patients receiving tenofovir disoproxil fumarate or stavudine with lamivudine and efavirenz in Study 903. HIV Med. 2006 Oct;7(7):442-50.
- 12/ Parikh et al. K65R : a multi-nucleoside resistance mutation of a low but increasing frequency. XII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 10-14 June 2003, Los Cabos, Mexico, abstract 136.

October 2011- Version n°21

- 13/ Masquelier B et al. Genotypic and pharmacological determinants of the virological response to tenofovir in nucleoside reverse transcriptase inhibitor-experienced patients. *Antivir Ther.* 2004 ; 9(3):315-23.
- 14/ Izopet J. et al. Mutations conferring resistance to zidovudine diminish the antiviral effect of stavudine plus didanosine. *Journal of Medical Virology* 1999 ; 59 : 507-511.
- 15/ Pellegrin I. et al. Emergence of zidovudine and multidrug-resistance mutations in the HIV-1 reverse transcriptase gene in therapy-naive patients receiving stavudine plus didanosine combination therapy. STADI group. *AIDS* 1999 ; 13 : 1705-1709.
- 16/ Mulamba GB et al. Pre-steady state kinetic analysis of the incorporation of FTC 5'-monophosphate and 3TC 5'-monophosphate by mutants HIV-1 RTs K65R, K65R/Q151M and Q151M. 16th International Conference on Antiviral Research, 27 April-1 May 2003, Savannah, USA. Abstract 39.
- 17/ Marcelin AG et al. Clinically relevant genotype interpretation of resistance to didanosine. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 May;49(5):1739-44.
- 18/ Capdepon S et al. An additive/subtractive genotypic score as a determinant of the virological response to didanosine in HIV-1 infected patients. *J Clin Virol.* 2006 May;36(1): 36-42.
- 19/ Assoumou L, Brun-Vézinet F, Cozzi-Lepri A, Kuritzkes D, Phillips A, Zolopa A, Degruittola V, Miller V, Costagliola D; Standardization and Clinical Relevance of HIV Drug Resistance Testing Project of the Forum for Collaborative HIV Research. Initiatives for Developing and Comparing Genotype Interpretation Systems: External Validation of Existing Systems for Didanosine against Virological Response. *J Infect Dis.* 2008 Jul 3.
- 20/ Waters J et al. K65R, L74V and TAMs in HIV-1 RT associated with reduced response to tenofovir DF in antiretroviral-experienced patients. 13th Conference on Retroviruses and opportunistic Infections. 5-8 february 2006, Denver, Colorado, poster 633.
- 21/ Kagan RM, Lee TS, Ross L, Lloyd RM Jr, Lewinski MA, Potts SJ. Molecular basis of antagonism between K70E and K65R tenofovir-associated mutations in HIV-1 reverse transcriptase. *Antiviral Res.* 2007 Sep;75(3):210-8.
- 22/ Kagan R et al. Adefovir HIV-1 RT mutation K70E in the age of tenofovir. XIV International HIV Drug Resistance Workshop: basic principles and clinical implications, 7-11 June 2005, Québec City, Québec, Canada, abstract 93.
- 23/ Sluis-Cremer N, Sheen CW, Zelina S, Torres PS, Parikh UM, Mellors JW. Molecular mechanism by which the K70E mutation in human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confers resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Jan;51(1):48-53.
- 24/ Miller V et al. HIV-1 reverse transcriptase (RT) genotype and susceptibility to RT inhibitors during abacavir monotherapy and combination therapy. *AIDS* 2000; 14:163–171.
- 25/ Moyle GJ, et al. Ziagen Once-Daily in Antiretroviral Combination Therapy (CNA30021) Study Team. Abacavir once or twice daily combined with once-daily lamivudine and efavirenz for the treatment of antiretroviral-naive HIV-infected adults: results of the Ziagen Once Daily in Antiretroviral Combination Study. *J Acquir Immune Defic Syndr.* 2005 Apr 1;38(4):417-25.

October 2011- Version n°21

26/ Irlbeck D *et al.* Treatment-emergent mutations for previously naïve HIV-infected adults failing ZDV+3TC+EFV and ABC+3TC+EFV (CNA30024). 11th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. San Francisco, CA, USA. February 8–11, 2004. Abstract 661.

27/ Rodriguez-French A, *et al.* The NEAT study: a 48-week open-label study to compare the antiviral efficacy and safety of GW433908 versus nelfinavir in antiretroviral therapy-naïve HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004; **35**:22–32.

28/ Gathe JC Jr *et al.* SOLO: 48-week efficacy and safety comparison of once-daily fosamprenavir /ritonavir versus twice-daily nelfinavir in naïve HIV-1-infected patients. *AIDS*. 2004 Jul 23;18(11):1529-37

29/ Wirden *et al.* Risk factors for selection of the L74I reverse transcriptase mutation in human immunodeficiency virus type 1-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006 Jul;50(7):2553-6.

30/García-Lerma JG *et al.* A novel genetic pathway of human immunodeficiency virus type 1 resistance to stavudine mediated by the K65R mutation. *J Virol*. 2003 May;77(10):5685-93

31/Sungkanuparph S *et al.* Prevalence and risk factors for developing K65R mutations among HIV-1 infected patients who fail an initial regimen of fixed-dose combination of stavudine, lamivudine, and nevirapine. *J Clin Virol*. 2008 ;41:310-3.

32/Coutsinos D *et al.* The K65R mutation subtype B and C HIV-1: rates of development and the implications of template-specific dislocation mutagenesis. *Antiviral Therapy* 2010; 15 suppl 2:A13 (abs 5)

33/ Wirden M *et al.*, Antiretroviral combinations implicated in emergence of the L74I and L74V resistance mutations in HIV-1-infected patients. *AIDS*. 2009 Jan 2;23(1):95-9.

Non nucleoside transcriptase inhibitors

1/ Harrigan PR, Mo T, Wynhoven B, Hirsch J, Brumme Z, McKenna P, Pattery T, Vingerhoets J, Bacheler LT. Rare mutations at codon 103 of HIV-1 reverse transcriptase can confer resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS*. 2005 Mar 24;19(6):549-54.

2/ Brenner B *et al.* A V106M mutation in HIV-1 clade C viruses exposed to efavirenz confers cross-resistance to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS*. 2003 Jan 3;17(1):F1-5.

3/ Deshpande A *et al.* Resistance mutations in subtype C HIV type 1 isolates from Indian patients of Mumbai receiving NRTIs plus NNRTIs and experiencing a treatment failure: resistance to AR. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2007; 23 : 335-40.

4/ Vingerhoets J *et al.* Impact of baseline NNRTI mutations on the virological response to TMC125 in the Phase III clinical trials DUET-1 and DUET-2. XVI International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 12-16 June 2007, Barbados, West Indies, abstract 32.

October 2011- Version n°21

5/ Marcelin AG et al. Factors associated with virological response to etravirine in nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor-experienced HIV-1-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Jan;54(1):72-7.

6/ Vingerhoets J et al. Resistance profile of etravirine: combined analysis of baseline genotypic and phenotypic data from the randomized, controlled Phase III clinical studies. *AIDS.* 2010 Feb 20;24(4):503-14.

7/ Vingerhoets J et al. Impact of transmitted drug resistance (TDR) on virological response to initial combination antiretroviral therapy (cART). *Antiviral Therapy* 2010; 15 Suppl 2: A125 (abstract 99).

8/ El A et al. In vitro selection of novel etravirine-associated resistance mutations in B and non-B HIV-1 subtypes. *Antiviral Therapy* 2010; 15 Suppl 2: A134 (abstract 108).

9/ Azijn H et al. TMC278, a next-generation nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor (NNRTI), active against wild-type and NNRTI-resistant HIV-1. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Feb;54(2):718-27.

10/Marcelin AG et al. Mutations selected in patients displaying treatment failure under an etravirine-containing regimen. *Antiviral Therapy* 2011; 10.3851/IMP1886.

11/ Maïga AI et al. Resistance-associated mutations to etravirine (TMC-125) in antiretroviral-naïve patients infected with non-B HIV-1 subtypes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010 Feb;54(2):728-33.

12/ Asahchop EL et al. Characterization of the E138K resistance mutation in HIV-1 reverse transcriptase conferring susceptibility to etravirine in B and non-B HIV-1 subtypes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Feb;55(2):600-7.

13/ Eron J et al. Characterization of the resistance profile of TMC278: 48-week analysis of the Phase III studies ECHO and THRIVE. 50th ICAAC 2010 (abstract H-1810).

14/ Haddad M et al. Impact of HIV-1 reverse transcriptase E138 mutations selected on rilpivirine drug susceptibility. *Antiviral Therapy* 2011; 16 Suppl 1: A18 (abstract 10).

Protease inhibitors

1/ Phenotype/genotype correlation from Stanford database.

2/ Masquelier B, Assoumou KL, Descamps D, Bocket L, Cottalorda J, Ruffault A, Marcelin AG, Morand-Joubert L, Tamalet C, Charpentier C, Peytavin G, Antoun Z, Brun-Vézinet F, Costagliola D; ANRS Resistance Study Group. Clinically validated mutation scores for HIV-1 resistance to fosamprenavir/ritonavir. *J Antimicrob Chemother.* 2008 Jun;61(6):1362-8.

3/ Marcelin AG, Cohen-Codar I, King MS, Colson P, Guillevic E, Descamps D, Lamotte C, Schneider V, Ritter J, Segondy M, Peigue-Lafeuille H, Morand-Joubert L, Schmuck A, Ruffault A, Palmer P, Chaix ML, Mackiewicz V, Brodard V, Izopet J, Cottalorda J, Kohli E, Chauvin JP, Kempf DJ, Peytavin G, Calvez V. Virological

October 2011- Version n°21

- and pharmacological parameters predicting the response to lopinavir-ritonavir in heavily protease inhibitor-experienced patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005 May;49(5):1720-6.
- 4/ Maillard A, Chaplain JM, Tribut O, Bentué-Ferrer D, Tattevin P, Arvieux C, Michelet C, Ruffault A. The use of drug resistance algorithms and genotypic inhibitory quotient in prediction of lopinavir-ritonavir treatment response in human immunodeficiency virus type 1 protease inhibitor-experienced patients. *J Clin Virol.* 2007 Feb;38(2):131-8.
- 5/ Masquelier B et al. Human Immunodeficiency virus type 1 genotypic and pharmacokinetic determinants of the virological response to lopinavir-ritonavir-containing therapy in protease inhibitor-experienced patients. *Antimicrob Agents and Chemother* 2002 ; 46 : 2926-2932.
- 6/ Colonna RJ et al. Identification of I50L as the signature atazanavir (ATV)-resistance mutation in treatment naïve HIV-1 infected patients receiving ATV-containing regimens. *Journal of Infectious Diseases* 2004; 189: 1802-10.
- 7/ Vora S et al. Clinical validation of atazanavir/ritonavir genotypic resistance score in PI-experienced patients. *AIDS* 2006 Jan 2;20(1):35-40.
- 8/ Mo H, Parkin N, Stewart KD, Lu L, Dekhtyar T, Kempf DJ, Molla A. Identification and structural characterization of I84C and I84A mutations that are associated with high-level resistance to human immunodeficiency virus protease inhibitors and impair viral replication. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Feb;51(2):732-5.
- 9/ Marcelin AG, Flandre P, de Mendoza C, Roquebert B, Peytavin G, Valer L, Wirden M, Abbas S, Katlama C, Soriano V, Calvez V. Clinical validation of saquinavir/ritonavir genotypic resistance score in protease-inhibitor-experienced patients. *Antivir Ther.* 2007;12(2):247-52.
- 10/ Marcelin AG et al. Tipranavir-ritonavir genotypic resistance score in protease inhibitor-experienced patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008 Sept;52(9).
- 11/ Camacho R et al. Different substitutions under selective pressure at protease codon 82 in HIV-1 subtype G compared to subtype B infected individuals including a novel I82M resistance mutation. XIV International HIV Drug Resistance Workshop: basic principles and clinical implications, 7-11 June 2005, Québec City, Québec, Canada, abstract 138.
- 12/ Marcelin AG et al. External validation of atazanavir/ritonavir genotypic score in HIV-1 protease inhibitor experienced patients. *JAIDS* 2006; 42 (1): 127-8.
- 13/ Brutus A et al. The Neat Study: Virologic response in subjects receiving GW433908 (908) BID by viral load/CD4 cell Counts at study entry. XV International AIDS Conference, July 11-16 2004, Bangkok ,Thailand, abstract TuPeB 4500.
- 14/ Pellegrin I, Breilh D, Coureau G, Boucher S, Neau D, Merel P, Lacoste D, Fleury H, Saux MC, Pellegrin JL, Lazaro E, Dabis F, Thiébaud R; ANRS Co3 Aquitaine Cohort. Interpretation of genotype and pharmacokinetics for resistance to fosamprenavir-ritonavir-based regimens in antiretroviral-experienced patients. *Antimicrob Agents Chemother.* 2007 Apr;51(4):1473-80.
- 15/ Friend J et al. Isolated lopinavir resistance after virological rebound of a ritonavir/lopinavir-based regimen. *AIDS.* 2004 Sep 24;18(14):1965-6.
- 16/ de Mendoza C et al. Prevalence of the HIV-1 protease mutation I47A in clinical practice and association with lopinavir resistance. *AIDS* 2006 Apr 24; 20(7): 1071-4.

October 2011- Version n°21

17/ de Meyer S, Vangeneugden T, van Baelen B, de Paepe E, van Marck H, Picchio G, Lefebvre E, de Béthune MP. Resistance profile of darunavir: combined 24-week results from the POWER trials. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2008 Mar;24(3):379-88.

18/ Nijhuis N et al. A novel genetic pathway involving L76V and M46I leading to lopinavir/r resistance. XVI International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 12-16 June 2007, Barbados, West Indies, abstract 127.

19/ Delaugerre C et al. Protease inhibitor resistance analysis in the MONARK trial comparing first-line lopinavir-ritonavir monotherapy to lopinavir-ritonavir plus zidovudine and lamivudine triple therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009 Jul;53(7):2934-9.

20/ Marcelin AG et al. Genotypic resistance analysis of the virological response to fosamprenavir-ritonavir in protease inhibitor-experienced patients in CONTEXT and TRIAD clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother*. 2008 Dec;52(12):4251-7.

21/ Hill A et al. Identification of new genotypic cut-off levels to predict the efficacy of lopinavir/ritonavir and darunavir/ritonavir in the TITAN trial. *HIV Med*. 2009 Jul 6.

22/ Di Giambenedetto S et al. A rigorous statistical learning method for the estimation and validation of weighted drug susceptibility scores applied to in vivo virological outcome prediction in atazanavir/ritonavir-containing HAART. XVII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 10-14 June 2008, Sitges, Spain, abstract 95.

23/ Bethell R et al. No effect of subtype on susceptibility and virological response to TPV/r for treatment experienced patients. XVII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 10-14 June 2008, Sitges, Spain, abstract 111.

24/ Descamps D et al. Mutations associated with virological response to darunavir/ritonavir in HIV-1-infected protease inhibitor-experienced patients. *J Antimicrob Chemother*. 2009 Mar;63(3):585-92.

25/ De Meyer S. et al. Influence of baseline protease inhibitor resistance on the efficacy of darunavir/ritonavir or lopinavir/ritonavir in the TITAN trial. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2008 Dec 15;49(5):563-4.

26/ De Meyer S. et al. Phenotypic and genotypic determinants of resistance to darunavir: analysis of data from treatment-experienced patients in POWER 1, 2, 3 and DUET-1 and 2. XVII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 10-14 June 2008, Sitges, Spain, abstract 31.

27/ De Meyer S. et al. Confirmation of the negative impact of protease mutations I47V, I54M, T74P and I84V and the positive impact of protease mutation V82A on virological response to darunavir/ritonavir. XVII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 9-13 June 2009, Fort Myers, Florida, abstract 126.

Fusion inhibitor

1/ Sista P et al. Subgroup analysis of baseline susceptibility and early virological response to enfuvirtide in the combined TORO studies. XII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 10-14 June 2003, Los Cabos, Mexico, abstract 55.

October 2011- Version n°21

- 2/ Mink M et al. Impact of HIV-1 gp41 amino acid substitutions (position 36-45) on susceptibility to T20 (enfuvirtide) in vitro ; analysis of primary virus isolates recovered from patients during chronic enfuvirtide treatment and site-directed mutants in NL4-3. XI International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 2-5 July 2002, Seville, Spain, abstract 22.
- 3/ Greenberg ML et al. Enfuvirtide (T-20) and T-1249 resistance : observations from phase II clinical trials of enfuvirtide in combination with oral antiretrovirals and a phase I/II dose-ranging monotherapy trial of T-1249. XI International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 2-5 July 2002, Seville, Spain, abstract 128.
- 4/ Greenberg ML et al. Baseline and on-treatment susceptibility to enfuvirtide seen in TORO 1 and TORO 2 to 24 weeks. 10th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, February 10-14, 2003, Boston, USA, abstract 141.
- 5/ Chakraborty B et al. Replicative fitness of HIV-1 strains with reduced susceptibility to protease-, reverse transcriptase- and entry (enfuvirtide)-inhibitors. XIII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 8-12 June 2004, Tenerife, Spain, abstract 61.
- 6/ Walmsley SL et al. Development of a new genotypic resistance assay involving the entire gp41 sequence for evaluating resistance to enfuvirtide. XIII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 8-12 June 2004, Tenerife, Spain, abstract 134.
- 7/ Melby T et al. Evolution of enfuvirtide resistance in longitudinal samples obtained after continued enfuvirtide dosing post-virological failure. XIV International HIV Drug Resistance Workshop: basic principles and clinical implications, 7-11 June 2005, Québec City, Québec, Canada, abstract 67.

Integrase inhibitors

- 1/ Cooper DA et al. Subgroup and resistance analyses of raltegravir for resistant HIV-1 infection. N Engl J Med. 2008 Jul 24;359(4):355-65.
- 2/ Malet I et al. Mutations associated with failure of raltegravir treatment affect integrase sensitivity to the inhibitor in vitro. Antimicrob Agents Chemother. 2008 Apr;52(4):1351-8.
- 3/ Hatano H et al. Evolution of integrase resistance during failure of integrase inhibitor-based antiretroviral therapy. J Acquir Immune Defic Syndr. 2010 Aug 1;54(4):389-93.
- 4/ Da Silva D et al. HIV-1 resistance patterns to integrase inhibitors in antiretroviral-experienced patients with virological failure on raltegravir-containing regimens. J Antimicrob Chemother. 2010 Jun;65(6):1262-9
- 5/ Ceccherini-Silberstein F et al. Virological response and resistance in multi-experienced patients treated by raltegravir. XVII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 10-14 June 2008, Sitges, Spain, abstract 18.
- 6/ Waters J et al. Evolution of resistance to the HIV integrase inhibitor (INI) elvitegravir can involve genotypic switching among primary INI resistance patterns. XVII International HIV drug resistance workshop : basic principles and clinical implications, 9-13 June 2009, Fort Myers, Florida, abstract 116.

October 2011- Version n°21

7/Geretti AM et al. Prevalence and patterns of raltegravir resistance in treated patients in Europe. *Antiviral Therapy* 2010; 15 Suppl 2: A62 (abstract 51)

8/Fransen S et al. Comparison of Raltegravir Susceptible and Resistant Viruses Define the Contribution of Secondary Mutations to Reductions in Raltegravir Susceptibility. 17th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infection, San Francisco, CA 16-19 February 2010 (abstract 556).

9/Huang W et al. Identification of alternative amino acid substitutions at HIV-1 integrase codon 143 that confer reduced susceptibility to raltegravir. 18th Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, February 27-March 2, 2011, Boston, USA, abstract 607.

10/ Kobayashi M et al. In Vitro antiretroviral properties of S/GSK1349572, a next-generation HIV integrase inhibitor. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011 Feb;55(2):813-21.

HIV-2

1/ Damond F et al. In vitro phenotypic susceptibility to nucleoside reverse transcriptase inhibitors of HIV-2 isolates with the Q151M mutation in the reverse transcriptase. *Antivir Ther* 2005; 10(7): 861-5.

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

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

4/ Parkin NT et al. Antiretroviral drug resistance in non-subtype B, HIV-2 and SIV. *Antivir Ther* 2004; 9(1): 3-12.

5/ Roquebert B et al. Selection of the Q148R integrase inhibitor resistance mutation in a failing raltegravir containing regimen. *AIDS.* 2008 Oct 1;22(15):2045-6.

6/ Garrett N et al. Raltegravir treatment response in an HIV-2 infected patient: a case report. *AIDS* 2008, 22: 1091-1098.

7/ Charpentier C et al. Hot spots of integrase genotypic changes leading to HIV-2 resistance to raltegravir. *Antimicrob Agents Chemother.* 2011, 55:1293-1295.

RESUME

L'accès au TAR pour tous, demeure un défi majeur et un enjeu stratégique de la lutte contre le VIH. Défi majeur car le prix des traitements reste inabordable pour la grande majorité de ceux qui en ont besoin. Enjeu stratégique car traiter permet de réduire la mortalité des personnes infectées, mais permet aussi d'agir sur l'incidence de la maladie en diminuant le nombre de nouvelles contaminations, notamment par la réduction du risque de transmission mère-enfant. Dans le cadre du programme ESTHER, les laboratoires du CHU pédiatrique Charles De Gaulle de Ouagadougou et celui du CHU Charles Nicolle travaillent dans le but d'améliorer la prise en charge des enfants infectés par le VIH.

L'objectif de notre travail a été de décrire les caractéristiques immuno-virologiques et thérapeutiques et de l'infection à VIH chez les enfants suivis au CHU pédiatrique de Ouagadougou, et de préciser les aspects génotypiques des virus infectant ces malades

Nos résultats montrent que les patients traités ont un taux de suppression virologique de près de 70%, et ce quelle que soit la ligne considérée. Comme attendu, l'état immunologique des patients traités était meilleur que celui des patients non traités. Chez les patients traités en situation d'échec virologique, les mutations de résistance aux INTI montrent une forte prévalence de la M184V et des TAM's. Les mutations de résistance aux INNTI sont nombreuses et confèrent une résistance aux INNTI de première génération très importante. La grande majorité des mutations de résistance aux IP sont des mutations mineures ou polymorphiques.

Mots-clés : VIH, prise en charge pédiatrique, pays à ressources limitées, génotypage de résistance, ESTHER