

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Béjaïa  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-chimique



Filière : Sciences Biologiques  
Option : Génétique Appliquée



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa

Réf :

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme de  
**MASTER**  
Thème

**Suivi virologique des patients  
infectés par le VIH-1 par la  
mesure de la charge virale**

Présenté par : ABDELLI Jugurtha & ADJLANE Racim

Soutenu le : 16 Juin 2015

**Composition du jury:**

Mr. A. TOUATI	Professeur, A-Mira, Bejaia	Président
Mr. D. ATMANI	Professeur, A-Mira, Bejaia	Promoteur
Mme S. BOUZEGHOUB	Professeur, IPA	Co-promotrice
Mlle D. AIT ALI	Maître assistante B, A-Mira, Bejaia	Examinatrice
Mlle S. BENMEHFOUDH	Pharmacienne assistante, IPA	Invitée

Année Universitaire : 2014 / 2015

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Abderrahmane Mira de Béjaïa  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Biologie Physico-chimique



Filière : Sciences Biologiques  
Option : Génétique Appliquée



جامعة بجاية  
Tasdawit n Bgayet  
Université de Béjaïa

Réf :

Mémoire de Fin de Cycle  
En vue de l'obtention du diplôme de  
**MASTER**  
Thème

**Suivi virologique des patients  
infectés par le VIH-1 par la  
mesure de la charge virale**

Présenté par : ABDELLI Jugurtha & ADJLANE Racim

Soutenu le : 16 Juin 2015

**Composition du jury:**

Mr. A. TOUATI	Professeur, A-Mira, Bejaia	Président
Mr. D. ATMANI	Professeur, A-Mira, Bejaia	Promoteur
Mme S. BOUZEGHOUB	Professeur, IPA	Co-promotrice
Mlle D. AIT ALI	Maître assistante B, A-Mira, Bejaia	Examinatrice
Mlle S. BENMEHFOUDH	Pharmacienne assistante, IPA	Invitée

Année Universitaire : 2014 / 2015

## REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire trace la fin d'une aventure vécue tout au long de ce semestre, dans lequel différentes personnes nous ont marquées et accompagnées, dont le compartiment de la mémoire leur avait consacré tout un placard, au sein duquel se sont mémorisées en aval des études, dont le rappel les représente comme deux faces sur une pièce de monnaie. Nous tenons là à remercier vivement :

- **Le Seigneur Dieu** tout puissant, de nous avoir, facilité le chemin du savoir et de la science, fait découvrir la biologie et la génétique en particulier et surtout de nous avoir accordé la chance de préparer notre stage-mémoire au niveau du laboratoire national de référence VIH/SIDA (LNR VIH/SIDA) à l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA).
- **Le Pr. Salima BOUZEGHOUB** : Responsable du LNR VIH/SIDA. Pour son accueil chaleureux au sein du laboratoire, ses précieux conseils et orientations.
- **Le Dr. Nadjet DEBBACHE** : Responsable de la filière génétique appliquée au niveau du département de Biologie Physico-Chimique (BPC) de la Faculté SNV à l'Université de Bejaia. Pour laquelle nous exprimons nos profondes gratitude, pour l'écoute, l'estime et l'intérêt qu'elle accorde à l'étudiant.
- **Le Dr. Soumia BENMAHFOUD** : Pharmacienne assistante en microbiologie à l'IPA. Pour sa disponibilité, ses conseils avisés et précieux et ses critiques constructives, qui nous ont beaucoup aidés dans la préparation et la rédaction de ce mémoire.
- **Les Membres du jury**, qui ont bien voulu accepter de juger ce travail et d'apporter leur contribution scientifique.
- **Mlle. Djamila KHERRAZ** : Secrétaire au département BPC. Merci de nous avoir bien servis, accueillis et traités durant notre cursus universitaire ; avec sa gentillesse, son respect et son sérieux.
- **Mme Souad AIT LARBI** : Secrétaire au service des stages de la Faculté SNV. Pour son accueil et sa préparation de nos dossiers (documents et papiers) des demandes de stage à chaque fois dans les délais, malgré la surcharge de son travail.
- **Milles les Secrétaires** du service des Stages au niveau de l'IPA. Pour leurs accueils et orientations.
- **Mlle Ahlam OUSSALEH** : Collègue, grâce à elle qu'on était mis au courant de ce qu'on nous affiche au département BPC durant toute la période du stage.

Sans oublier toute l'équipe du LNR VIH/SIDA, entre autres ; **Mr Omar, Mr Cherif, Mlle Rime et Mme Assia.** Et tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à l'élaboration de ce travail et dont les noms ne figurent malheureusement pas sur ces pages. Qu'ils trouvent ici le témoignage de notre estime.

## **DÉDICACES**

*À ma mère qui m'a toujours donné le maximum de ce qu'elle pouvait, et qui a tant sacrifié pour nous. Tu m'as épaulé dans les moments difficiles.*

*À ma famille ; Frères (A3rav, Athmane et Hamou), Sœurs (Djidji, Linda et Sabrina) ; mon oncle paternel que j'ai toujours considéré comme un grand-père, pour leur aide, amour, encouragement, soutien et patience.*

*À Vrahèm, ami et compagnon de parcours.*

*À mon oncle maternel et sa famille qui m'ont bien accueillie et hébergée durant la période de ce stage et pour leur générosité et hospitalité aussi.*

*À madame OUSSALEH, d'avoir pensé à moi et de m'avoir encouragé à sa façon.*

*À Ahlam, Rojo, Nacim, Athman, Bob, Amrane, Salem, Houria, Saida et le doctorant Aladin. Compagnons de stylo, dont les noms méritent d'y figurer.*

*Et à tous les patients qui vivent avec le VIH*

***Jugurtha ABDELLI***

## **DÉDICACES**

*Ce travail est dédié à :*

*Mon cher père : « c'est l'occasion pour moi de te remercier pour tous les sacrifices que tu as déployés à l'égard de tes fils ». Toi qui as pu nous former et malgré les moyens limités en traversant toutes les vicissitudes de la vie ; voici venu le moment de profiter du fruit de ce travail qui a été possible grâce à ton amour. Que Dieu vous bénisse et t'accorde une longue vie.*

*Ma chère mère, toi qui m'as donné la vie, toi qui m'as allaité, toi qui as gouverné mes premiers pas. Que Dieu te bénisse, maman et te prête longue vie. Pour tous les sacrifices consentis à mon égard, trouve ici l'occasion de réjouissance.*

*Mon frère, mon oncle, ma tante, et mes cousins, cousines, ce travail est aussi le fruit de votre soutien tout au long de ma formation.*

*Toutes les personnes qui vivent avec le VIH/SIDA et toutes celles qui s'investissent pour leurs causes.*

**Racim ADJLANE**

## TABLE DES MATIERES

<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	<b>1</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	<b>1</b>
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	<b>2</b>
<b>LISTE DES ABREVIATIONS</b> .....	<b>3</b>
<b>INTRODUCTION</b> .....	<b>5</b>
<b>CHAPITRE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE</b> .....	<b>7</b>
I.1- HISTORIQUE.....	8
I.2- PROPRIETES DU VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE.....	9
I.2.1- TAXONOMIE.....	9
I.2.2- STRUCTURE ET ORGANISATION GENOMIQUE DU VIH-1 .....	9
I.2.2.1- STRUCTURE DU VIH-1.....	9
I.2.2.2- ORGANISATION GENOMIQUE DU VIH-1.....	9
I.2.3- VARIABILITE GENETIQUE .....	11
I.2.4- PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES.....	13
I.3- CYCLE DE MULTIPLICATION .....	13
I.3.1- CELLULES CIBLES .....	13
I.3.2- DIFFERENTES ETAPES DU CYCLE DE MULTIPLICATION .....	14
I.4- PHYSIOPATHOLOGIE DE L'INFECTION PAR LE VIH-1 .....	16
I.4.1- MODES DE TRANSMISSION .....	17
I.5- EPIDEMIOLOGIE .....	18
I.5.1- EPIDEMIOLOGIE INTERNATIONALE .....	18
I.5.2- EPIDEMIOLOGIE NATIONALE.....	18
I.6- DIAGNOSTIC DE L'INFECTION .....	19
I.6.1- INDICATIONS DU DIAGNOSTIC .....	19
I.6.2- ETAPES PRE-ANALYTIQUES .....	19
I.6.3- TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC .....	19
I.6.3.1- DIAGNOSTIC INDIRECT .....	19
I.6.3.2- DIAGNOSTIC DIRECT .....	20
I.7- TECHNIQUES DU SUIVI VIRO-IMMUNOLOGIQUE.....	21
I.7.1- LE TAUX DES LYMPHOCYTES T CD4.....	21
I.7.2- CHARGE VIRALE PLASMATIQUE (ARN-VIH) .....	21

I.7.2.1- ETAPES DE LA REVERSE TRANSCRIPTASE DE LA REACTION DE POLYMERISATION EN CHAINE QUANTITATIVE EN TEMPS REEL (Q-RT- PCR EN TEMPS REEL).....	21
I.7.2.2- METHODE AU RESONNANCE FLUORESCENTE PAR TRANSFERT ENERGIE (FRET) .....	22
I.8- TRAITEMENT DE L'INFECTION VIH ET RESISTANCE DU VIH AUX ANTIRÉTROVIRAUX .....	23
I.8.1- INHIBITEURS D'ENTREE .....	24
I.8.1.1- INHIBITEURS ANTAGONISTES DU CORECEPTEUR CCR5 .....	24
I.8.1.2- INHIBITEURS DE FUSION .....	24
I.8.2- INHIBITEURS DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (TI).....	24
I.8.2.1- INHIBITEURS NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INTI) .....	24
I.8.2.2- INHIBITEURS NON NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INNTI) .....	25
I.8.3- INHIBITEURS DE L'INTEGRASE .....	26
I.8.4- INHIBITEURS DE LA PROTEASE (IP).....	26
I.8.5- INDICATIONS THERAPEUTIQUES .....	26
I.8.6- SUIVI BIOLOGIQUE DE L'INFECTION VIH .....	27
I.8.7- LIMITES DU TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL (ARV).....	27
I.8.8- PREVENTION.....	27
<b>CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES.....</b>	<b>28</b>
II.1- MATERIELS .....	29
II.1.1- TYPE D'ETUDE .....	29
II.1.2- ECHANTILLONS BIOLOGIQUES .....	29
II.1.3- PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS.....	29
II.1.4- TRANSPORT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS .....	29
II.1.5- POPULATION D'ETUDE .....	29
II.2- METHODES .....	32
II.2.1- APPAREILS ET SYSTEMES AUTOMATIQUES UTILISES.....	32
<b>CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS.....</b>	<b>37</b>
III.1- RESULTATS .....	38
III.1.1- FREQUENCES DE LA MESURE DE LA CHARGE VIRALE.....	38

III.1.2- RESULTAT GLOBAL DE LA CHARGE VIRALE SELON LES CARACTERISTIQUES SOCIODEMOGRAPHIQUE.....	38
III.1.2.1- REPARTITION DE LA CHARGE VIRALE SELON L'ORIGINE .....	38
III.1.2.2- REPARTITION DE LA CHARGE VIRALE SELON LE SEXE.....	39
III.1.2.3- REPARTITION DE LA CHARGE VIRALE SELON L'AGE.....	40
III.1.3- EVALUATION DE LA CHARGE VIRALE DES PATIENTS VIH APRES TRAITEMENT .....	41
III.2- DISCUSSION .....	44
<b>CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>49</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>50</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>56</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b> : Organisation schématique du VIH-1 .....	10
<b>Figure 02</b> : Organisation du génome du VIH-1 .....	11
<b>Figure 03</b> : Répartition dans le monde des principaux sous-types et CRF du VIH-1 .....	12
<b>Figure 04</b> : Etapes du cycle de réplication du VIH-1 .....	15
<b>Figure 05</b> : Cinétique d'apparition des marqueurs viraux de l'infection VIH-1 .....	16
<b>Figure 06</b> : Nombre de personnes vivantes avec le VIH-1 en 2013 .....	18
<b>Figure 07</b> : Modèle de fluorescence utilisé pour la PCR en temps réel «Chimie TaqMan» ....	23
<b>Figure 08</b> : Antirétroviraux disponibles en 2009: Cibles, classes thérapeutiques et molécules .....	23
<b>Figure 09</b> : Appareil Abbott Real Time HIV-1 .....	32
<b>Figure 10</b> : Appareil Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan v 2.0 .....	33
<b>Figure 11</b> : Principe de cycle seuil (Ct) .....	35
<b>Figure 12</b> : Répartition des fréquences des charges virales selon l'origine sanitaire .....	39
<b>Figure 13</b> : Répartition des fréquences des charges virales selon le sexe .....	40
<b>Figure 14</b> : Répartition des fréquences des charges virales selon l'âge .....	41
<b>Figure 15</b> : Evolution par année du nombre de PVIH en fonction du sexe .....	46

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Répartition de la population selon l'âge et le sexe .....	30
<b>Tableau II</b> : Répartition des 594 patients VIH (+) selon les wilayas et les régions sanitaires .....	31
<b>Tableau III</b> : Comparaison entre les deux appareils de la mesure de charge virale du VIH-1 .....	36
<b>Tableau IV</b> : Fréquences de la charge virale des PVIH en Algérie .....	38
<b>Tableau V</b> : Fréquences des charges virales des PVIH en Algérie selon l'origine sanitaire ..	38
<b>Tableau VI</b> : Fréquences des charges virales des PVIH en Algérie selon le sexe .....	39
<b>Tableau VII</b> : Fréquences des charges virales des PVIH en Algérie selon l'âge .....	40
<b>Tableau VIII</b> : Molécules antirétrovirales .....	42
<b>Tableau IX</b> : Fréquences des antirétroviraux prescrits pour les patients traités .....	43
<b>Tableau X</b> : Moyenne de la charge virale chez les PVIH naïfs et traités .....	44

<b>Tableau XI</b> : Evolution de la charge virale selon la durée du traitement .....	44
--	----

## **LISTE DES ANNEXES**

<b>ANNEXE 01</b> : Classification de l'infection par le VIH .....	54
<b>ANNEXE 02</b> : Fiche technique du prélèvement pour charge virale du VIH-1 .....	55
<b>ANNEXE 04</b> : Représentation des trois premiers cycles d'une PCR .....	56
<b>ANNEXE 03</b> : Rapport AMPLILINK, Cobas TaqMan 48 .....	57

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

**Ac** : Anticorps.

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique.

**AES** : Accident d'Exposition au Sang.

**Ag** : Antigène

**ARN** : Acide Ribonucléique.

**ARV** : Antirétroviraux.

**CA** : Capside.

**CCR5** : Cysteine-Chemokine Receptor type 5.

**CDC** : Center's for Disease Control.

**CDR** : Centre de référence de prise en charge de l'infection VIH.

**CMV** : Cytomégalovirus.

**CRF** : Circulating Recombinant Forms.

**CV** : Charge Viral.

**CXCR4** : Cysteine-Chemokine Receptor type 4.

**Env** : Glycoprotéines d'Enveloppe.

**FP** : Peptide de Fusion.

**Gene gag** : Group Specific Antigen.

**Gene env** : Gène de l'enveloppe.

**Gene pol** : Gène de la polymérase.

**IN** : Intégrase.

**INNTI** : Inhibiteur(s) Non Nucléosidique(s) de la Transcriptase Inverse.

**INTI** : Inhibiteur(s) Nucléosidique(s) de la Transcriptase Inverse.

**IP** : Inhibiteur(s) de Protéase.

**LNR VIH/SIDA** : Laboratoire National de Référence de l'infection VIH/SIDA.

**LT** : Lymphocyte T.

**LTR** : Long Terminal Repeat.

**MA** : Matrice.

**NC** : Nucléoprotéine.

**ONUSIDA** : Organisation des Nations Unies sur le VIH/SIDA.

**ORF** : Open Reading Frames.

**PVIH** : Patients VIH.

**PR** : Protéase.

**RT-PCR** : Reverse Transcriptase de la Réaction de Polymerisation en Chaîne.

**SU** : Surface protein.

**TI** : Transcriptase Inverse.

**TM** : Transmembranaire.

**TME** : Transmission Mère Enfant.

**VIH** : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

**Vpr** : Virion Protein R.

## INTRODUCTION

Le VIH-1, virus de l'immunodéficience humaine de type 1, est l'agent étiologique du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) (**Barré-Sinoussi *et al.*, 1983; Charpentier *et al.*, 2011**). L'infection par le VIH-1 reste un problème mondial de la santé publique, depuis le début de l'épidémie environ 78 millions de personnes ont été infectés et 39 millions de personnes sont décédés de maladies liées au SIDA. Selon les dernières statistiques de l'Organisation des Nations Unies sur le VIH/SIDA (ONUSIDA), 35 millions est le nombre de sujets estimés vivants avec le VIH, dont 70,57 % vivent en Afrique subsaharienne. Cependant, le suivi biologique et virologique des patients vivants avec le VIH (PVIH) et l'arrivée de nouvelles molécules de la thérapeutique antirétrovirale (ARV) avait réduit en 2013, le nombre de décès liés au SIDA de 35% depuis le pic de 2005 : 2,4 millions de PVIH décédés (**UNAIDS, 2014**). À l'instar des autres pays, l'Algérie avait recensé un nombre de 9312 PVIH depuis l'apparition du premier cas en 1986 jusqu'au 31 mars 2015: 1586 cas de SIDA et de 7726 cas de personnes séropositives asymptomatiques (**LNR VIH/SIDA**).

Pour suivre l'évolution de la maladie et l'efficacité du traitement, la mesure de l'acide ribonucléique plasmatique du VIH (ARN VIH) à une valeur prédictive, quant à la vitesse de progression de la maladie et dont la variation sous traitement permet de prévoir l'efficacité à long terme de celui-ci. Des études ont montré qu'un impact significatif sur la survie est associé à l'obtention d'un niveau d'ARN VIH au-dessous du seuil de 50 copies par ml de plasma (charge virale indétectable). Le nombre de lymphocytes CD4 (LT CD4) reflète l'importance de la destruction du système immunitaire par le VIH. Prévenir leur diminution et restaurer un nombre > 350/mm<sup>3</sup> sont les objectifs du traitement. C'est également en fonction du nombre de lymphocytes CD4 que sera instauré un traitement prophylactique des infections opportunistes (**Vincent *et al.*, 2008**).

En Algérie, 4203 PVIH adultes ont reçu des ARV en 2013 contre 3396 en 2012 soit une augmentation de 37%. L'effectif des PVIH suivis dans les 10 centres de référence (CDR) pour la prise en charge de l'infection VIH que compte le pays n'a cessé d'évaluer depuis l'introduction universelle et gratuite des ARV en mars 1998 (Il a doublé entre 2010 et 2013). L'augmentation régulière de la file active sous traitement ARV témoigne de l'augmentation de l'espérance de vie et de la qualité globale de la prise en charge de l'infection VIH (**Ministère de la Santé, 2013**).

Des échecs thérapeutiques ont été rapidement observés après la mise en place de ces traitements. En pratique, ces échecs peuvent être cliniques (apparition de maladies opportunistes), immunologiques (Baisse du taux des LT CD4) ou virologiques (augmentation de la charge virale VIH). L'échec virologique peut avoir plusieurs causes, dont la résistance du VIH-1 aux ARV ou problème de mauvaise observance du traitement (**Ministère de la Santé, 2010**).

Aucune étude de surveillance virologique concernant les PVIH Algériens n'a été menée en Algérie. Il n'existe pas de données relatives au suivi virologique par la mesure de la charge virale (CV) VIH-1 chez les naïfs et aussi chez les traités aux ARV. C'est pourquoi, il nous a paru intéressant d'entreprendre cette étude rétrospective et prospective d'ordre épidémiologique concernant le suivi virologique des PVIH Algériens sous traitement ARV, ce travail vise essentiellement à analyser la CV des PVIH suivis en Algérie, et étudier l'échec virologique au traitement ARV. Une surveillance virologique continuée de la CV VIH-1 apparaît fondamentale pour évaluer l'efficacité thérapeutique chez les PVIH Algériens et évaluer l'évolution de la maladie dans le temps.

## CHAPITRE I: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

## I.1- HISTORIQUE

En 1981, une maladie inconnue se propage à Los Angeles aux États-Unis. Une épidémie inhabituelle de pneumonies observée chez des jeunes homosexuels, qui présentaient un effondrement de taux des LT CD4 (LT auxiliaires). Le «Center's for Diseases Control» (CDC) confirme cette émergence; en plus de pneumonies, les sujets présentaient d'autres signes liés à l'immunodépression, tels que des toxoplasmoses cérébrales, encéphalites à cytomégalovirus (CMV), pneumonies à CMV, et sarcomes de Kaposi. La survenue de ces manifestations dites opportunistes et/ou des cancers apparaissant à la suite d'une immunodépression va conduire l'année suivante en 1982 à utiliser le terme «Acquired Immune Deficiency Syndrome» (AIDS) pour désigner ce syndrome (**Fleury, 2009; Roche, 2010**).

En 1983, l'agent causal a été identifié par l'équipe Montagnier à l'Institut Pasteur de Paris, qui a isolé pour la première fois à partir de cellules d'un ganglion le virus responsable du SIDA (**Barré-Sinoussi et al., 1983; Fleury, 2009; Tournier et al., 1995**).

Le virus originellement appelé «Lymphadenopathy Associated Virus» (LAV) en relation avec la présence de polyadénopathies persistantes, puis «Human T Leukemia Virus-III» (HTLV- III) (**Gallo et al., 1984; Vincent et al., 2008**). Actuellement, il est dénommé le virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1) (**Lu et Essex, 2001; Passaes et Sáez-Ciri3n, 2014**).

Dès 1984, les premiers cas du SIDA en Afrique subsaharienne chez des hommes et des femmes hétérosexuels furent rapportés (**Etienne et Peeters, 2010**). L'épidémie s'est étendue alors progressivement aux régions à l'ouest et au sud de l'Afrique (**Lot et Semaille, 2006**).

Les chercheurs estiment que le virus a dû émerger entre 1884 et 1924 : des études phylogénétiques comparatives d'un isolat datant de 1959 (isolat ZR 59) retrouvé dans l'ancien Hôpital général de Léopoldville (aujourd'hui, Kinshasa, République démocratique du Congo) avec d'autres séquences virales déjà déterminées datant de la fin des années 1950 montrent une divergence déjà significative d'environ 12 % impliquant ainsi un ancêtre commun datant de plusieurs dizaines d'années (**Worobey et al., 2008**). L'apparition du VIH serait le résultat du passage du virus de l'immunodéficience simienne (VIS) à l'Homme probablement produit au contact du sang des singes pendant la chasse. Une adaptation à leur nouvel hôte aurait donné les VIH actuels (**Roquebert et al., 2009**). La structure génomique du VIS est proche de celle du VIH avec quelques différences au niveau des gènes de régulation, ajouté à cela l'existence de liens de parenté phylogénétique, une prévalence des VIS chez leurs hôtes naturels, et d'une coïncidence géographique (**Vessière et al., 2010**).

## I.2- PROPRIETES DU VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE

### I.2.1- TAXONOMIE

Le VIH appartient à la famille des Retroviridae, caractérisée par la présence d'une transcriptase inverse (TI), à la sous-famille des Orthoretrovirinae, et au genre Lentivirus, du latin « lentis » (*slow*) dû à la progression lente des effets pathologiques (Acheson et Beard, 2011; Huraux, 2003; Modrow *et al.*, 2013).

### I.2.2- STRUCTURE ET ORGANISATION GENOMIQUE DU VIH-1

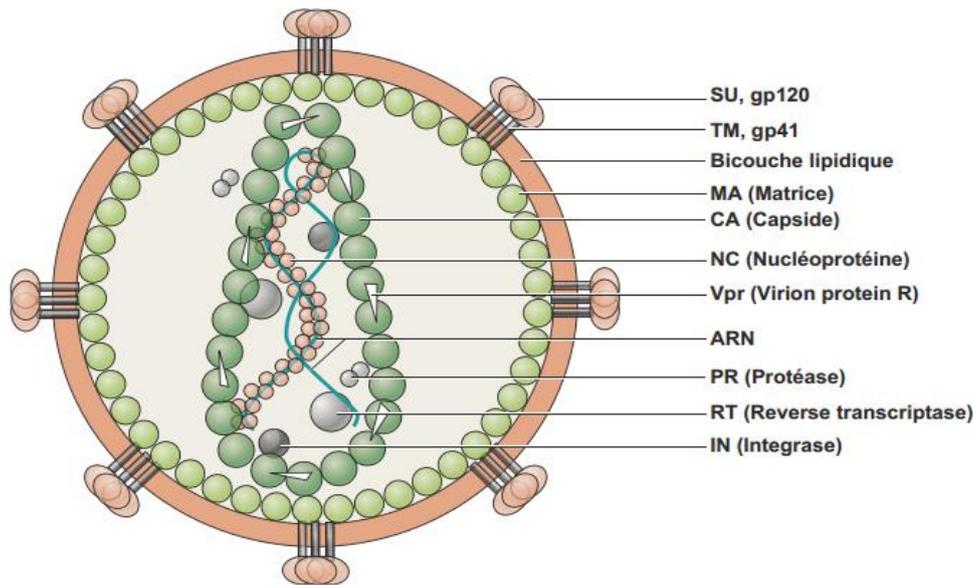
#### I.2.2.1- STRUCTURE DU VIH-1

Les particules virales ont un aspect globalement sphérique avec un diamètre d'environ 100 à 130 nm (Fleury, 2009; Karsten et Pöhlmann, 2014; Pornillos et Ganser-Pornillos, 2014). Entourées d'une enveloppe d'origine cellulaire dans laquelle sont insérées des glycoprotéines de surface (SU, gp120) et transmembranaires (TM, gp41) formant ainsi des spécules. À l'intérieur du virion se trouvent les protéines de structure (Figure 01):

La matrice (MA ou p18) qui tapisse la face interne de l'enveloppe, la capsid (CA ou p24) icosaédrique (en forme de trapèze) et la nucléoprotéine (NC ou p7) associée aux acides ribonucléiques (ARN), les protégeant ainsi de l'activité des enzymes cellulaires (Amiel et Schneider, 2010; Charpentier *et al.*, 2011; Lu et Essex, 2001). L'ensemble ARN-CA est appelé nucléocapside ou core (Fleury, 2009). Le virion contient aussi quelques copies de protéines régulatrices; la protéine Vpr (Virion Protein R) de 96 acides aminés (14 kDa) au nombre de 10 à 100 molécules par virion, qui semblent jouer un rôle important en augmentant et améliorant le taux de réplication (Acheson et Beard, 2011; Hérate *et al.*, 2015). Ces protéines sont associées au génome viral et aux trois enzymes virales nécessaires à la réplication : la protéase (PR ou p51/66), la transcriptase inverse (TI ou p11) et l'intégrase (IN ou p32) (Amiel et Schneider, 2010).

#### I.2.2.2- ORGANISATION GENOMIQUE DU VIH-1

Le génome se présente sous forme de deux molécules identiques d'ARN simple brin, linéaires et de polarité positive (+), d'une longueur de 8,2 à 10,6 kb (Lu et Essex, 2001). Comme tous les Rétrovirus, il est constitué de trois gènes classiques: *gag* (Group Specific Antigen), *pol* (Polymérase), et *env* (Enveloppe), codant pour des polyprotéines qui doivent subir une étape



**Figure 01 - Organisation schématique du VIH-1 (Modifiée d'après Acheson et Beard, 2011).**

de maturation protéolytique; précurseur *gag* (p53), *pol* (p160) et *env* (p160) (**Charpentier et al., 2011**).

- *gag*, codant les protéines de structure (MA, CA, NC)
- *pol*, codant les protéines enzymatiques (PR, TI, et IN)
- *env*, codant les glycoprotéines (gp120, gp41).

Ce qui caractérise le génome du VIH-1, c'est la présence d'un grand nombre d'ORF (*Open Reading Frames*): *tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpu*, et *nef*, codant pour des petites protéines régulatrices, responsables de la complexité de l'organisation génétique du VIH (**Charpentier et al., 2011; Kirchhoff, 2014**). Les protéines régulatrices Tat (Trans-Activator of Transcription) et Rev (Regulator of Expression of Virion Proteins) sont indispensables à la réplication virale, et les protéines accessoires Nef (Negative Regulator Factor), Vif (Virion Infectivity Factor), Vpr, Vpu (Viral Protein U) et Vpx modulent la réplication (**Hérate et al., 2015**). Le génome viral est flanqué de chaque côté par des séquences répétées appelées LTR (Long Terminal Repeats) (Figure 02) (**Kirchhoff, 2014**).

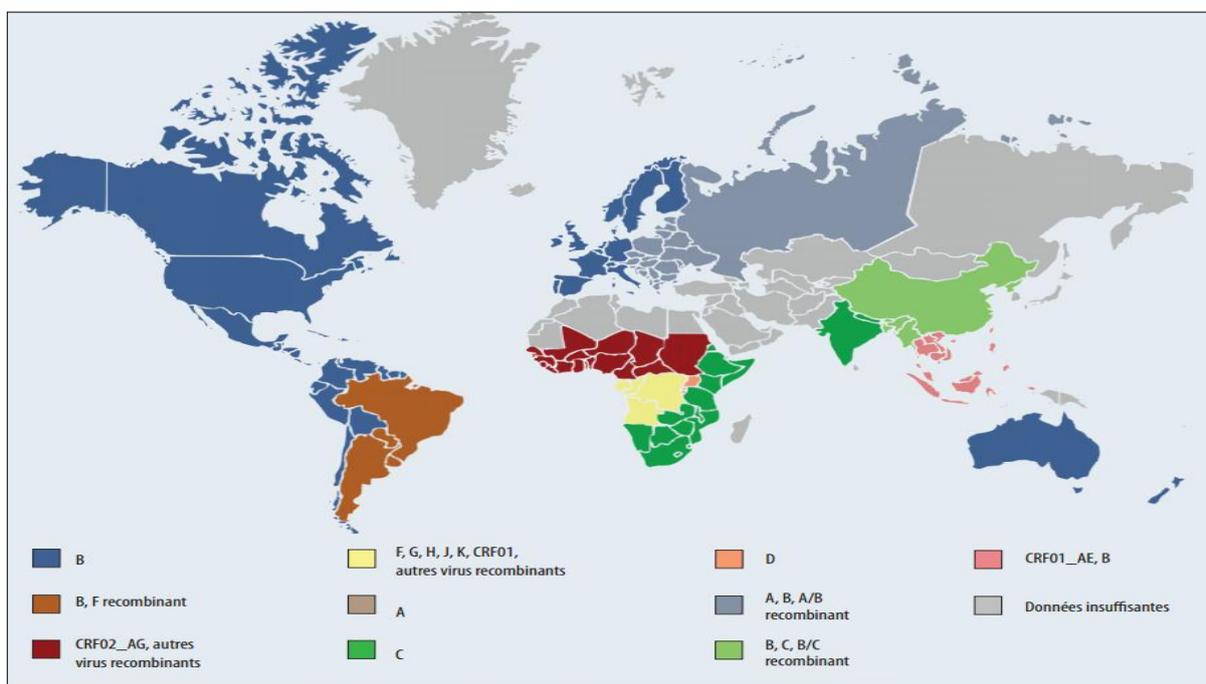


Le VIH-1 est actuellement subdivisé en quatre groupes sur la base de leurs séquences nucléotidiques : le groupe Majoritaire (M), le groupe Outlier (O), le groupe N (non-M–non-O), et le groupe P, découvert en 2009 (**Brun-Vézinet et Charpentier, 2013; Plantier et Simon, 2011**).

Le VIH-1 groupe M est actuellement subdivisé en neuf sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J, K), le sous-type A est subdivisé en sous-sous-type A1 à A4, et pour le sous-type F est lui-même subdivisé en sous-sous-type F1 et F2 (**Brun-Vézinet et Charpentier, 2013**).

Il existe environ 54 formes recombinantes appelées CRF (*Circulating Recombinant Forms*) décrites entre les sous-types, et plus de 200 formes recombinantes ne correspondant pas à ces critères de classification appelées URF (*Unique Recombinant Forms*) (**Fleury, 2011; Hemelaar, 2013**).

Bien que ces différents variants soient tous responsables de la même infection chez l'Homme, ils présentent des caractéristiques phylogénétiques, virologiques et épidémiologiques propres à chacun d'entre eux, et la répartition géographique est différente d'un continent à l'autre. Au niveau mondial, les variants du sous type non B représentent au moins 90 % des virus circulants (Figure 03) (**Fleury, 2011; Plantier et Simon, 2011; Roquebert et al., 2009**).



**Figure 03** - Répartition dans le monde des principaux sous-types et CRF du VIH-1 (**Fleury, 2011**).

Il existe une conservation relative des gènes *gag* et *pol* où prédominent les mutations ponctuelles, et une grande variabilité du gène *env* où les délétions, insertions et/ou duplications

dominant. La différence des séquences nucléotidiques du gène *env* entre les sous-types est au moins de 20% (20 à 30%, en général). À l'intérieur d'un même sous-type, les divergences sont de l'ordre de 05 à 20%. Cette hypervariabilité de l'enveloppe engendrant une diversité des souches virales ne peut résulter que d'un long processus de mutations (**Roquebert et al., 2009; Tournier et al., 1995**).

#### **I.2.4- PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES**

Comme la plupart des virus enveloppés, le VIH est un virus fragile, qui peut être inactivé par l'alcool éthylique à une concentration de 70%, les produits à base de phénol à 5%, l'hypochlorite de soude (eau de Javel) à 10 %, les iodophores (antibiotiques, qui influent sur le transport des ions à travers les membranes cellulaires) et les désinfectants à base d'aldéhyde à une concentration de 0,5 à 02%.

L'activité du virus n'est plus détectable après chauffage à 56°C pendant 30 minutes, ou à 120°C pendant 15 minutes. En revanche, les rayons ultra-violets sont sans effet (**Vaubourdolle, 2007**).

### **I.3- CYCLE DE MULTIPLICATION**

#### **I.3.1- CELLULES CIBLES**

Bien qu'il puisse infecter la plupart des cellules humaines, le VIH est un virus lymphotrophique qui se fixe préférentiellement sur les cellules présentant un récepteur CD4 (**Roche, 2010**). Il existe deux types de cellules-cibles:

Les LT CD4+ dans lesquels le VIH se réplique rapidement, et les cellules présentatrices d'antigène (Ag) où le VIH se réplique peu, comme les cellules de la lignée monocyttaire et macrophagique, ainsi que les cellules dendritiques (**Vincent et al., 2008**).

Les monocytes-macrophages jouent un rôle important dans la dissémination du virus au cerveau et à d'autres organes, puisque les monocytes possèdent la capacité de migrer dans les différents tissus et se différencient par la suite en macrophages tissulaires matures: les cellules microgliales dans le cerveau, les cellules de Langerhans de la peau, les cellules de Kupffer dans le foie, les macrophages alvéolaires dans les poumons ou muqueux dans l'intestin ou le vagin (**Bergamaschi et al., 2011; Fleury, 2009**).

Les cellules de Langerhans et les cellules dendritiques jouent un rôle crucial dans la transmission du virus au niveau des muqueuses génitales (**Lawrence et al., 2009**).

### I.3.2- DIFFERENTES ETAPES DU CYCLE DE MULTIPLICATION

- **Attachement**

Le virus utilise les Env (glycoprotéines d'enveloppe) comme une clef pour se fixer et s'introduire à l'intérieur des cellules-cibles (Figure 04). La gp120 fixe l'Ag CD4 sur une cellule-cible, cette liaison CD4-gp120 (de très haute affinité) entraîne un changement conformationnel de la gp120, qui permet à une région spécifique de cette protéine (la boucle V3) de se fixer à des corécepteurs «Cysteine-Chemokine Receptor type 4 ou 5» (CXCR4 ou CCR5) à la surface de la membrane cellulaire, et sur la base de l'utilisation d'un co-récepteur plutôt qu'un autre, un virus est dit de tropisme R5 (CCR5) ou X4 (CXCR4) (**Charpentier et al., 2011; Karsten et Pöhlmann, 2014**).

- **Pénétration par fusion**

Cette interaction entre la gp120 et le corécepteur met en contact la gp41 du virus, qui contient un peptide de fusion (FP) hydrophobe et deux régions en hélice (HR1 et HR2) avec la membrane cellulaire. Une fois le FP inséré dans la membrane, les régions HR1 et HR2 changent de conformation et conduisent ainsi, à la formation d'une structure à six hélices. Cette structure crée un canal dans la membrane cellulaire permettant l'injection de la capsid virale dans le cytosol et il en résulte une fusion entre l'enveloppe virale et la membrane de la cellule hôte (**Charpentier et al., 2011; Green et Peterlin, 2008; Lu et Jiang, 2014**).

- **Réplication et décapsidation**

Une fois entré dans la cellule, l'ARN viral (encore associé à des protéines de capsid) est converti en acide désoxyribonucléique (ADN) double brin par le complexe de rétrotranscription (**Arhel et Charneau, 2009; Bergamaschi et al., 2011; Charpentier et al., 2011**).

L'achèvement de la rétrotranscription conduit à la décapsidation et la formation du complexe de préintégration (PIC) avec des protéines (dont la Vpr). Le PIC se déplace sur les microtubules par glissement vers le noyau, pour enfin s'amarrer aux pores nucléaires où il est transloqué, grâce à l'interaction de la Vpr avec les protéines du pore nucléaire et par la suite intégré dans l'ADN chromosomique grâce à l'IN virale (**Arhel et Charneau, 2009; Green et Peterlin, 2008; Modrow et al., 2013**).

- **Intégration**

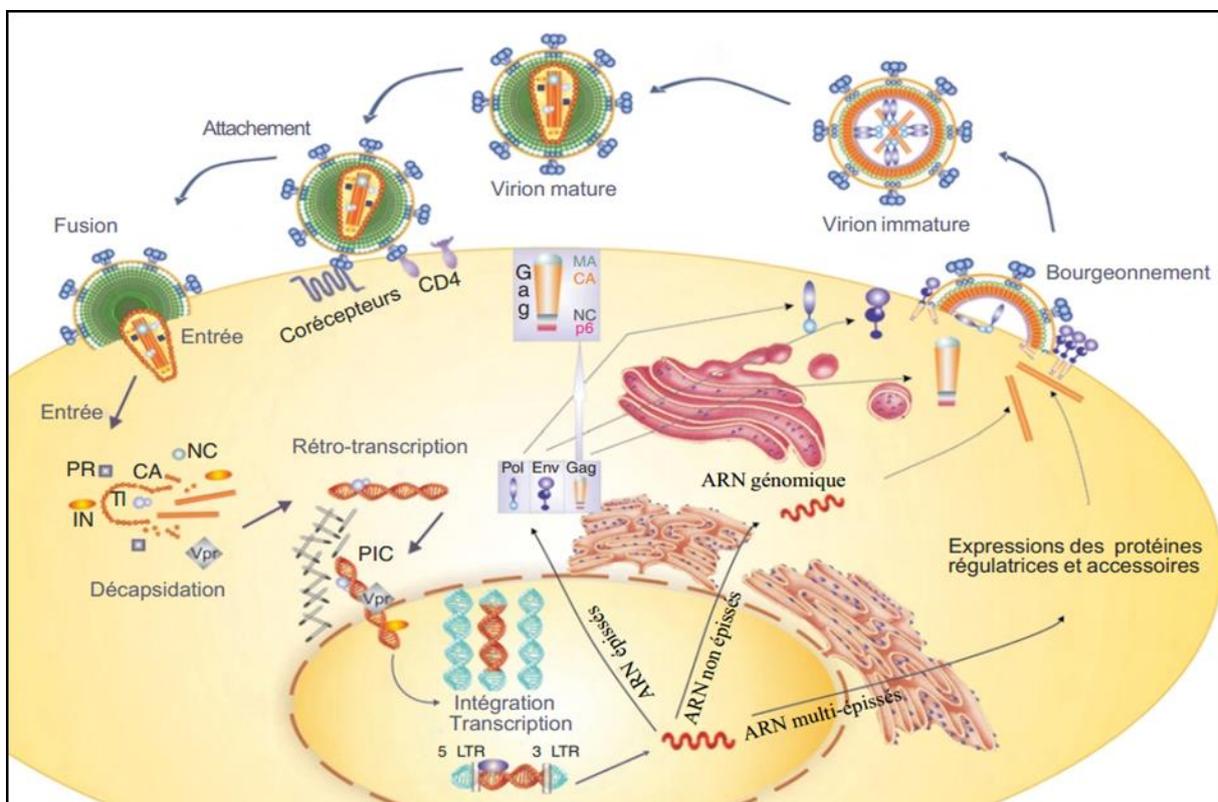
L'IN codée par le génome viral catalyse cette réaction, grâce à ses deux activités enzymatiques principales (la réaction de maturation des extrémités 3'-OH de l'ADN viral et le transfert de brin) permettant l'intégration concertée de l'ADN viral dans le génome de la cellule hôte. Ensuite vient la ligation dernière étape du processus d'intégration, réalisée par des protéines cellulaires (**Beauclair et al., 2012; Ciuffi et Bushman, 2014**).

- **Transcription et traduction**

Une fois intégré, l'ADN proviral est transcrit par une enzyme cellulaire (l'ARN polymérase II) à partir du 5' LTR où se trouve le promoteur, en ARN messagers (épissés), qui permettent la production de protéines virales et ARN génomique (non épissé) pour permettre la formation de nouvelles particules virales (**Bergamaschi et al., 2011; Charpentier et al., 2011**).

L'un des premiers ARNm transcrits code pour le gène régulateur *tat*, qui permet une génération d'ARNm plus longs, et par l'épissage alternatif (**Kirchhoff, 2014**):

- ARN non épissés (9 kb): produisant les protéines précurseurs Gag et Gag-Pol.
- ARN épissés (4 kb): codant les protéines Vif, Vpr, Vpu, et Env.
- ARN multi-épissés (2 kb): codant les protéines régulatrices Tat, Rev, and Nef.



**Figure 04 - Etapes du cycle de réplication du VIH (Modifiée d'après Votteler et Schubert, 2008).**

- **Assemblage, libération par bourgeonnement et maturation**

La polyprotéine Env va être clivée par une protéase cellulaire en deux protéines d'enveloppe (gp120 et gp41) qui seront glycosylées par les enzymes de la cellule (**Charpentier et al., 2011**). Les précurseurs Gag et Gag/Pol se fixent sous la membrane plasmique, l'accumulation et la multimérisation des protéines Gag sous la surface cellulaire entraînent la déformation de celle-ci, jusqu'à l'obtention d'une vésicule qui bourgeonne vers le milieu extérieur, puis se sépare de la cellule (**Jouvenet, 2009; Kirchhoff, 2014**).

Au moment du bourgeonnement, la polyprotéine Gag-Pol va être clivée par la PR virale pour donner les protéines constitutives internes du virus et ses trois enzymes. Cette étape de clivage est appelée maturation (**Charpentier et al., 2011**).

#### I.4- PHYSIOPATHOLOGIE DE L'INFECTION PAR LE VIH-1

Le VIH s'attaque aux cellules du système immunitaire et les détruit ou les rend inefficaces et rend la personne infectée sensible à de nombreuses pathologies. Aux premiers stades de l'infection, le sujet ne présente pas de symptômes. Cependant, l'évolution de l'infection entraîne un affaiblissement du système immunitaire (immunodépression) et une vulnérabilité accrue aux infections opportunistes (**Depiesse, 2009**).

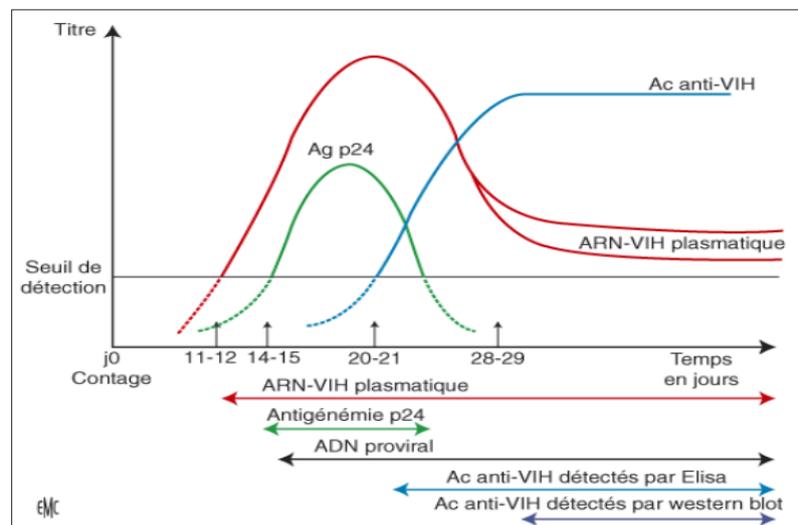
L'infection par le VIH évolue schématiquement en trois phases : la primo-infection, le stade précoce et le stade avancé (SIDA) (**Vincent et al., 2008**):

- **La primo-infection**

Période d'installation du VIH dans l'organisme, entraînant l'infection des cellules-cibles du système immunitaire, survenant 15 à 30 jours après la contamination, elle est symptomatique dans 30 à 70% des cas avec un syndrome pseudo-grippal ou mononucléosique (**Greder Belan, 2009; Roche, 2010; Vincent et al., 2008**).

Les examens diagnostiques précoces sont la mesure de l'ARN VIH plasmatique et/ou la recherche de l'antigénémie p24. Pendant cette phase, la quantité de l'ARN viral plasmatique est souvent très élevée, pouvant atteindre plusieurs millions de copies /ml.

À ce stade, la sérologie VIH est encore négative (Figure 05). La présence et la sévérité



**Figure 05 - Cinétique d'apparition des marqueurs viraux de l'infection VIH (Amiel et Schneider, 2010).**

de cette phase clinique initiale sont corrélées à la rapidité d'évolution ultérieure. La sérologie VIH se positive dans un délai d'un mois suivant la contamination (**Roche, 2010; Vincent et al., 2008**).

- **Le stade précoce**

C'est la phase de latence clinique (**Gluckman, 1996**). Caractérisée par des manifestations mineures, qui s'accompagnent d'une perte moyenne des LT CD4 circulants (**Roche, 2010; Vincent et al., 2008**).

Les sujets infectés ont une vie quasi normale durant cette période, 07 à 10 ans en moyenne s'écoulent sans signe clinique, puis apparaissent des symptômes mineurs, non spécifiques, comme une candidose buccale, zona, herpès. En l'absence du traitement ARV, surviennent les maladies définissant le SIDA (**Greder Belan, 2009; Roche, 2010**).

- **Le stade avancé**

Ce stade correspond à un degré d'immunodépression important reflété par le taux des LT CD4, qui favorisent l'émergence des infections opportunistes (pneumocystoses, candidoses œsophagiennes, toxoplasmoses cérébrales, tuberculoses pulmonaires et extrapulmonaires, rétinite à CMV, cryptosporidiose, etc...) et /ou tumorale (le sarcome de Kaposi, et lymphome) (**Cauquil et al., 2014; Greder Belan, 2009; Roche, 2010**).

Sans traitement, le temps médian entre la séroconversion et la survenue du SIDA est estimé, selon des études, entre 08 et 13 ans, et la progression vers le décès survient rapidement avec une médiane de survie de 09 mois si toujours pas de traitement (**Vincent et al., 2008**).

La progression de l'infection au VIH est décrite selon deux classifications fondées sur les manifestations cliniques et les anomalies biologiques (Annexe 01): une classification selon le CDC, modifiée en 1993, et une autre proposée par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) (**Roche, 2010**).

#### **I.4.1- MODES DE TRANSMISSION**

Le VIH a été isolé principalement dans le sang, le sperme et les sécrétions vaginales des personnes infectées, ainsi que dans le lait et les liquides pleuraux, amniotiques, broncho-alvéolaires ou cérébrospinaux. Il a aussi été retrouvé dans d'autres liquides biologiques; la salive, les larmes et les urines, mais en faible concentration (**Fleury, 2009**).

C'est pourquoi les principaux modes de transmission du VIH sont :

- Les rapports sexuels (hétérosexuels ou homosexuels) par contact entre les sécrétions sexuelles et les muqueuses (**Eberhard et al., 2005; Lawrence et al., 2009; Lot et Semaille, 2006**).
- La transmission par le sang en cas de transfusion, transplantation, insémination artificielle ou accident d'exposition au sang (AES) (**Roche, 2010**).

- La transmission de la mère à l'enfant (TME) pendant la grossesse par voie transplacentaire via les macrophages placentaires, au cours de l'accouchement ou lors de l'allaitement avec un risque majeur si la quantité de virus est importante (une charge virale élevée) (Frange et Blanche, 2014; May et May, 2011).

En revanche, il est à noter qu'il n'y a jamais eu à ce jour des cas de transmission reliés à la salive et aux larmes. De même, l'hypothèse d'une transmission du VIH par le moustique a été infirmée (Fleury, 2009).

## I.5- EPIDEMIOLOGIE

### I.5.1- EPIDEMIOLOGIE INTERNATIONALE

Trente-quatre ans après l'apparition de premiers cas du SIDA, le nombre de sujets vivants avec le VIH est estimé par l'ONUSIDA de 35 millions de cas, dont 24,7 millions vivants en Afrique subsaharienne (Figure 06) (Castel *et al.*, 2015). Le nombre de décès annuels lié au SIDA diminue régulièrement à travers le monde : d'un pic de 2,4 millions en 2005, à un chiffre estimé à 1,5 million en 2013 et, les nouvelles infections VIH ont chuté de 38% depuis 2001 (UNAIDS, 2014).



**Figure 06** - Nombre de personnes vivants avec le VIH-1 en 2013 (Modifiée d'après WHO, 2015).

### I.5.2- EPIDEMIOLOGIE NATIONALE

L'Algérie reste un pays à faible prévalence pour l'infection VIH 0,01% (Bouzeghoub, 2007). Selon le laboratoire national de référence de l'infection VIH/SIDA (LNR VIH/SIDA), le nombre cumulé depuis l'apparition du premier cas en 1986 jusqu'au 31 mars 2015, est de 1586 cas de SIDA et 7726 cas de personnes séropositives asymptomatiques.

Les données de la notification par le LNR VIH/SIDA ne représentent pas la totalité des personnes infectées par le VIH ou atteintes du SIDA. En effet depuis quelques années, plusieurs laboratoires font la confirmation du VIH à leur niveau, sans envoyer l'information au LNR VIH/SIDA qui est chargé de la notification des cas. Par conséquent, les chiffres rapportés sont sous-estimés et ne reflètent que partiellement l'ampleur et le ravage que cause cette infection. La voie de contamination rapport hétérosexuel constitue le mode de transmission prédominant, la tranche d'âge la plus touchée se situe entre 25- 39 ans, avec une légère hétérogénéité entre les deux sexes, soit une sex-ratio de 1,18 (LNR VIH/SIDA).

## **I.6- DIAGNOSTIC DE L'INFECTION**

### **I.6.1- INDICATIONS DU DIAGNOSTIC**

Le diagnostic du VIH est demandé dans le cadre d'un bilan pré-nuptial, pré-natal et pré-opératoire, en cas de rapports sexuels (non protégés ou avec des partenaires multiples), apparition de signes d'une primo-infection ou de stade SIDA, incarcération, d'AES , à l'occasion d'un don de sang et suivi des sujets ayant reçu des produits sanguins, dons de sperme, d'organe, de tissu ou de lait maternel et ainsi que chez, les nourrissons nés d'une mère séropositive (Amiel et Schneider, 2010; Ktorza, 2008).

### **I.6.2- ETAPES PRE-ANALYTIQUES**

Les étapes précédant l'analyse virologique proprement dite sont essentielles pour la réussite du diagnostic. Elles consistent à définir précisément la nature de l'échantillon biologique à étudier (sang total, liquide claviculaire, plasma ou sérum), et le moyen, le moment le plus favorable pour le prélèvement. La qualité de l'échantillon doit être préservée par des conditions de transport et de stockage appropriées. L'identification de l'échantillon, la nature de l'examen demandé et les renseignements cliniques accompagnant la demande sont indispensables et doivent être parfaitement explicites (Agut *et al.*, 2014).

### **I.6.3- TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC**

#### **I.6.3.1- DIAGNOSTIC INDIRECT**

Il se fait par des marqueurs indirects : l'utilisation d'anticorps (Ac) dirigés contre les protéines virales témoigne de la mise en place d'une réponse immune spécifique contre l'infection virale (Klimkait, 2008).

- **TESTS RAPIDES D'ORIENTATION DIAGNOSTIQUES (TROD)**

Ils sont le plus souvent des tests dits par immuno-chromatographie (filtration ou migration du sérum sur un support recouvert d'Ag recombinants VIH-1 et VIH-2), ils peuvent être réalisés sur sang total, salive, plasma ou sérum (Amiel et Schneider, 2010).

- **TECHNIQUES IMMUNO-ENZYMATIQUES DE TYPE ELISA (ENZYME-LINKED IMMUNO-SORBENT ASSAY)**

L'Ag de référence est fixé sur un support solide (puits d'une microplaque, bille, membrane). Les Ac du liquide biologique testé se fixent sur cet Ag et les complexes Ag-Ac sont ensuite révélés grâce à un conjugué couplé à une enzyme qui transforme un substrat incolore en un produit coloré (Agut *et al.*, 2014). Une nouvelle catégorie de tests dits de quatrième génération permet la détection combinée de l'Ag p24 du VIH-1 et des Ac IgM et IgG (immunoglobulines M et G) anti-VIH-1 et anti-VIH-2. Ces tests permettent de réduire à quelques jours la fenêtre sérologique (en moyenne, 02 à 05 jours par rapport aux tests ELISA dépistant seulement les Ac) (Hocini et Andreoletti, 2009; Marcelin, 2008).

- **TESTS DE CONFIRMATION SEROLOGIQUES**

Le Western blot est la technique de référence pour la confirmation de l'infection VIH. Les protéines virales sont séparées par électrophorèse avant d'être transférées sur une membrane de nitrocellulose. La présence d'Ac dirigés contre une protéine virale est révélée par une réaction immuno-enzymatique qui matérialise la position de la protéine sous la forme d'une bande colorée (Amiel et Schneider, 2010; Hocini et Andreoletti, 2009; Marcelin, 2008).

### **I.6.3.2- DIAGNOSTIC DIRECT**

C'est la mise en évidence directe du virus par le dosage d'une protéine virale (p24), détection de l'ARN ou l'ADN viral, ou encore par culture cellulaire (Hocini et Andreoletti, 2009).

- **DETECTION DE L'ANTIGENE P24:**

L'Ag p24 est libéré sous une forme soluble par les cellules infectées (Klimkait, 2008). Actuellement, sa recherche dans le sérum est indiquée lors d'une suspicion de primo-infection, notamment lors de la période durant laquelle les Ac ne sont pas encore détectables. Les méthodes ELISA le détectent essentiellement par les tests de dépistage de quatrième génération (Marcelin, 2008).

- **DETECTION ET QUANTIFICATION DE L'ADN PROVIRAL**

Elle consiste à mettre en évidence certaines régions du génome viral, intégrées ou non au génome cellulaire, par amplification génique et plus particulièrement par PCR en temps réel qui permet également la quantification de l'ADN proviral dans les cellules mononuclées

circulantes. Néanmoins, la quantification des formes non intégrées reste difficile, du fait qu'il s'agit d'ADN de faible poids moléculaire, qu'elles sont présentes uniquement dans les cellules répliquatives, que celles-ci disparaissent rapidement sous traitement, et que des quantités importantes de sang sont nécessaires pour les explorer (**Marcelin, 2008; Rouzioux et Avettand-Fénoël, 2009**).

- **ISOLEMENT DU VIH PAR CULTURE CELLULAIRE**

Elle se fait à partir de cellules mononuclées sanguines ou du plasma, grâce à l'adjonction de cellules mononuclées de donneurs sains, qui servent de support pour la multiplication virale. Cette dernière est détectée par l'apparition de l'Ag p24 et/ou d'une activité enzymatique de transcription inverse dans le milieu de culture. C'est une méthode longue et coûteuse, nécessitant des laboratoires de haute sécurité (**Hocini et Andreoletti, 2009; Marcelin, 2008**).

## **I.7- TECHNIQUES DU SUIVI VIRO-IMMUNOLOGIQUE**

### **I.7.1- LE TAUX DES LYMPHOCYTES T CD4**

La baisse des LT CD4 liée à la réplication virale est d'environ 50 LT CD4/mm<sup>3</sup> par année. A partir d'un seuil inférieur à 200/mm<sup>3</sup>, le risque de la survenue d'une infection opportuniste est considérablement majeur (**Katlama et Ghosn, 2012**).

La numération se fait par un immuno-marquage avec des Ac anti-CD4 fluorescents, et le comptage des cellules marquées se fait par une cytométrie en flux (une technique de numération automatique) (**El Hentati et al., 2009**).

### **I.7.2- CHARGE VIRALE PLASMATIQUE (ARN-VIH)**

La quantification de l'ARN viral dans le plasma «la charge virale» renseigne sur la dynamique de multiplication virale et permet de suivre l'évolution de la maladie (**Hocini et Andreoletti, 2009**). Elle est prescrite pour le suivi virologique d'un patient infecté qu'il soit traité ou non (**Marcelin, 2008**). Elle constitue aussi un outil de diagnostic pour les nourrissons de moins de 18 mois nés d'une mère séropositive à cause de l'interférence des Ac maternels (les IgM) (**Klimkait, 2008**).

#### **I.7.2.1- ETAPES DE LA REVERSE TRANSCRIPTASE DE LA REACTION DE POLYMERISATION EN CHAINE QUANTITATIVE EN TEMPS REEL (Q-RT- PCR EN TEMPS REEL)**

Selon le principe de la PCR (Annexe 03), la RT-PCR est une forme particulière de l'amplification en chaîne par polymérisation, qui est précédée par une réaction de transcription

inverse qui transforme l'ARN viral en ADNc simple brin qui sera recopié au cours du premier cycle d'amplification (**Dominique et Béatrice, 2002; Klimkait, 2008**).

Coupler avec une méthode de quantification fluorescente, la RT-PCR en temps réel est utilisée pour la quantification de l'ARN dans le plasma (**Hocini et Andreoletti, 2009; Klimkait, 2008**). Elle est réalisée grâce à un appareillage permettant de suivre en continu l'apparition des produits d'amplification grâce à l'émission d'une quantité de fluorescence proportionnelle à la quantité de produits PCR générés, elle-même dépendant de la quantité de cibles présente dans l'échantillon à analyser. Cette fluorescence est enregistrée à chaque cycle, ce qui permet de tracer une courbe reflétant la cinétique de la réaction et de déterminer le cycle exact de démarrage de la phase exponentielle. Plusieurs chimies peuvent être utilisées pour générer un niveau de fluorescence détectable comme la méthode au résonance fluorescente par transfert d'énergie (*FRET*) mise à profit dans l'utilisation de sondes d'hybridation et de sondes d'hydrolyse (TaqMan) (**Dominique et Béatrice, 2002**).

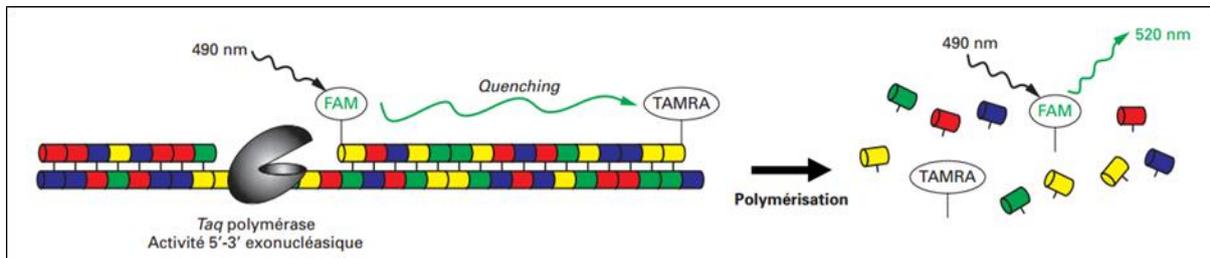
#### **I.7.2.2- METHODE AU RESONNANCE FLUORESCENTE PAR TRANSFERT ENERGIE (FRET)**

La chimie Taqman est basée sur l'activité exonucléasique de la Taq polymérase. Le système utilise des sondes d'hybridation d'environ 15 à 30 bases, monobrins et linéaires marquées par deux fluorophores un à l'extrémité 3' dit fluorophore quencher ou supprimeur (TAMRA : 6-carboxy-tetramethyl-rhodamine) et l'autre à extrémité 5' dit fluorophore rapporteur (FAM : 6-carboxyfluorocein) (**Ameziane et al., 2005**).

La particularité de ce système réside dans le fait que le processus de transfert d'énergie s'effectue entre les deux fluorophores, le TAMRA ayant un spectre d'émission se chevauchant avec le spectre d'excitation du FAM (Figure 07). Une fois que les sondes sont hybridées avec leur séquence cible d'une manière adjacente, l'énergie libérée par le FAM (haute énergie) est directement captée par le TAMRA qui dissipe cette énergie sous forme de chaleur plutôt que d'émettre de la fluorescence. Lors de l'étape de polymérisation, la sonde est dégradée par la Taq polymérase, le reporter FAM est alors libéré de l'environnement du supprimeur (TAMRA) permettant ainsi l'émission de fluorescence qui augmente à chaque cycle proportionnellement au taux d'hydrolyse de la sonde (**Dominique et Béatrice, 2002; Poitras et Houde, 2002**).

La fluorescence des nouveaux brins hybridés permet de quantifier à la fin de chaque cycle le nombre d'ARN viral présent dans le plasma par comparaison avec un standard interne. L'expression des résultats se fait en nombre de copies d'ARN par millilitre de plasma

(copies/ml) ou en logarithme du nombre de copies par millilitre (log10 du nombre de copies /ml). (Hocini et Andreoletti, 2009).

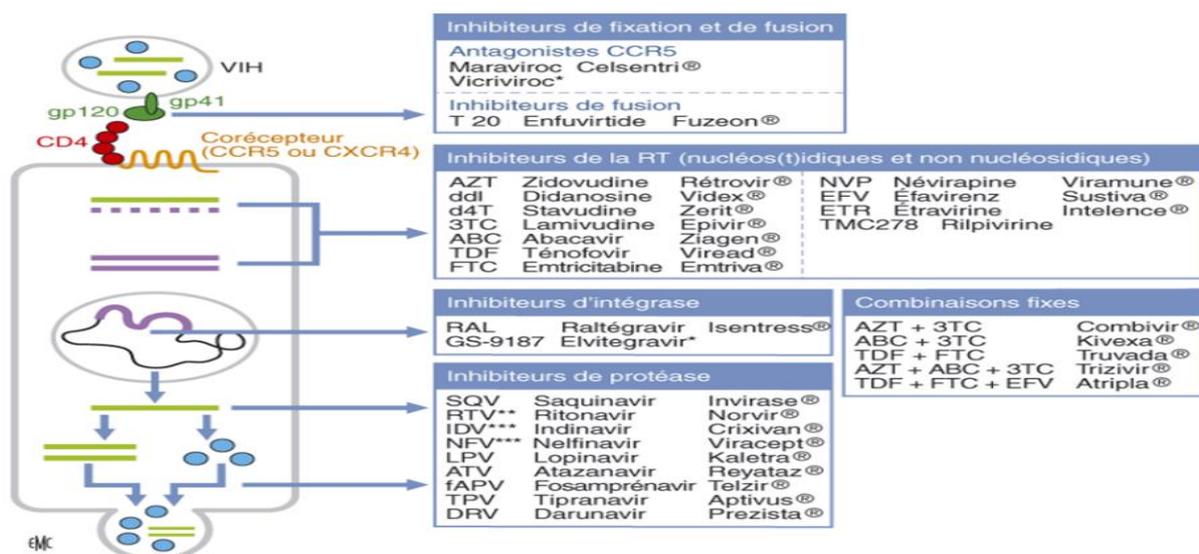


**Figure 07 –** Modèle de fluorescence utilisé pour la PCR en temps réel «Chimie TaqMan» (Dominique et Béatrice, 2002)

### I.8- TRAITEMENT DE L'INFECTION VIH ET RESISTANCE DU VIH AUX ANTIRÉTROVIRAUX

La prise en charge thérapeutique de l'infection VIH repose principalement sur les médicaments ARV, et le traitement préventif et curatif des infections opportunistes. L'objectif principal du traitement est l'efficacité immuno-virologique: maintenir ou restaurer un nombre de LT CD4  $\geq 500/ \text{mm}^3$ , et réduire la CV plasmatique au-dessous de 50 copies /ml.

Ce traitement doit avoir la meilleure tolérance possible, clinique et biologique, à court, moyen et long terme, avec une amélioration ou une préservation de la qualité de vie (Hoen, 2011; Roquebert *et al.*, 2009). Il existe actuellement six classes thérapeutiques agissant au niveau des différentes étapes du cycle viral (Figure 08) (Caby et Katlama, 2013; Ghosn et Katlama, 2008).



**Figure 08 -** Antirétroviraux disponibles en 2009 : Cible, classes thérapeutiques et molécules (Amiel et Schneider, 2010).

### **I.8.1- INHIBITEURS D'ENTREE**

#### **I.8.1.1- INHIBITEURS ANTAGONISTES DU CORECEPTEUR CCR5**

Par effet allostérique non compétitif, ils entravent la liaison de gp41 avec le corécepteur CCR5 et empêchent l'entrée du virus dans la cellule, leur utilisation est destinée aux patients porteurs d'un virus ayant un tropisme R5 (**Green et Peterlin, 2008; Roquebert et al., 2009**). La prescription de ce médicament nécessite donc avant, la détermination et l'identification du tropisme viral (**Ghosn et Katlama, 2008; Morand-Joubert, 2009**).

- **RESISTANCE DU POLYMORPHISME GENETIQUE DU CORECEPTEUR CCR5**

Dans plusieurs études menées, les hétérozygotes pour l'allèle CCR5D32 (du gène CCR5. Porteur d'une délétion de 32 paires de bases qui code pour un codon stop prématuré, induisant la synthèse d'une protéine non fonctionnelle qui ne peut pas servir de corécepteur au VIH) présentent une charge virale moindre lors de la primo-infection et progressent plus lentement vers le stade SIDA. En revanche, les homozygotes sont très résistants au VIH à tropisme uniquement CCR5 (**Allers et al., 2011; Bouthemy et al., 2013**).

#### **I.8.1.2- INHIBITEURS DE FUSION**

Ils inhibent la fusion entre le VIH et la cellule-cible (**Ghosn et Katlama, 2008**). Ils se lient à la région HR1 de la gp41 et bloquent son changement conformationnel qui permet l'insertion du peptide de fusion dans la membrane cellulaire (**Bigaillon et al., 2010; Chong et al., 2009**).

- **RESISTANCE AUX INHIBITEURS DE FUSION**

La résistance aux inhibiteurs de fusion est liée à l'acquisition par le virus de mutations des acides aminés 36 à 45 dans la région HR1 du gène de la gp41 (**Bienvenu et al., 2005; Bigaillon et al., 2010**).

### **I.8.2- INHIBITEURS DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (TI)**

Ces molécules empêchent l'action de la TI, en bloquant la transcription de l'ARN viral en ADN proviral. Selon leur mode d'action, on distingue les inhibiteurs nucléosidiques de la TI (INTI) et les inhibiteurs non nucléosidiques de la TI (INNTI) (**Caby et Katlama, 2013; Vincent et al., 2008**).

#### **I.8.2.1- INHIBITEURS NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INTI)**

Ce sont des analogues aux nucléosides naturels avec lesquels ils entrent en compétition, après une triphosphorylation intracellulaire (**Avettand-Fènoël et Rouzioux, 2009; Charpentier et**

*al.*, 2011). Ils se lient à la TI et inhibent la réplication du virus en induisant la terminaison prématurée de l'élongation. Cela est dû à l'absence de groupement 3'-OH (présent au niveau de nucléosides naturels), ce qui bloque la formation de la liaison 3'5' phosphodiester de l'ADN proviral qui permet la liaison à la base suivante (**Ghosn et Katlama, 2008**).

- **RESISTANCE AUX INHIBITEURS NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INTI)**

La résistance aux INTI est la résultante de deux mécanismes :

- La diminution de l'incorporation des analogues nucléosidiques au profit des nucléosides naturels induite par des mutations **K65R et M184V** sur le gène du site actif de la TI (**Bigaillon et al., 2010; Caby et Katlama, 2013**).
- L'excision de l'analogue nucléosidique incorporé, conférée par un groupe de six mutations, dites TAM (thymidine analogue mutations) ; **M41L, D67N, K70R, L210W, T215Y/F et K219Q** (**Masquelier et al., 2001**). La structure de la TI est modifiée en favorisant l'accès de l'ATP au site de polymérisation, ce qui détache le nucléoside, et libère le groupement 3'-OH du dernier nucléoside, permettant ainsi la reprise de l'élongation de la chaîne de l'ADN viral (**Bigaillon et al., 2010; Charpentier et al., 2011; Pellegrin, 2004**).

### **I.8.2.2- INHIBITEURS NON NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INNTI)**

Ces molécules agissent de façon non compétitive et se fixent dans une cavité asymétrique au sein d'une poche hydrophobe située à 10 Å du site catalytique de la TI. Il en résulte une perte de la flexibilité de la TI, induisant ainsi le blocage des activités de l'ADN polymérase lors de l'étape de rétrotranscription du brin d'ARN viral en ADN proviral (**Caby et Katlama, 2013; Chaix, 2008; Garraffo, 2008**).

- **RESISTANCE AUX INHIBITEURS NON NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INNTI)**

Les INNTI ont tous le même site de fixation dont un seul changement d'acide aminé entraîne une diminution de l'affinité de l'inhibiteur (**Bigaillon et al., 2010**). Une seule mutation par ailleurs leur confère généralement une résistance élevée en cas de réplication virale persistante favorisant l'apparition de nouvelles souches résistantes. De nouveaux INNTI (de seconde génération) actifs sur certains virus résistants aux INNTI de première génération, ont comme objectif une structure chimique beaucoup plus flexible. Ce qui leur permet plusieurs conformations possibles dans la poche et donc une fixation efficace malgré la présence de mutations (**Charpentier et al., 2011; Delaugerre, 2008**).

### I.8.3- INHIBITEURS DE L'INTEGRASE

Ils ciblent l'IN du VIH, qui après la rétrotranscription se fixe à l'extrémité de l'ADN proviral puis insère ce dernier dans l'ADN de la cellule infectée, en digérant l'extrémité 3'-OH. Les inhibiteurs de l'IN actuellement utilisés se fixent sur le complexe ADN proviral-intégrase au niveau du site catalytique de l'enzyme et bloquent sa fixation sur l'ADN cellulaire (**Bigaillon et al., 2010; Solas-Chesneau et al., 2009**).

- **RESISTANCE AUX INHIBITEURS DE L'INTEGRASE**

La résistance est caractérisée par des mutations sur le gène de l'IN (**Q148H/K/R, N155H, Y143C/R/H, E92QE et S147G**) localisées principalement dans le domaine catalytique central de l'enzyme (entre les acides aminés 50 et 212) entraînant des changements conformationnels affectant l'affinité de l'inhibiteur qui ne peut plus chélaté les cations métalliques indispensables à l'activité enzymatique durant l'étape de transfert de brin (**Roquebert et Descamps, 2007**).

### I.8.4- INHIBITEURS DE LA PROTEASE (IP)

Ils interviennent tardivement dans le cycle viral en bloquant l'action de la PR. La plupart des IP sont des peptidomimétiques se liant compétitivement au site actif de la PR, empêchant ainsi le clivage des polypeptides précurseurs Gag-Pol, ce qui conduit à la production de virions défectifs, incapables d'infecter de nouvelles cellules (**Bigaillon et al., 2010; Caby et Katlama, 2013; Vincent et al., 2008**).

- **RESISTANCE AUX INHIBITEURS DE LA PROTEASE (IP)**

La résistance n'apparaît qu'avec l'accumulation de mutations situées soit au niveau (codons 82 ou 84) ou à distance (codon 90) du site de fixation du substrat, ce qui diminue l'affinité de l'IP pour la PR (**Bigaillon et al., 2010; Caby et Katlama, 2013**).

### I.8.5- INDICATIONS THERAPEUTIQUES

Le traitement ARV doit être maintenu toute la vie, toute interruption s'accompagne d'une reprise de la réplication virale. L'initiation d'un traitement ARV efficace est recommandée dès que le niveau des LT CD4 atteint 500/mm<sup>3</sup> ou dans certaines circonstances (une CV > 100 000 copies /ml, et une co-infection par le virus de l'hépatite C ou de l'hépatite B) (**Amiel et Schneider, 2010; Charpentier et al., 2011; Katlama et Ghosn, 2012**). Deux grands types de stratégie du traitement ARV ont montré actuellement leurs capacités à réduire la réplication virale sous le seuil de détection, reposent sur l'association de trois molécules ARV (trithérapie) : **02 INTI + 01 INNTI ou 02 INTI + 01 IP (Katlama et Ghosn, 2012)**.

### I.8.6- SUIVI BIOLOGIQUE DE L'INFECTION VIH

Le suivi biologique joue un rôle essentiel dans la prise en charge de l'infection VIH. Chez le patient non traité, il permet de déterminer le moment propice pour l'introduction d'un traitement ARV ou pour débiter la prévention de certaines infections opportunistes. Chez le patient traité, il permet d'évaluer la tolérance des ARV (nombre de formules sanguines, créatininémie, bilan hépatique, bilan métabolique à jeun, et d'autres examens adaptés à la toxicité spécifique de certaines molécules). Le bilan de suivi repose aussi sur la mesure de la CV et la numération des LT CD4 qui se font tous les trois mois afin d'évaluer la restauration immunitaire (**Greder Belan et al., 2008**).

### I.8.7- LIMITES DU TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL (ARV)

Actuellement, le traitement ARV ne permet pas d'obtenir l'éradication du virus même s'il est prescrit au cours de la primo-infection. Cela est dû à l'existence des réservoirs viraux dans l'organisme : des sites anatomiques (le cerveau, le tractus génital) ou tissulaires (tissus lymphoïdes) qui sont imperméables aux ARV au sein desquels le virus se réplique (**Le Tortorec et Dejuq-Rainsford, 2007**).

### I.8.8- PREVENTION

La prévention repose sur l'éducation préventive, la modification des comportements et l'information. Chez les hétérosexuels et homosexuels, il est recommandé de réduire le nombre de partenaires, d'éviter les partenaires anonymes et d'utiliser des préservatifs (**Roche, 2010**). Chez les toxicomanes, il est essentiel de ne pas partager ou réutiliser des seringues souillées. En cas d'AES, les précautions à prendre sont: laver abondamment à l'eau courante et au savon, rincer, puis pratiquer de l'antisepsie avec un dérivé chloré (eau de javel) ou après une projection sur les muqueuses, il faut rincer abondamment de préférence au soluté physiologique ou à l'eau pendant au moins cinq minutes (**Cauquil et al., 2014**). Le sujet qui traite les saignements ou qui touche des liquides organiques doit porter des gants et jeter les déchets dans un sac fermé (**Depiesse, 2009**). Pour la prévention de la TME, le traitement associé à une césarienne réduit à 01% la transmission (**Depiesse, 2009; Roche, 2010**). A la période postnatale, l'allaitement artificiel reste le seul moyen proposé pour éviter tout risque résiduel (**Frangé et Blanche, 2014**).

## **CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES**

## **II.1- MATÉRIELS**

### **II.1.1- TYPE D'ETUDE**

C'est une étude rétrospective et prospective d'ordre épidémiologique, concernant le suivi virologique de PVIH sous traitement ARV et l'objectif de ce travail vise essentiellement à analyser la CV des PVIH suivis en Algérie, et étudier l'échec virologique au traitement ARV. Cette étude a été réalisée durant quatre mois allant de février jusqu'à mai 2015, au niveau du LNR VIH/SIDA à l'Institut Pasteur d'Algérie. Le facteur étudié est l'ARN du VIH -1.

### **II.1.2- ECHANTILLONS BIOLOGIQUES**

La nature et la qualité de prélèvement sont des facteurs déterminants de la fiabilité des résultats. Chaque échantillon doit être correctement étiqueté (Code, Nom, Prénom et date de prélèvement) et accompagné d'une fiche de renseignements.

### **II.1.3- PRELEVEMENT DES ECHANTILLONS**

Le sang doit être prélevé dans des tubes stériles avec EDTA (acide éthylène diamine tétracétique) comme anticoagulant et mélangé de façon adéquate conformément aux instructions du fabricant des tubes. Le sang total est centrifugé à 800-1600 tours pendant 20 minutes à température ambiante, le plasma est ensuite transféré dans un tube stérile en polypropylène et le volume de plasma requis est de 02 ml au minimum (Annexe 02).

### **II.1.4- TRANSPORT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS**

Le sang total doit être centrifugé dans les six heures qui suivent le prélèvement. Les échantillons de plasma doivent être transportés dans une glacière entre 02-08°C. Leur conservation se fait soit à température ambiante (25-30°C) jusqu'à 24 heures, soit entre 02°C et 08°C jusqu'à six jours. Ils restent stables pendant six semaines en étant congelés entre -20°C et -80°C. Ils peuvent être congelés et décongelés jusqu'à cinq fois sans perte significative de l'ARN du VIH-1.

### **II.1.5- POPULATION D'ETUDE**

Cette étude a inclus des PVIH qui se sont présentés entre le 09/11/2010 et le 29/04/2015, venant de différentes régions du territoire national, dans le cadre du suivi virologique de l'infection VIH. Durant cette période, le laboratoire a réalisé 3603 CV sur un total de 2488 patients dont 1894 sont venus une seule fois et 594 qui sont venus plus d'une fois (Tableau II). La moyenne d'âge de ces 2488 sujets est de 38 ans, avec 87 ans pour le plus âgé et 02 ans pour le plus jeune. Le sexe-ratio est de 1,2 (Tableau I).

**Tableau I:** Répartition de la population selon l'âge et le sexe.

Tranche d'âge \ Nombre de Sujets	Total
<10	96
[10-20]	47
[20-30]	505
[30-40]	762
[40-50]	527
[50-60]	253
>60	142
Âge inconnu	156
<b>Total</b>	<b>2448</b>

Sexe \ Fréquence	Total
<b>Hommes</b>	1354 (54,4%)
<b>Femmes</b>	1134 (45,6%)
<b>Total</b>	<b>2488</b>

### II.1.5.1-REPARTITION DE LA POPULATION D'ETUDE SELON LES REGIONS SANITAIRES

La carte sanitaire est organisée en quatre régions sanitaires: la région Centre (Alger), région Ouest (Oran), région Est (Constantine) et la région Sud (Ouargla). La répartition des 594 PVIH (qui sont revenus plus d'une fois) selon les régions sanitaires et wilayas de résidence, montre que la région sanitaire Ouest a apporté le plus grand nombre de PVIH 36,53%, suivi par la région sanitaire Est 25,92%, la région sanitaire Centre 15,82% et la région sanitaire Sud 15,48%. Cependant, 05,64% de PVIH représentent des cas indéterminés dont l'origine n'a pas été précisée, et 0,78% pourcentage des PVIH de nationalités étrangères : 02 du Mali, 01 du Congo, 01 de la Côte d'Ivoire et 01 de la Syrie résidants en Algérie avaient été recensés durant cette période (Tableau II).

**Tableau II:** Répartition des 594 patients VIH (+) selon les wilayas et les régions sanitaires.

RÉGION SANITAIRE	WILAYA	NOMBRE DE PATIENTS VIH-1 (+)	RÉGION
ALGER	ALGER	38	CENTRE
	DJELFA	16	
	BEJAIA	13	
	TIZI OUZOU	12	
	BOUIRA	04	
	BLIDA	03	
	CHLEF	03	
	MÉDÉA	03	
	BOUMERDESS	02	
	TIPAZA	00	
	<b>TOTAL</b>	<b>94 (15,82%)</b>	
ORAN	SIDI BELABES	65	OUEST
	ORAN	43	
	MASCARA	22	
	SAIDA	19	
	TIARET	24	
	TLEMCEN	25	
	MOSTAGANEM	05	
	TISSEMSILT	09	
	AIN TIMOUCHENT	01	
	EL BEYEDH	03	
	RELIZANE	01	
		<b>TOTAL</b>	
CONSTANTINE	SETIF	57	EST
	M'SILA	27	
	BATNA	24	
	KHENCHLA	14	
	BORDJ BOU ARRARIDJ	16	
	CONSTANTINE	07	
	JIJEL	03	
	OUM EL BOUAGHI	03	
	MILA	01	
	TEBESSA	01	
	SKIKDA	01	
		<b>TOTAL</b>	
OUARGLA	OUARGLA	27	SUD
	BISKRA	38	
	EL OUAD	14	
	GHERDAIA	04	
	ILIZI	03	
	LAGHOUAT	01	
	NAAMA	03	
	ADRAR	01	
	TINDOUF	01	
	<b>TOTAL</b>	<b>92 (15,48%)</b>	
CAS INDÉTERMINÉS		33 (5,64%)	
CAS DE NATIONALITÉ ÉTRANGÈRE		04 (0,78%)	
<b>TOTAL</b>		<b>594</b>	

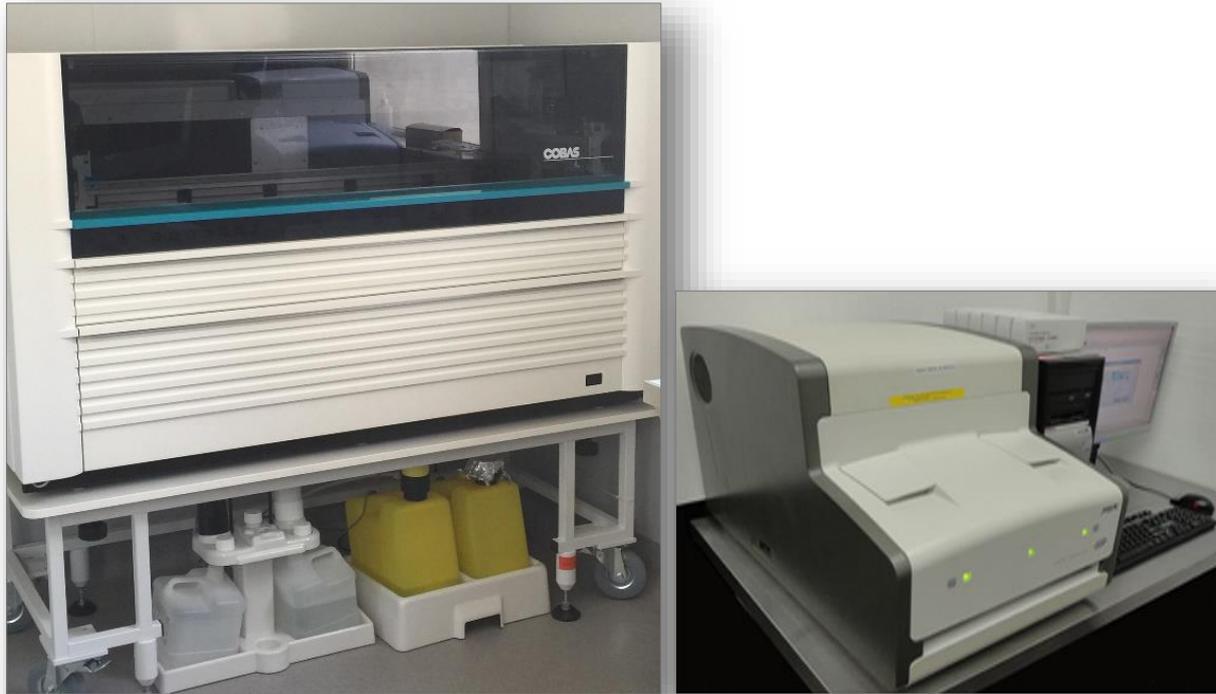
## II.2- METHODES

### II.2.1- APPAREILS ET SYSTEMES AUTOMATIQUES UTILISES

La détermination quantitative de l'ARN plasmatique du VIH-1 (sous-types du groupe M, et du groupe O), se fait par la technique d'amplification génique : la RT-PCR en temps réel, en utilisant deux appareils (Tableau III), soit l'Abbott Real Time HIV-1 composé de deux systèmes automatiques: Abbott m2000sp (*mSample preparation*) et l'Abbott m2000rt qui mesure la quantité de séquences cibles de VIH-1 présente à chaque cycle d'amplification (Figure 09). Soit le Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan (CAP/CTM) v2.0, qui traite les données et les résultats à l'aide du logiciel «AMPLILINK 3.3» (Figure 10).



**Figure 09** - Appareil Abbott Real Time HIV-1, composé de l'extracteur à gauche (m2000sp) et de l'analyseur (thymocycleur, m2000rt) à droite.



**Figure 10** - Appareil Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan v 2.0, composé de l'extracteur à gauche (Cobas Ampliprep) et de l'analyseur (thymocycleur, TaqMan 48) à droite.

## II.2.2- ETAPES DE LA REVERSE TRANSCRIPTASE DE LA REACTION DE POLYMERISATION EN CHAÎNE QUANTITATIVE EN TEMPS REEL (Q-RT- PCR EN TEMPS REEL)

La réalisation de la CV se fait en ces étapes suivantes:

### II.2.2.1- PREPARATION DES ÉCHANTILLONS

La préparation automatisée des échantillons a pour objectifs d'extraire et d'isoler les molécules cibles d'ARN, afin de les rendre accessibles pour l'amplification. Dans chaque échantillon, on introduit :

- Un contrôle interne (CI) qui est une construction d'ARN, non infectieux qui contient des séquences du VIH-1 avec des sites de liaison aux amorces (identiques à celles de l'ARN cible) il est en un nombre connu de copies et subit toutes les étapes : la préparation des échantillons; la rétrotranscription et l'amplification par PCR. Il est détecté simultanément avec l'ARN viral afin de démontrer le traitement correct de chaque échantillon.
- Les réactifs d'extraction (une protéinase, les particules magnétiques en verre, les réactifs de lyse, de lavage et d'élution).

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

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

### II.2.2.2- RETROTRANSCRIPTION ET AMPLIFICATION

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

- Les ions manganèse ( $Mn^{2+}$ )
- Un excès de désoxynucléotides triphosphates (dNTPs) comprenant les triphosphates de désoxyadénosine, désoxyguanosine, désoxycytidine, désoxyuridine et désoxythymédine,
- Amorces sens et antisens
- Sondes oligonucléotidiques du VIH-1 et du CI marquées par des fluorophores spécifiques.

En premier lieu, le mélange réactionnel est chauffé pour permettre aux amorces de la rétrotranscription de s'hybrider avec leurs cibles (ARN viral et CI). Puis, lorsque la température baisse, la polymérase allonge et étend les amorces hybridées le long des matrices cibles, générant ainsi des brins d'ADNc de l'ARN cible. Le thermocycleur des analyseurs chauffe le mélange réactionnel encore une fois, afin de dissocier les hybrides ADNc-ARN. Une deuxième amorce s'hybride afin de créer un ADN double brin lorsque la température baisse, et quand le mélange se refroidit, l'ADN polymérase allonge et étend les amorces hybridées le long des matrices cibles, ce qui génère des molécules d'ADN bicaténaire appelées «*amplicons*». L'analyseur répète automatiquement cette opération pendant 35 cycles, et à chaque cycle on double la quantité d'ADN de l'amplicon, en réalisant une amplification exponentielle grâce aux cycles répétés entre températures élevées et basses.

### II.2.2.3- DETECTION

La détection de l'ADN amplifié est réalisée par l'utilisation de sondes doublement marquées spécifiques de la cible et du CI, permettant l'identification indépendante des amplicons du HIV-1 et du CI du HIV-1 (Annexe 04).

### II.2.2.4- INTERPRÉTATION DES RESULTATS PAR LES AUTOMATES

Le principe d'interprétation est basé sur la valeur du cycle seuil dit «*Cycle threshold*» (Ct), qui est définie comme le numéro fractionnel du cycle où la fluorescence du fluorophore émetteur dépasse un seuil prédéterminé ou une ligne seuil (le niveau de fluorescence théorique) et commence la phase de croissance exponentielle de ce signal et l'apparition des signaux spécifiques de fluorescence (Figure 11). Plus le titre du VIH-1 d'un échantillon est élevé, plus la fluorescence du fluorophore émetteur de la sonde du VIH-1 dépasse vite le niveau de fluorescence de base, donc plus le milieu est riche en ADNc, plus le Ct sera précoce.

La quantité de la cible initialement présente avant l'amplification de l'échantillon est extrapolée d'une courbe d'étalonnage du CI. Le logiciel effectue ensuite les calculs et permet l'expression de résultat en nombre de copies ou en unités internationales /ml (UI/ml); une copie/ml d'ARN est équivalent à 1,67 UI/ml. La valeur de Ct dans cet exemple (en dessous) est de 24 cycles.

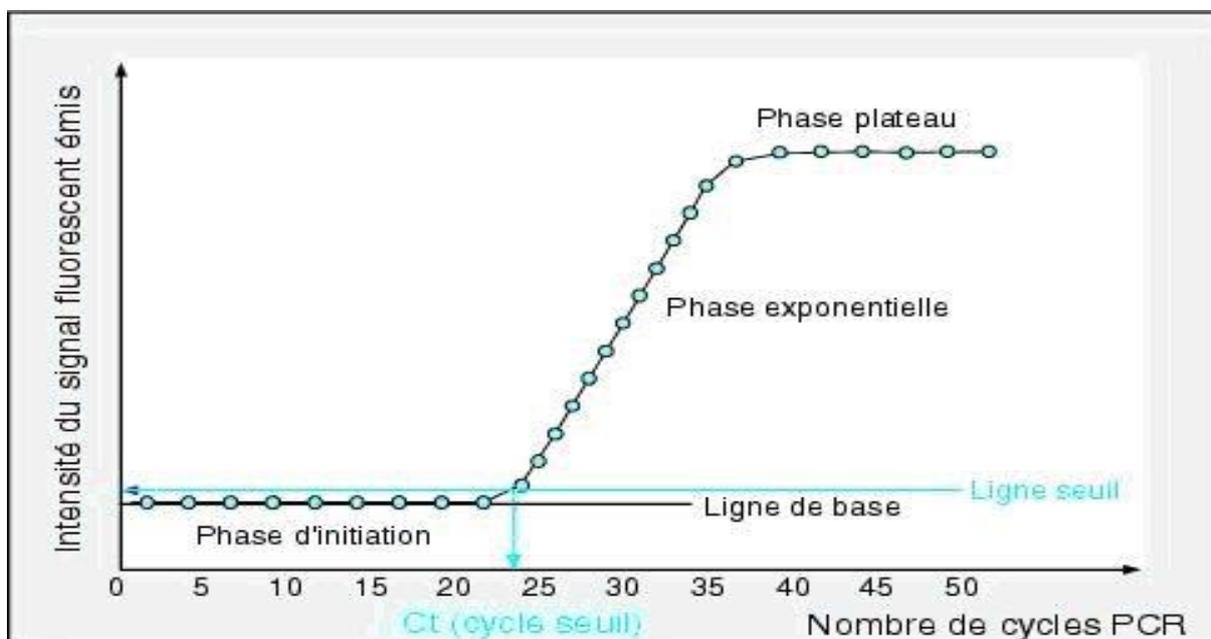


Figure 11 - Principe de cycle seuil (Ct).

**Tableau III** : Comparaison entre les deux appareils de la mesure de la charge virale du VIH-1.

<b>Critères</b>	<b>Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan , v2.0 (Roche)</b>	<b>Abbott Real Time HIV-1 (Abbott)</b>
<b>Capacité</b>	48 tests	96 tests
<b>Volume de plasma</b>	1000 µl	600 µl
<b>Limite de détection</b>	20 copies /ml	40 copies /ml
<b>Linéarité</b>	20 - 10 000 000 copies /ml	40 - 10 000 000 copies /ml
<b>Amorces conçues pour les régions</b>	<i>Gag et LTR</i>	<i>Pol</i>
<b>Thermocycleur</b>	Cobas TaqMan 48	Abbott m2000rt
<b>Méthode</b>	TaqMan	TaqMan

## **CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSIONS**

### III.1- RESULTATS

#### III.1.1- FREQUENCES DE LA MESURE DE LA CHARGE VIRALE

Sur un total de 2488 patients, 1894 patients, soit 76,1% ont réalisé une seule charge virale et 594 patients, soit 23,8% sont venus plus d'une fois (Tableau IV).

**Tableau IV** : Fréquences des charges virales des PVIH en Algérie.

Fréquences	Une fois	Deux fois	Trois fois	Quatre fois	plus de quatre fois	Total
<b>Nombre de sujets</b>	1894 (76,1%)	378 (15,2%)	108 (4,3%)	51 (2,1%)	57 (2,3%)	<b>2488</b> <b>(100%)</b>

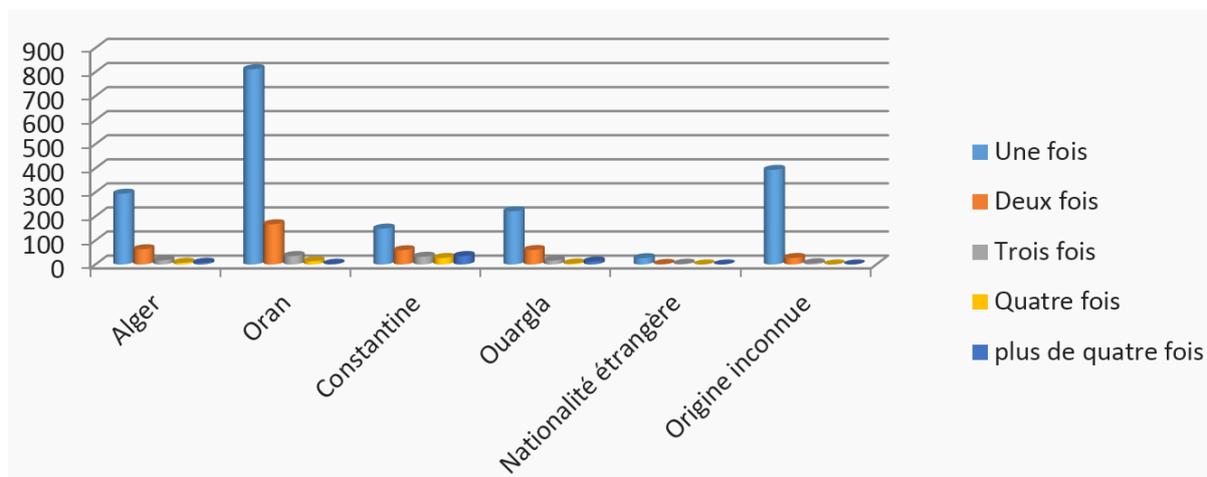
#### III.1.2- RESULTAT GLOBAL DE LA CHARGE VIRALE SELON LES CARACTERISTIQUES SOCIODEMOGRAPHIQUE

##### III.1.2.1- REPARTITION DE LA CHARGE VIRALE SELON L'ORIGINE

Les PVIH proviennent surtout de la région d'Oran 41,35%. Cependant, on constate que pour toutes les régions, la plupart des patients ont effectués au moins une seule CV. Pour la région de Constantine, on constate que 50,67% de PVIH sont venus plus d'une fois.

**Tableau V** : Fréquences des charges virales des PVIH en Algérie selon l'origine sanitaire.

Fréquences Origine	Une fois	Deux fois	Trois fois	Quatre fois	plus de quatre fois	Total
<b>Alger</b>	294 (75,77%)	63 (16,23%)	17 (4,38%)	07 (01,90%)	07 (01,90%)	<b>388</b> <b>(15,60%)</b>
<b>Oran</b>	811 (78,81%)	167 (16,22%)	35 (03,40%)	13 (01,26%)	03 (0,29%)	<b>1029</b> <b>(41,35%)</b>
<b>Constantine</b>	149 (49,33%)	59 (19,53%)	32 (10,60%)	27 (09%)	35 (11,60%)	<b>302</b> <b>(12,13%)</b>
<b>Ouargla</b>	221 (70,60%)	60 (19,16%)	16 (05,11%)	04 (01,30%)	12 (04%)	<b>313</b> <b>(12,60%)</b>
<b>Nationalité étrangère</b>	26 (84%)	02 (06,45%)	03 (09,70%)	0 (00%)	0 (00%)	<b>31</b> <b>(01,24%)</b>
<b>Origine inconnue</b>	393 (92,50%)	27 (06,35%)	05 (01,20%)	0 (00%)	0 (00%)	<b>425</b> <b>(17,08%)</b>
<b>Total</b>	<b>1894</b> <b>(76,12%)</b>	<b>378</b> <b>(15,20%)</b>	<b>108</b> <b>(04,34%)</b>	<b>51</b> <b>(02,04%)</b>	<b>57</b> <b>(02,30%)</b>	<b>2488</b> <b>(100%)</b>



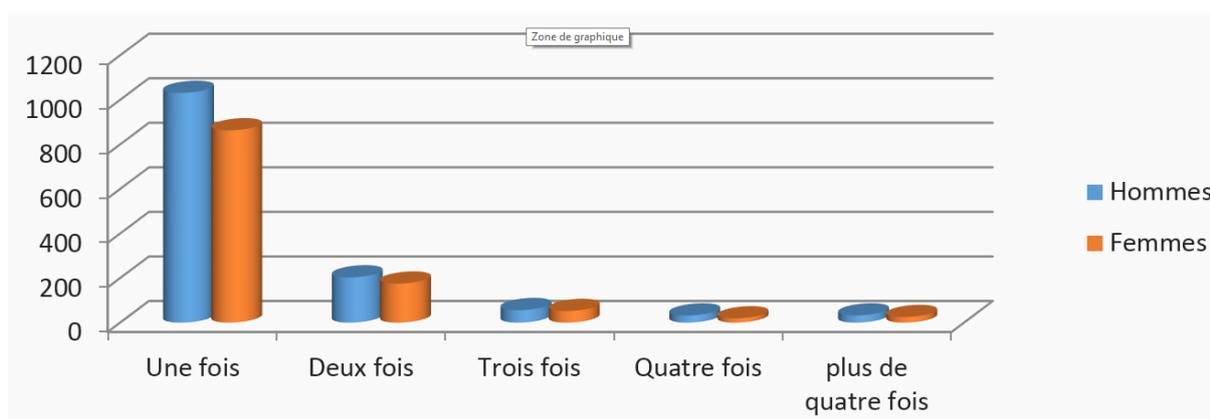
**Figure 12** – Répartition des fréquences des charges virales selon l'origine sanitaire.

**III.1.2.2- REPARTITION DE LA CHARGE VIRALE SELON LE SEXE**

La répartition des 2488 PVIH selon le sexe est légèrement hétérogène avec 1354 hommes 54,4% et 1134 femmes 45,6%, soit une sex-ratio de 1,2 (Tableau VI). On constate que les PVIH des deux sexes ont effectué plus de quatre CV, et le nombre diminue en fonction des fréquences des CV. La fréquence de réalisation de la charge virale chez les hommes dépasse celle des femmes. A partir de la troisième fréquence de la CV l'écart du nombre entre les deux sexes n'est pas considérable, et son pourcentage d'ailleurs chute d'un tiers pour les 594 PVIH en comparant à celui de la deuxième fréquence 15,02% et continue la diminution en fonction des fréquences des CV avec des écarts proches (Figure 13).

**Tableau VI** : Fréquences des charges virales des PVIH en Algérie selon le sexe.

Fréquences Sexe	Une fois	Deux fois	Trois fois	Quatre fois	plus de quatre fois	Total
<b>Hommes</b>	1031	203	56	32	32	1354 (54,4%)
<b>Femmes</b>	863	175	52	19	25	1134 (45,6%)
<b>Total</b>	<b>1894</b> <b>(76,10 %)</b>	<b>378</b> <b>(15,02%)</b>	<b>108</b> <b>(04,3%)</b>	<b>51</b> <b>(02,1%)</b>	<b>57</b> <b>(02,3%)</b>	<b>2488</b> <b>(100 %)</b>



**Figure 13** - Répartition des fréquences des charges virales selon le sexe.

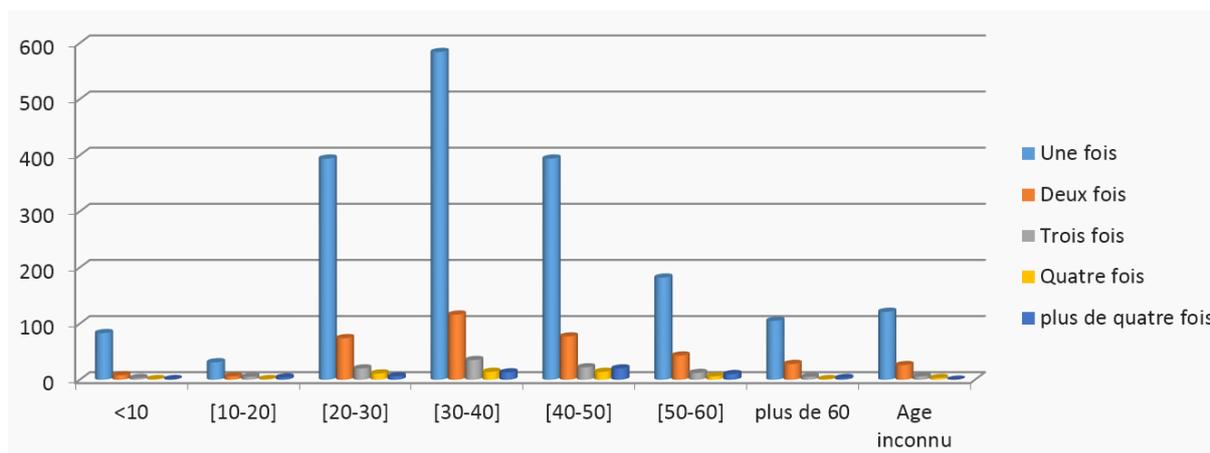
### III.1.2.3- REPARTITION DE LA CHARGE VIRALE SELON L'ÂGE

Parmi les 2488 PVIH, 156 patients sur la fiche de renseignements leur est manqué l'indication de l'âge, (Tableau VII), L'âge moyen des patients est de 38 ans. On constate que pour toutes les tranches d'âge, la plus grande proportion avait réalisé une seule CV (Figure 14).

Le plus grand pourcentage de sujets qui bénéficient d'une CV se situe dans la tranche d'âge entre 20 et 50 ans, avec un pic entre 30 et 40 ans. Il en est de même pour la fréquence de réalisation de la CV, c'est-à-dire que la plupart qui sont revenus plus d'une fois ont un âge situé entre 20 et 50 ans.

**Tableau VII** : Fréquences des charges virales des PVIH en Algérie selon l'âge.

Fréquences Tranches d'âge	Une fois	Deux fois	Trois fois	Quatre fois	plus de quatre fois	Total
<10	83	8	3	1	1	96
[10-20]	31	6	5	1	4	47
[20-30]	394	74	20	11	6	505
[30-40]	584	116	35	14	13	762
[40-50]	394	77	22	14	20	527
[50-60]	182	43	12	6	10	253
>60	105	28	5	1	3	142
Age inconnu	121	26	06	03	0	156
<b>Total</b>	<b>1894</b>	<b>378</b>	<b>108</b>	<b>51</b>	<b>57</b>	<b>2448</b>



**Figure 14** - Répartition des fréquences des charges virales selon l'âge.

### III.1.3- EVALUATION DE LA CHARGE VIRALE DES PATIENTS VIH APRES TRAITEMENT

#### III.1.3.1- ASSOCIATIONS DE MOLECULES ANTIRETROVIRALES PRESCRITES

Pour la totalité des 594 PVIH suivis avec plus de deux CV, le nombre de combinaisons de molécules ARV était de 36 associations différentes:

33 combinaisons étaient données sous forme d'une trithérapie (association de 03 molécules ARV) dans 99,25% des cas, par rapport à une quadrithérapie (association de 04 molécules ARV) dans 0,75% des cas. Il faut préciser qu'un patient peut recevoir plusieurs associations thérapeutiques différentes. La modification de ces combinaisons est décidée en cas d'échec thérapeutique ou d'intolérance au traitement. Le régime thérapeutique ARV a fait appel à 13 molécules appartenant à trois familles différentes: (Tableau VIII)

- ✓ 07 molécules appartenant aux INTI, 04 molécules IP, et 02 molécules INNTI.

Les associations ARV prescrites sont par ordre de fréquence décroissante: (Tableau IX)

- ✓ 02 INTI + 01 INNTI: dans 71,41% des cas, et la combinaison 3TC+AZT+EFV est la plus prescrite 75,61%.
- ✓ 02 INTI + 01 IP: dans 24,97% des cas.
- ✓ 03 INTI: dans 02,84% des cas.
- ✓ 02 INTI + 02 IP: dans 00,54% des cas.
- ✓ 02 INTI + 01 INNTI + 01 IP: dans 00,21% des cas.

Tableau VIII : Molécules antirétrovirales.

Dénomination commune internationale (DCI)	Abréviation	Nom de spécialité
<i>Inhibiteurs nucléotidiques de la transcriptase inverse (IN)</i>		
Lamivudine	3TC	Epivir
Zidovudine	AZT	Rétrovir
Didanosine	ddI	Videx
Abacavir	ABC	Ziagen
Ténofovir	TDF	Viread
Emtricitabine	FTC	Emtriva
Stavudine	D4T	Zerit
<i>Inhibiteurs non nucléotidiques de la transcriptase inverse (INN)</i>		
Efavirenz	EFV	Sustiva, Stocrin
Nevirapine	NVP	Viramune
<i>Inhibiteurs de la protéase (IP)</i>		
Indinavir	IDV	Crixivan
Lopinavir/ritonavir	LPVr	Kaletra, Aluvia
Ritonavir	RTV	Norvir
Nelfinavir	NFV	Viracept

Tableau IX : Fréquences des antirétroviraux prescrits pour les patients traités.

Molécules ARV	Fréquence (n =913)	Association (n = %)	
3TC+AZT+EFV	493	<b>02 INTI+ 01 INNTI (71,41%)</b>	
3TC+EFV+ddI	40		
3TC+AZT+NVP	39		
3TC+ABC+EFV	34		
3TC+EFV+TDF	10		
3TC+D4t+EFV	10		
3TC+ABC+NVP	06		
EFV+FTC+TDF	04		
3TC+NVP+TDF	04		
3TC+ddI+NVP	03		
AZT+ddI+EFV	03		
AZT+ddI+NVP	02		
ddI+D4t+NVP	02		
ddI+ABC+NVP	02		
<b>Total</b>	<b>n= 652</b>		
3TC+AZT+LPVr	120	<b>02 INTI + 01 IP (24,97%)</b>	<b>Trithérapie</b>
3TC+AZT+IDV	47		
3TC+ABC+LPVr	13		
3TC+TDF+LPVr	08		
3TC+ddI+IDV	06		
3TC+D4T+IDV	06		
3TC+ABC+IDV	05		
3TC+ddI+LPVr	05		
ddI+D4t+IDV	04		
AZT+ddI+IDV	03		
3TC+AZT+NFV	03		
TDF+IDV+3TC	02		
ABC+TDF+LPVr	02		
3TC+D4t+LPVr	02		
TDF+FTC+LPVr	02		
<b>Total</b>	<b>n= 228</b>		
3TC+AZT+ABC	18	<b>03 INTI (2,84%)</b>	
3TC+AZT+FTC	04		
3TC+AZT+ddI	02		
3TC+D4t+ddI	02		
<b>Total</b>	<b>n= 26</b>		
3TC+AZT+IDV+RTV	03	<b>02 INTI + 02 IP (0,54%)</b>	
3TC+AZT+IDV+LPVr	02		
<b>Total</b>	<b>n= 05</b>		<b>Quadrithérapie</b>
3TC+AZT+EFV+LPVr	02	<b>02 INTI+ 01 INNTI + 01 IP (0,21%)</b>	
<b>Total</b>	<b>n= 02</b>		

**III.1.3.2- RESULTATS DE LA CHARGE VIRALE**

Parmi les 594 PVIH, seulement 170 patients avaient la date précisée du début de traitement, pour les autres (424 patients) la date du début de leur traitement est inconnue.

Sur le total de ces PVIH inclus dans l'étude, seuls 11 patients étaient naïfs de traitement. La moyenne de leur CV est plus importante que celle des patients traités, comme le montre le tableau (tableau X).

**Tableau X :** Moyenne de la charge virale chez PVIH naïfs et traités.

Patient/CV	Moyenne CV	Total (n=594)
Traités	156 387 (copies /ml)	583
Naïfs	297 674 (copies /ml)	11

On constate que seuls 59 patients ont eu une CV indétectable après 06 mois de traitement. Les 68 patients qui restent ont toujours gardé une CV détectable même sous traitement. Quant aux 20 patients, leur CV est devenue indétectable en moins de 06 mois (Tableau XI).

**Tableau XI :** Evolution de la charge virale selon la durée du traitement.

CV/ temps	≤ 06 mois	≥ 06 mois
CV indétectable (≤50copies/ml)	20	59
CV détectable (≥50 copies/ml)	23	68

**III.2- DISCUSSION**

Le suivi biologique joue un rôle essentiel dans la prise en charge de l'infection VIH. Chez le patient non traité, il permet de déterminer le moment propice pour l'introduction d'un traitement ARV ou pour débiter la prévention de certaines infections opportunistes. Le suivi du patient traité permet de vérifier l'efficacité (grâce à la mesure de la CV

VIH-1 et du taux des LT CD4) et la tolérance (paramètres biochimiques et hématologiques) du traitement ARV.

Cette étude s'est focalisée sur le suivi virologique des PVIH par la quantification de l'ARN viral plasmatique (charge virale VIH-1).

### **III.2.1- FREQUENCES DE LA MESURE DE LA CHARGE VIRALE**

Dans cette étude 76,1% des PVIH ont effectué une seule CV, ainsi, on constate que la plus grande proportion des PVIH n'a pas bénéficié d'un suivi virologique adéquat et régulier. En comparant le nombre de PVIH diagnostiqués en Algérie par rapport au nombre de CV réalisées, on constate que la réalisation de cette analyse ne concerne pas tous les patients. Ceci peut être expliqué par l'absence de laboratoires accessibles dans les différentes régions du pays et la difficulté d'accès à cause de la distance. Il est regrettable de constater qu'à ce jour, la mesure de la CV VIH-1 n'est pas ou reste peu réalisable dans les différents CDR. Les raisons de cette insuffisance, en matière de suivi virologique sont multiples: transport et logistique des réactifs difficiles, prix élevé des tests moléculaires et ressources humaines spécialisées en biologie moléculaire limitées uniquement à Alger centre.

### **III.2.2- RESULTAT GLOBAL DE LA CHARGE VIRALE SELON LES CARACTERISTIQUES SOCIODEMOGRAPHIQUE**

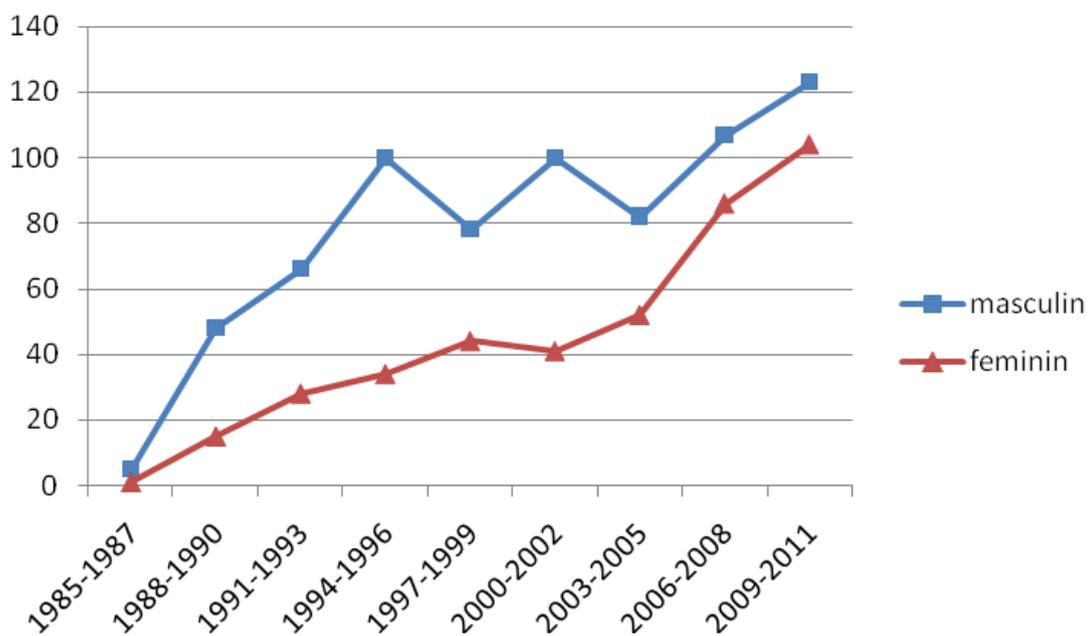
#### **III.2.2.1- REPARTITION DE LA CHARGE VIRALE SELON L'ORIGINE**

En Algérie, cette analyse est centralisée au niveau de l'Institut Pasteur d'Alger (exception faite pour l'Etablissement Hospitalier de Santé (EHS) ELKETTAR où la CV est réalisée pour les PVIH suivis dans cet hôpital) ce qui fait que la population d'étude provient de tout le territoire national. Néanmoins, on constate que les PVIH originaires de la région sanitaire d'Oran représentent la proportion la plus importante 41,35%, ceci peut être expliqué relativement par le nombre élevé de PVIH dans cette région, ainsi que la présence de plusieurs centres de prise en charge thérapeutique. Concernant Alger, les PVIH sont suivis au niveau de l'EHS EL KETTAR, et leur CV n'est réalisée à l'Institut Pasteur d'Alger que dans des situations particulières, ce qui explique le pourcentage faible de PVIH 15,6% originaires de la région sanitaire d'Alger dans la population étudiée. Pour ceux qui sont venus plus d'une fois, la fréquence de réalisation de la CV est décroissante allant de 15,2% pour une fréquence de deux fois à 02% pour ceux qui sont venus quatre fois ou plus. Pour la région sanitaire de Constantine,

on constate que 50,67% de PVIH sont venus plus d'une fois, ce qui correspond à la proportion la plus importante par rapport aux autres régions sanitaires.

### III.2.2.2- REPARTITION DE LA CHARGE VIRALE SELON LE SEXE

En analysant les résultats, on constate qu'aussi bien les femmes que les hommes ont réalisé des CV, avec une légère prédominance des hommes par une sex-ratio de 1,2. Ceci peut être corrélé et extrapolé au nombre total de PVIH en Algérie selon les déclarations du LNR VIH/SIDA dont 54,4% sont des hommes et 45,6% sont des femmes, alors qu'au début de l'épidémie en Algérie, l'infection VIH touchait surtout le sexe masculin comme le montre la figure 15.



**Figure 15** - Evolution par année du nombre de PVIH en fonction du sexe

### III.2.2.3- REPARTITION DE LA CHARGE VIRALE SELON L'ÂGE

Concernant l'âge, les PVIH de tous âges confondus viennent pour réaliser une CV, la tranche d'âge regroupant le plus grand nombre de patients se situe entre 20 et 50 ans avec une moyenne d'âge de 38 ans. Cela concorde avec les statistiques déclarées par le LNR VIH/SIDA, montre que l'infection touche les jeunes adultes algériens compris entre 25 et 39 ans.

### III.2.2- EVALUATION DE LA CHARGE VIRALE DES PATIENTS VIH APRES TRAITEMENT

Il faut rappeler que les ARV ont été introduits en Algérie, en 1998, sans la mise en place d'un suivi immuno-virologique des PVIH. Le suivi virologique n'a été mis en place que trois ans après, soit en 2001. Les patients traités ou non encore traités ne bénéficiaient pas d'une

surveillance virologique régulière. La non-disponibilité de la quantification de la CV et du dosage des LT CD4, ont fait qu'en pratique clinique, la surveillance était partielle et seulement clinique, insuffisante pour apprécier l'évolution de l'infection et l'efficacité du traitement ARV.

### III.2.2.1- ASSOCIATIONS DE MOLECULES ANTIRETROVIRALES PRESCRITES

Le régime thérapeutique suivi par la population regroupe trois classes de molécules ARV, les INTI représentent la classe la plus administrée et retrouvée dans toutes les associations, suivies des INNTI puis des IP. On constate l'absence des inhibiteurs de CCR5 et des inhibiteurs de l'IN malgré leur commercialisation depuis plusieurs années. Le nombre de combinaisons thérapeutiques est de 33 trithérapies chez 99,25% des cas et 03 quadrithérapies chez 0,75% des cas. La combinaison prédominante est l'association de 02 INTI + 01 INNTI dite de la première ligne représentée chez 71,41% des cas en particulier la combinaison 3TC+AZT+EFV prescrite pour 75,61% des cas. La molécule AZT est remplacée dans la combinaison par une autre molécule de la même famille (INI); TDF dont la nouvelle combinaison est prescrite 20 fois ou ABC dont la nouvelle combinaison est prescrite 34 fois, et cela, en raison de problème de toxicité hématologique. La molécule EFV est remplacée par la molécule NVP et la nouvelle combinaison est prescrite 39 fois. Ce remplacement est recommandé dans le cas de toxicité neurologique ou chez la femme en âge de procréer et la femme enceinte (action tératogène de l'EFV). La molécule ABC est remplacée par la molécule NVP en cas de pancréatite.

Le traitement ARV de la deuxième ligne (02 INI + 01 IP), constitue 28,58% de combinaisons des trithérapies qui restent. Il est prescrit en cas d'échec thérapeutique, qui regroupe plusieurs situations: il peut s'agir d'un échec clinique dans le cadre d'une infection non contrôlée, d'un échec immunologique avec persistance d'un déficit immunitaire, ou d'un échec virologique résultant d'une réplication virale persistante sous traitement. L'échec virologique constitue la situation la plus fréquemment rencontrée. Par l'introduction d'une IP à la place de l'INNTI et le changement d'un INTI (ABC/3TC par TDF) (**Ministère de la Santé, 2010**).

Dans cette étude, le changement de ligne thérapeutique est lié à l'échec virologique observé chez 68 PVIH traités (un quart de PVIH). L'origine de cet échec virologique est du soit à un problème de résistance virale, soit probablement lié à une mauvaise observance au traitement ARV. L'échec virologique, lorsqu'il perdure, expose au risque d'accumulation de mutations de résistance aux ARV, de détérioration immunologique et de progression clinique. Dans cette situation, il est recommandé une intervention thérapeutique rapide, en changeant les molécules ARV.

### III.2.2.2- RESULTATS DE LA CHARGE VIRALE

La CV moyenne des patients naïfs est très augmentée, il s'agit là de la première mesure de CV faisant partie du bilan initial avant l'instauration du traitement. En effet, en absence de traitement ARV, la CV est élevée.

Une CV indétectable obtenue dans des délais courts (01 mois) permet une normalisation rapide des paramètres virologiques et semble être associée à une meilleure adhésion au traitement; c'est le cas des 20 patients qui ont vu leur CV devenir indétectable en moins de 06 mois. De nombreux travaux ont bien démontré que le succès thérapeutique durable était corrélé avec une baisse de la CV après une semaine à un mois de traitement ARV. Des valeurs élevées de CV sont prédictives d'un échec virologique.

Dans la cohorte des PVIH, la majorité ont vu leur CV diminuer progressivement au cours du temps. Ceci a bien été démontré dans la littérature que le but du traitement ARV est la diminution de la CV le plus bas et le plus longtemps possible (**Ministère de la Santé, 2013**).

## CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ce travail a permis de présenter les résultats concernant le suivi virologique par la mesure de la CV des patients algériens infectés par le VIH.

Face à ces résultats, il apparaît urgent de décentraliser la technique de la mesure de la CV vers des laboratoires de virologie des autres établissements de santé. La mise à disposition des cliniciens, des résultats d'analyse de la CV, allait contribuer ainsi à assurer un meilleur suivi virologique des PVIH.

Toutes ces données incitent bien évidemment à l'identification précoce des échecs virologiques par la mesure de la CV de façon régulière et au changement rapide des traitements avec des combinaisons efficaces. La mesure de la CV permet d'obtenir un diagnostic direct du succès ou de l'échec virologique.

La mesure de la CV doit maintenant faire partie intégrante du bilan biologique de surveillance, afin d'améliorer la prise en charge biologique et thérapeutique des PVIH.

Compte tenu des résultats de cette étude et dans la perspective d'une surveillance virologique et thérapeutique optimale de l'infection à VIH en Algérie, on propose:

La décentralisation de la mesure de la CV du VIH-1 vers les laboratoires des CDR en renforçant les capacités de ces laboratoires en équipement et en ressources humaines.

La mise à la disposition de ces laboratoires, d'appareils de mesure de la CV agréés, avec l'organisation de formations spécifiques en biologie moléculaire pour les personnes ressources, contribueraient à généraliser la mesure de la CV à tout le territoire national. Cela permettrait à tous les PVIH, l'accès à la CV, par conséquent, l'identification des sujets en échec virologique, ainsi que, la prévention de l'émergence de la résistance du VIH aux ARV parmi ces populations. La CV est un indicateur irremplaçable de l'efficacité des traitements et du développement de résistance du VIH aux ARV.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Acheson, N H. and Beard, P. M. (2011). Human Immunodeficiency Virus. In *Fundamentals of Molecular Virology*, (pp. 354-364): John Wiley & Sons.
- Agut, H., Boutolleau, D. and Burrel, S. (2014). Diagnostic virologique. *EMC - Maladies infectieuses*, 11(1), 1-9.
- Allers, K., Hütter, G., Hofmann, J., Loddenkemper, C., Rieger, K., Thiel, and E.Schneider, T. (2011). Evidence for the cure of HIV infection by CCR5 $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 stem cell transplantation. *Blood*, 117(10), 2791-2799.
- Ameziane, N. et Bogard, M., Lamoril, J. (2005). Amplification génique. In *Principes de biologie moléculaire en biologie clinique*, (pp. 229-308): Elsevier.
- Amiel, C. et Schneider, V. (2010). Virus de l'immunodéficience humaine. *Biologie médicale*, 90, 55-0145.
- Arhel, N. et Charneau, P. (2009). Devenir du génome VIH-1: du transport intracellulaire jusqu'à l'intégration. *Virologie*, 13(2), 5-13.
- Avettand-Fènoël, V. et Rouzioux, C. (2009). L'ADN VIH-1: évolution au cours de l'infection, valeur pronostique et intérêt. *La Lettre de l'Infectiologue*, 24(6), 206-211.
- Barré-Sinoussi, F and al., (1983). Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science*, 220(4599), 868-871.
- Beauclair, G., Tchalikian-Cosson, A., Bridier-Nahmias, A., Zamborlini, A., Lesage, P. and Saïb, A. (2012). Ancrage chromatinien et intégration rétrovirale: implication des protéines IN et Gag. *Virologie*, 16(2), 73-84.
- Bergamaschi, A., David, A. et Pancino, G. (2011). Les interactions complexes entre le virus de l'immunodéficience humaine et les macrophages. *Virologie*, 15(2), 87-99.
- Bienvenu, B., Krivine, A., Spiridon, G., Pietri, M.-P., Lebaut, V., Sicard, D., Lebon, P., Salmont, D. et Launay, O. (2005). Résumés Des Communications Affichées. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 35(2), 174.
- Bigaillon, C., Mérens, A. et Rapp, C. (2010). Intérêt des tests génotypiques de résistance du VIH aux antirétroviraux en pratique clinique quotidienne. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2010(422), 69-82.
- Bouthemy, C., Nel, I., Oudot Mellakh, T. et Theodorou, I. (2013). L'apport de la génétique de l'hôte dans la maladie VIH. *Pathologie Biologie*, 61, 17-20.
- Bouzeghoub, S. (2007). La diversité génétique du VIH-1 et données actuelles en Algérie. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2007(396), 17-20.

- Brun-Vézinet, F. and Charpentier, C. (2013). Update on the human immunodeficiency virus. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 43(5), 177-184.
- Caby, F. et Katlama, C. (2013). Molécules antirétrovirales. *EMC - Maladies infectieuses*, 10(2), 1-11.
- Castel, A. D., Magnus, M. and Greenberg, A. E. (2015). Update on the Epidemiology and Prevention of HIV/AIDS in the USA. *Current Epidemiology Reports*, 2(2), 110-119.
- Cauquil, C., Cailhol, J., Cazenave, B., Gros, H., Pizzocolo, C., Abgrall, S. et Bouchaud, O. (2014). Infection par le virus de l'immunodéficience humaine chez l'adulte et urgences. *EMC - Médecine d'urgence*, 9(3), 1-13.
- Chaix, M.-L. (2008). Place des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) dans la prévention de la transmission mère-enfant du VIH-1. *Virologie*, 12(32), 37-44.
- Charpentier, C., Damond, F., Brun-Vézinet, F. et Descamps, D. (2011). Virus de l'immunodéficience humaine. *EMC - Maladies infectieuses*, 8, 050-B-015.
- Chong, H., Xu, S., Zhang, C., Nie, J. and Wang, Y. (2009). Mutation L33M in the HR1 region of HIV-1 gp41 may play a role in T20 resistance. *Journal of Clinical Virology*, 45(3), 255-258.
- Ciuffi, A. and Bushman, F. (2014). Integration. In T. J. Hope, M. Stevenson et D. Richman (Eds.), *Encyclopedia of AIDS*, (pp. 1-10): Springer New York.
- Delaugerre, C. (2008). La résistance du VIH: des premières générations d'inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) aux nouvelles générations. *Virologie*, 12(32), 29-36.
- Depiesse, F. (2009). 14 - VIH, sida et activité physique. In J. L. Grillon et O. C. Depiesse (Eds.), *Prescription des activités physiques*, (pp. 243-250). Paris: Elsevier Masson.
- Dominique, V. and Béatrice, P. (2002). Analyse des acides nucléiques. *Techniques de l'ingénieur Analyse et mesure en biotechnologie, base documentaire : TIB160DUO*(ref. article : p3315).
- Eberhard, A., Ponceau, B., Biron, F. and Verrier, B. (2005). Les mécanismes de résistance à la transmission sexuelle du VIH-1. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 35(11), 517-524.
- El Hentati, F.-Z., Iobagiu, C. and Lambert, C. (2009). Cytométrie et ses applications en immunologie clinique. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2009(410), 23-32.
- Etienne, L. et Peeters, M. (2010). Origine du VIH, une réussite émergente. *Virologie*, 14(3), 171-184.

- Fleury, H. J. (2011). VIH-1, sous-types et CRF différences dans la réponse aux traitements et la résistance aux antirétroviraux. *La Lettre de l'Infectiologue*, 26(5), 204-210.
- Fleury, H. J. A. (2009). Retrovirus. In *Virologie humaine*, (pp. 158-179): Elsevier Masson.
- Frangé, P., Blanche, S. (2014). Infection de l'enfant par le virus de l'immunodéficience humaine. *EMC - Traité de Médecine Akos*, 9(2), 1-5.
- Gallo, R. C and al., (1984). Frequent Detection and Isolation of Cytopathic Retroviruses (HTLV-III) from Patients with AIDS and at Risk for AIDS. *Science*, 224(4648), 500-503.
- Garraffo, R. (2008). Pharmacologie des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse du VIH. *Virologie*, 12(32), 15-28.
- Ghosn, J. et Katlama, C. (2008). 6 - Principes et Gestion des Traitements Antirétroviraux. In C. K. Ghosn (Ed.), *VIH et sida (2e édition)*, (pp. 74-93). Paris: Elsevier Masson.
- Gluckman, J. (1996). Mécanismes immunopathologiques de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine. *La Revue de médecine interne*, 17(4), 313-320.
- Greder Belan, A. (2009). Épidémiologie, physiopathologie et modalités de prise en charge thérapeutique du VIH. *Soins*(734), 32-35.
- Greder Belan, A. et Chaplain, C., Boussairi, A. (2008). Suivi biologique de l'infection à VIH chez l'adulte. *Immuno-analyse et biologie spécialisée*, 23, 95-102.
- Green, W. and Peterlin, B. M. (2008). Molecular biology of HIV: implications for new therapies. *Global HIV/AIDS medicine. Elsevier, Pennsylvania*, 23-38.
- Hemelaar, J. (2013). Implications of HIV diversity for the HIV-1 pandemic. *Journal of Infection*, 66(5), 391-400.
- Hérate, C., Benichou, S. and Lambelé, M. (2015). HIV "Auxiliary" Proteins. In T. J. Hope, M. Stevenson et D. Richman (Eds.), *Encyclopedia of AIDS*, (pp. 1-9): Springer New York.
- Hocini, H. et Andreoletti, L. (2009). Méthodes d'analyse et de suivi de l'infection par les virus de l'immunodéficience humaine. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2009(417), 39-48.
- Hoen, B. (2011). Quand et comment commencer un traitement antirétroviral chez l'adulte infecté par le VIH ? *Journal des Anti-infectieux*, 13(2), 117-121.
- Huraux, J.-M. (2003). HIV Structure, multiplication et physiopathologie. In *Traité de virologie médicale*, (pp. 319-330): De Boeck Secundair.
- Jouvenet, N. (2009). L'assemblage du VIH-1 visualisé en temps réel. *Virologie*, 13(1), 53-55.
- Karsten, C. and Pöhlmann, S. (2014). Attachment/Binding. In T. J. Hope, M. Stevenson et D. Richman (Eds.), *Encyclopedia of AIDS*, (pp. 1-10): Springer New York.

- Katlama, C. et Ghosn, J. (2012). Prise en charge de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine. *EMC - Maladies infectieuses*, 9(4), 1-12.
- Kirchhoff, F. (2014). HIV Life Cycle: Overview. In T. J. Hope, M. Stevenson et D. Richman (Eds.), *Encyclopedia of AIDS*, (pp. 1-9): Springer New York.
- Klimkait, T. (2008). Tests VIH. *NOVA - Forum Med Suisse*, 8(15), 279-281.
- Ktorza, N. (2008). 3 - Le Médecin Généraliste Face au Diagnostic D'une Infection par le VIH. In C. K. Ghosn (Ed.), *VIH et sida (2e édition)*, (pp. 16-26). Paris: Elsevier Masson.
- Lawrence, P., Zimmer, A. et Paul, S. (2009). Infection muqueuse par le virus VIH-1: mécanismes, conséquences, perspectives de vaccination. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2009(410), 45-54.
- Le Tortorec, A., Dejucq-Rainsford, N. (2007). Le tractus génital masculin: un hôte pour le VIH. *Gynécologie Obstétrique & Fertilité*, 35(12), 1245-1250.
- Lot, F., Semaille, C. (2006). Épidémiologie de l'infection par le VIH dans le monde et en France. *La revue du praticien*, 56(9), 944-952.
- Lu, L. and Jiang, S. (2014). Fusion. In T. J. Hope, M. Stevenson et D. Richman (Eds.), *Encyclopedia of AIDS*, (pp. 1-9): Springer New York.
- Lu, Y. and Essex, M. (2001). Lentivirus. In C. Tidona, G. Darai et C. Büchen-Osmond (Eds.), *The Springer Index of Viruses*, (pp. 1033-1042): Springer Berlin Heidelberg.
- Marcelin, A. G. (2008). 2 - Comment Faire le Diagnostic de L'infection par le VIH? In C. K. Ghosn (Ed.), *VIH et sida (2e édition)*, (pp. 8-15). Paris: Elsevier Masson.
- Masquelier, B. and al., (2001). Genotypic and Phenotypic Resistance Patterns of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Variants with Insertions or Deletions in the Reverse Transcriptase (RT): Multicenter Study of Patients Treated with RT Inhibitors. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 45(6), 1836-1842.
- May, O. et May, T. (2011). Infection à VIH. In *Maladies infectieuses*, (pp. 65-79): Editions Vernazobres-Greggo.
- Ministère de la Santé, de la Population, et de la Réforme Hospitalière (2010). Guide national de prise en charge thérapeutique de l'infection VIH/sida et des infection opportunistes de l'adulte et de l'enfant. Alger: Direction de la prévention, 35p
- Ministère de la Santé, de la Population, et de la Réforme Hospitalière (2013). Rapport d'activité sur la riposte nationale au VIH/SIDA en Algérie. Alger: Direction de la prévention, 52p
- Modrow, S., Falke, D., Truyen, U. and Schätzl, H. (2013). Viruses with Single-Stranded RNA Genomes and Double-Stranded DNA as an Intermediate Product. In *Molecular Virology*, (pp. 555-624): Springer Berlin Heidelberg.

- Morand-Joubert, L. (2009). Place du maraviroc dans la stratégie antirétrovirale: intérêt et faisabilité des tests génotypiques dans la détermination du tropisme viral. *Virologie*, 13(3), 159-169.
- Passaes, C. P. and Sáez-Cirión, A. (2014). HIV cure research: Advances and prospects. *Virology*, 454–455(0), 340-352.
- Pellegrin, J.-L. (2004). Les stratégies thérapeutiques contre l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine ou «retour vers le futur». *Médecine et Maladies Infectieuses*, 34, S229-S235.
- Plantier, J.-C. and Simon, F. (2011). Les variants rares du VIH-1. *Journal des Anti-infectieux*, 13(3), 170-183.
- Poitras, E. and Houde, A. (2002). La PCR en temps réel: principes et applications. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 2(2), 2-11.
- Pornillos, O. and Ganser-Pornillos, B. (2014). HIV-1 Virion Structure. In T. J. Hope, M. Stevenson et D. Richman (Eds.), *Encyclopedia of AIDS*, (pp. 1-6): Springer New York.
- Roche, Y. (2010). Chapitre 34 - Infection par le VIH et syndrome d'immunodéficience acquise. In Y. Roche (Ed.), *Risques médicaux au cabinet dentaire en pratique quotidienne*, (pp. 515-543). Paris: Elsevier Masson.
- Roquebert, B., Damond, F., Brun-Vézinet, F. et Descamps, D. (2009). Diversité génétique des VIH et ses conséquences. *Pathologie Biologie*, 57(2), 142-148.
- Roquebert, B. et Descamps, D. (2007). La résistance du VIH aux inhibiteurs de l'intégrase. *Virologie*, 11(3), 175-182.
- Rouzioux, C. et Avettand-Fénoël, V. (2009). La quantification de l'ADN-VIH: où, comment, pourquoi? *Virologie*, 13(2), 15-23.
- Solas-Chesneau, C., Quaranta, S. et Lacarelle, B. (2009). Pharmacologie des inhibiteurs de l'intégrase du VIH. *Virologie*, 13(2), 25-34.
- Tournier, J. N., Verrier, B., Biron, F., Mandrand, B. et Peyramond, D. (1995). Variants du virus de l'immunodéficience humaine de type 1. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 25(5), 709-715.
- UNAIDS. *World AIDS Day 2014 Report - Fact sheet*. [en ligne]. Disponible sur: [Http://www.unaids.org/en/resources/campaigns/World-AIDS-DayReport2014/factsheet](http://www.unaids.org/en/resources/campaigns/World-AIDS-DayReport2014/factsheet) (Page consultée le 21/04/2015).
- Vaubourdolle, M. (2007). Infection par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV). In *Infectiologie*, (pp. 413-432): Wolters Kluwer France.

- Vessi re, A., Delaugerre, C., Plantier, J.-C. et Simon, F. (2010). Passages inter-espèces des virus de l'immunodéficiency humaine et simienne chez les primates. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2010(423), 43-53.
- Vincent, I., Goujard, C. et Taburet, A.-M. (2008). 54 - Traitement de l'infection par le virus de l'immunodéficiency humaine. In J. Calop, S. Limat et C. Fernandez (Eds.), *Pharmacie clinique et thérapeutique (3e édition entièrement revue)*, (pp. 1061-1092). Paris: Elsevier Masson.
- Votteler, J. and Schubert, U. (2008). Human Immunodeficiency Viruses: Molecular Biology. In B. W. J. M. H. V. V. Regenmortel (Ed.), *Encyclopedia of Virology (Third Edition)*, (pp. 517-525). Oxford: Academic Press.
- WHO. *Core epidemiological - slides HIV/AIDS estimates*. [en ligne]. Disponible sur: [Http://www.who.int/hiv/data/2014\\_epi\\_core.ppt](http://www.who.int/hiv/data/2014_epi_core.ppt) (Page consultée le 21/05/2015)
- Worobey, M., Gemmel, M. and Teuwen, D. (2008). Le VIH déjà présent au Congo il y a un siècle. *Nature*, 455, 661-664.

## ANNEXE 01 – Classification de l'infection par le VIH.

## Classifications de l'infection par le VIH

## Classification OMS

## Stade 1

- Patient asymptomatique.
- Adénopathies persistantes généralisées.

## Stade 2

- Perte de poids modérée, inexplicée, inférieure à 10 % du poids corporel.
- Manifestations cutanéomuqueuses mineures (dermite séborrhéique, ulcérations buccales récurrentes, chéilite angulaire, éruptions papulaires pruriteuses).
- Zona.
- Infections récidivantes des voies aériennes supérieures (pharyngite, otite, bronchite, sinusite).

## Stade 3

- Manifestations pour lesquelles un diagnostic de présomption peut être fait sur la base des signes cliniques ou de simples investigations :
  - perte de poids sévère, supérieure à 10 % du poids corporel ;
  - diarrhée chronique inexplicée > 1 mois ;
  - fièvre prolongée inexplicée > 1 mois (intermittente ou constante) ;
  - candidose buccale ;
  - leucoplasie chevelue buccale ;
  - tuberculose pulmonaire dans les deux années précédentes ;
  - infections bactériennes présumées sévères (pneumopathies, méningites, infections osseuses ou articulaires, bactériémies...)
  - stomatite ulcéreuse nécrosante aiguë.
- Manifestations pour lesquelles une confirmation par des tests de diagnostic est nécessaire :
  - anémie inexplicée (hémoglobine < 8 g/dL) ;
  - neutropénie (neutrophiles < 500/μL) ;
  - thrombocytopénie (plaquettes < 50000/μL).

## Stade clinique 4

- Manifestations pour lesquelles un diagnostic de présomption peut être fait sur la base des signes cliniques ou par de simples investigations :
  - angiomatose bacillaire ;
  - candidose persistante oropharyngée ou vaginale ;
  - dysplasie modérée ou sévère du col utérin ;
  - carcinome *in situ* ;
  - hyperthermie (38,5 °C) ou diarrhée > 4 semaines ;
  - leucoplasie chevelue linguale ;
  - zona récurrent ou envahissant plus de un dermatome ;
  - purpura thrombocytopenique idiopathique ;
  - listériose ;
  - neuropathie périphérique.

## Stade C (= stade clinique 4 de l'OMS)

Stade du sida, c'est à dire phase symptomatique chez un sujet ayant présenté l'une au moins des manifestations majeures suivantes (infections opportunistes ou tumorales) :

- candidose trachéale, bronchique, pulmonaire, œsophagienne ou extrapulmonaire ;
- cryptococcose extrapulmonaire ;
- pneumonie à *Pneumocystis carinii* ;
- toxoplasmose cérébrale ;
- infection à CMV autre qu'hépatique, splénique ou ganglionnaire ;
- rétinite à CMV ;

- *Pneumocystis carinii* ;
- pneumonie bactérienne récurrente sévère ou radiologique ;
- cryptococcose extrapulmonaire ;
- candidose œsophagienne ;
- infections à virus *herpes simplex* chroniques ;
- tuberculose extrapulmonaire ;
- sarcome de Kaposi ;
- toxoplasmose du système nerveux central ;
- encéphalopathie VIH.
- Manifestations pour lesquelles une confirmation par des tests de diagnostic est nécessaire :
  - infections à mycobactéries disséminées non tuberculeuses ;
  - leucoencéphalopathie multifocale progressive ;
  - candidose trachéenne, bronchique ou pulmonaire ;
  - cryptosporidiose ;
  - isopsoriasis ;
  - infections virales viscérales à VHS et infections à cytomégalovirus (rétinienne ou autres telles que hépatique, splénique ou lymphoïde) ;
  - toute mycose disséminée (histoplasmose, coccidioïdomycose, penicilliose) ;
  - septicémie récurrente à salmonelles non typhoïdienne ;
  - lymphomes (cérébral ou non hodgkinien à cellules B) ;
  - carcinome cervical invasif ;
  - leishmaniose viscérale.

## Classification CDC

## Stade A

- Primo-infection symptomatique ou asymptomatique se manifestant dans les 2 à 8 semaines après la contamination.
- Infection chronique latente cliniquement et active biologiquement durant plusieurs années.
- Lymphodénopathie persistante généralisée.

## Stade B (= stades cliniques 2 et 3 de l'OMS)

Phase symptomatique associant au moins une des manifestations mineures suivantes :

- encéphalopathie due au VIH ;
- infection herpétique (ulcère > 1 mois, ou bronchopulmonaire ou œsophagienne) ;
- infection à *Mycobacterium tuberculosis* pulmonaire ou extrapulmonaire ;
- infection à mycobactérie identifiée ou non, disséminée ou extrapulmonaire ;
- infection à *Mycobacterium avium* ou *Mycobacterium kansasii*, disséminée ou extrapulmonaire ;
- pneumopathie bactérienne récurrente ;
- septicémie à salmonelloses non typique récurrente ;
- cryptosporidiose intestinale > 1 mois ;
- isosporose intestinale chronique > 1 mois ;
- leucoencéphalopathie multifocale progressive ;
- coccidioïdomycose disséminée ou extrapulmonaire ;
- histoplasmose disséminée ou extrapulmonaire ;
- sarcome de Kaposi ;
- lymphome de Burkitt ;
- lymphome immunoblastique ;
- lymphome cérébral primaire ;
- cancer invasif du col ;
- syndrome cachectique dû au VIH.

## **INSTITUT PASTEUR D' ALGERIE**

**LABORATOIRE NATIONAL DE REFERENCE DE L'INFECTION PAR LE VIH .  
SERVICE DE VIROLOGIE HUMAINE ANNEXE DE SIDI-FREDJ TEL: 021 37 68 50/51 / 021376977**

### **FICHE TECHNIQUE DU PRELEVEMENT POUR CHARGE VIRALE DU VIH-1**

#### **1 - PRELEVEMENT DE L' ECHANTILLON**

- Le test de charge virale du VIH-1 doit être effectué sur un échantillon de PLASMA .
- Le sang total doit être prélevé dans des tubes stériles avec EDTA comme anticoagulant ( jamais héparine )
- Ne pas conserver le sang total entre 2°- 25° plus de 6 H .
- Centrifuger le sang total à 800 -1600 g pendant 20 mn à T° ambiante .
- Transférer le PLASMA dans un tube stérile en polypropylène .
- Quantité de PLASMA requise : 2 ml minimum .

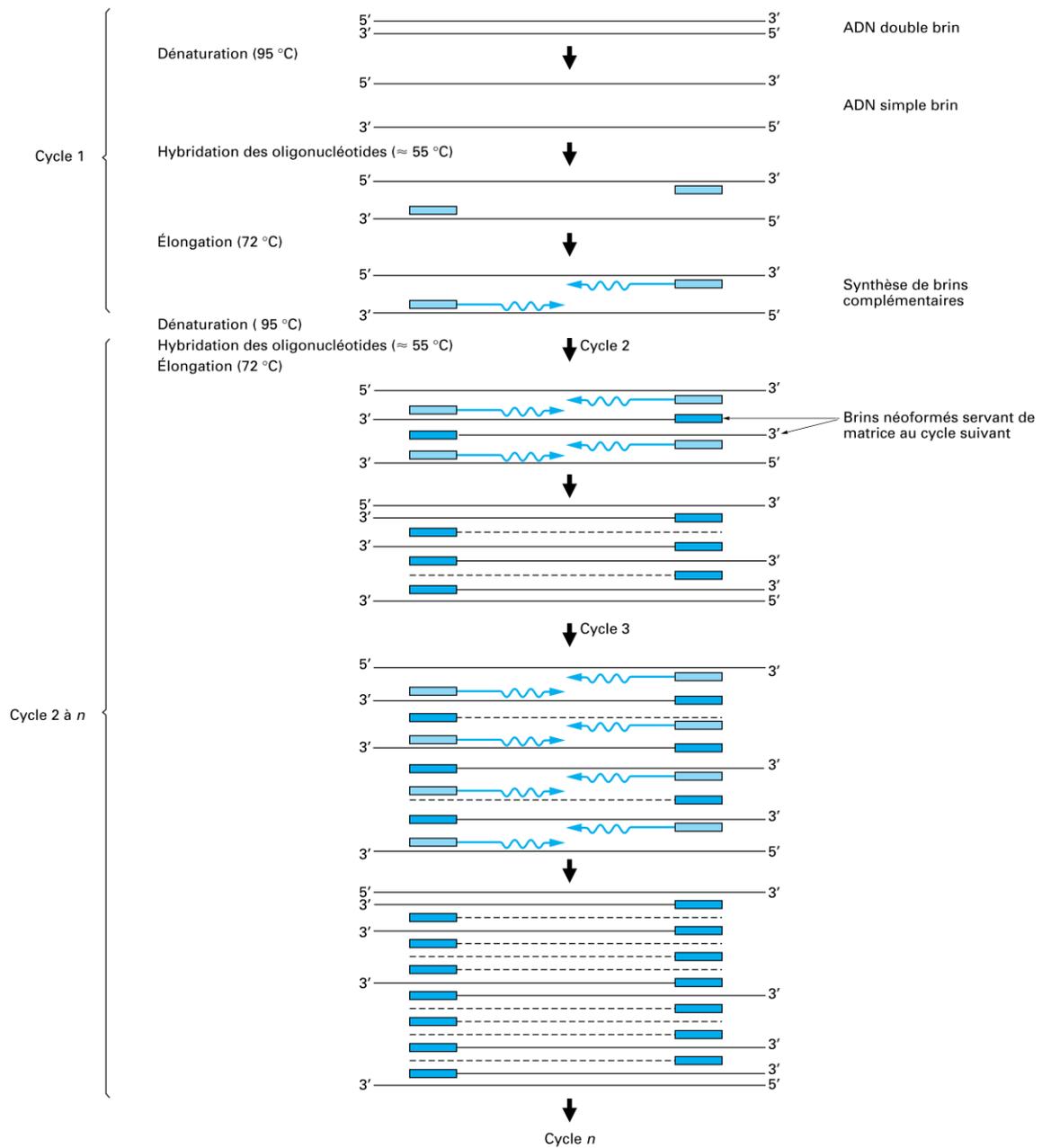
#### **2. TRANSPORT DE L' ECHANTILLON**

- Le transport de sang total ou de plasma doit s'effectuer conformément au règlement en vigueur pour le transport des agents infectieux .
- Le sang total doit être centrifugé dans les 6 heures qui suivent son prélèvement .
- IL est préférable de transporter le Plasma à 2°-8°C ( glacière )

#### **3 CONSERVATION DES ECHANTILLONS**

- Le sang total ne doit pas être conservé plus de 6h à 2-8°C
- Le plasma peut se conserver : - 24H à température ambiante ( 20-30°C ) .
  - 5 JOURS à 2 - 8° c
  - Plus de 5 jours entre -20°c et - 80°c .

## ANNEXE 03 - Représentation des trois premiers cycles d'une PCR.



ANNEXE 04 – Rapport AMPLILINK, Cobas TaqMan 48.

your company name

your department

**AMPLILINK 3.3 Report: Sample Result Detail**

**Order**

Order Number: CV 464 / 15  
 Order Date/Time: 03/13/2014 10:15:55  
 Ordered by: OMAR  
 Sample ID: CV 464 / 15  
 Diluted: No  
 Doctor:  
 Hospital:  
 OrderCom2:

**Patient**

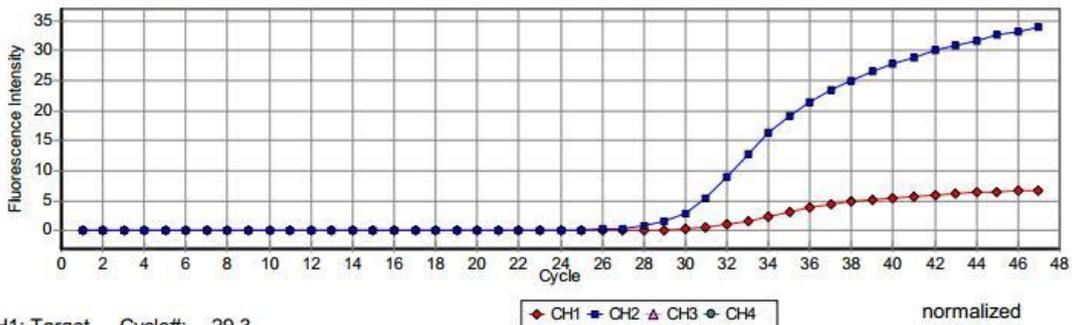
Patient ID:  
 Patient Name:  
 Date of Birth:  
 Sex:  
 PatientCom1:  
 PatientCom2:

Test	Result	Flag Remark	Timestamp
HI2CAP48	266 cp/ml	KIT_EXPIRY	03/13/2014 14:20:55

**Workflow**

Process Steps	Name	System ID	Position	Timestamp	Clip#
✓ Primary Pipetting	HI2CAP48	Manual	n/a	n/a	n/a
✓ AmpliPrep Preparation	HI2CAP48	ampliprep (392185)	0002 - 01	03/13/2014 11:00:04	\$S49335690
✓ TaqMan48 Amplification	HI2CAP48	taqman (00-1598)	TCB 003 - 12	03/13/2014 14:20:45	\$800312
✓ TaqMan48 Detection	HI2CAP48	taqman (00-1598)	TCB 003 - 12	03/13/2014 14:20:55	\$800312

**Measurement Details**



CH1: Target Cycle#: 29.3  
 CH2: QS/IC Cycle#: 25.9

**Reagent Kits**

Reagent Kit	Lot Number	Cassette Serial Nr.	Expiration Date	Calibration
PCR Kit	T0427900000	1678	03/31/2016	A: -0.0011 B: 0.3290 C: 3.5500

**Detail Flags**

AP26: Test Kit use time exceeded  
 TM40: STEP\_CORR-2

**Reviewing Information**

Accepted by: OMAR

Accepted Date/Time: 03/13/2014 14:22:31

## RESUME :

La charge virale (CV) du VIH-1 mesure l'intensité de la réplication, plus elle est élevée, plus la diminution des LT CD4 est rapide. Le traitement antirétroviral (ARV) vise à obtenir une CV inférieure à un seuil de détection ( $\leq 50$  copies /ml). La persistance d'une réplication virale sous traitement conduit à un échec virologique dû au développement de la résistance virale, puis à l'échappement viral au traitement responsable de la diminution du taux des LT CD4 et finalement de la progression clinique de l'infection. L'objectif de ce travail vise essentiellement à analyser la CV des patients séropositifs (PVIH) suivis en Algérie, et étudier l'échec virologique au traitement ARV. L'étude a porté sur 2488 patients recrutés entre le 09/11/2010 et le 29/04/2015, venant de différentes régions du territoire national, appartenant à différentes tranches d'âge et des deux sexes. La mesure de la CV se fait par amplification de l'ARN viral par la RT-PCR en temps réel, en utilisant deux appareils le COBAS® AmpliPrep/COBAS® TaqMan® HIV-1 et l'Abbott Real Time HIV-1 qui fonctionnent avec deux systèmes automatiques différents. Sur les 2488 PVIH, la répartition selon le sexe est légèrement hétérogène en faveur des hommes avec une sex-ratio de 1,2. Concernant l'âge, la tranche d'âge la plus touchée se situe entre 20 et 50 ans avec une moyenne d'âge de 38 ans. 1894 PVIH (76,1%) ont effectué une seule CV, pour les 594 PVIH (23,8%) qui sont venus plus d'une fois. La date de début du traitement ARV n'a été mentionné que dans 170 cas, dont 43 PVIH sont revenus avant 06 mois et 20 d'entre eux ont vu leur CV devenue indétectable. Pour les 127 PVIH qui sont revenus après 06 mois, l'échec virologique ( $CV \geq 50$  copies/ml) a été détecté chez 68 d'entre eux. Ces résultats montrent que les PVIH ne bénéficient pas d'un suivi virologique adéquat et régulier expliqué par l'absence de laboratoires accessibles dans les différentes régions du pays et la difficulté d'accès à cause de la distance. L'origine de l'échec virologique est due soit à l'émergence de mutants résistants, ou liée à une mauvaise observance au traitement ARV. Ce travail, a permis de présenter les résultats concernant le suivi virologique par la mesure de la CV des patients Algériens infectés par le VIH-1. Face à ces résultats, il apparaît urgent de décentraliser cette technique vers les laboratoires de virologie des autres établissements de santé. Toutes ces données incitent à l'identification précoce des échecs virologiques par la mesure de la CV de façon régulière et par conséquent au changement rapide de schémas thérapeutiques avec des combinaisons efficaces.

Mots-clés : Charge virale, RT-PCR, Traitement antirétroviral, VIH-1.

## ABSTRACT:

The quantity of HIV-1 RNA measures the replication intensity, the higher it is, and the greater the decrease in CD4 cell count is fast. Highly Active Antiretroviral Therapy (HAART) aims to obtain a quantity of HIV-1 RNA to a lower limit of detection ( $\leq 50$  copies /ml). The persistence of viral replication under HAART leads to virologic failure due to the development of viral resistance then to the viral escape processing responsible of the decrease of CD4 cell count and finally the clinical progression of the infection. The work aims to analyze the quantity of HIV-1 RNA of seropositive patients (HIVP) followed in Algeria, and studies the virologic failure to HAART. The study involved 2488 HIVP recruited between 09/11/2010 and 29/04/2015 from different areas of the country, belonging to different age groups and both sexes. The quantity of HIV-1 RNA is measured by amplification of HIV-1 RNA with the method real-time RT-PCR by using two automated systems (COBAS AmpliPrep / COBAS TaqMan HIV-1 and the Real Time Abbott HIV-1). On the 2488 patients, the distribution by sex is slightly heterogeneous in favor of men with a sex-ratio of 1.2. Regarding age, the most affected age group is between 20 and 50 years old with an average age of 38 years. 1894 patients (76.1%) have benefited from only one a quantity of HIV-1 RNA. for the 594 patients (23.8%) who came more than once. The start date of HAART has been mentioned only in 170 cases, 43 of which returned before 06 months and 20 of them had HIV-1 RNA not detected. For the 127 patients who returned after 06 months, virological failure ( $\geq 50$  copies / ml) was detected in 68 of them. These results show that HIVP don't benefit of adequate and regular virological monitoring, this is explained by the lack of accessible laboratories in different parts of the country and the difficult access because of distance. The cause of virologic failure is due either to the emergence of resistant mutants, or related to poor adherence to the HAART. This work gave us the opportunity to present the results for the virological monitoring by measuring the quantity of HIV-1 RNA of Algerian HIVP. Given these results, it appears urgent to decentralize this analysis to other virology laboratories. All these data encourage early identification of virologic failure by measuring the quantity of HIV-1 RNA regularly and consequently to rapid change in therapeutic regimens with effective combinations.

Keywords : HAART, HIV-1, Quantity of HIV-1 RNA, RT-PCR.