

Les Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH)

1. Introduction :

Les virus de l'immunodéficience humaine (VIH) ont été découverts **en France en 1983 pour le VIH de type 1 (VIH-1)**, soit deux ans à peine après la première description du syndrome d'immunodéficience acquise (Sida), et en 1986 pour le VIH de type 2 (VIH-2). Ces travaux ont été couronnés **en 2008 par l'attribution du prix Nobel de médecine aux professeurs Françoise Barré-Sinoussi et Luc Montagnier, codécouvreurs du virus.**

Depuis, des progrès considérables ont été faits dans la compréhension du cycle de réplication virale, la pathogénie du Sida, le traitement des infections opportunistes et dans le **développement de thérapeutiques antirétrovirales** qui ont révolutionné le pronostic de cette infection.

Ainsi, le nombre de décès liés au VIH/Sida a considérablement chuté dans le monde depuis les années 2000, grâce aux traitements antirétroviraux.

2. Aspects virologiques :

2.1. Classification-Structure :

Classification :

Les VIH appartiennent à la famille des **Retroviridae**, sous-familles des Orthoretrovirinae, genre **Lentivirus**.

Structure :

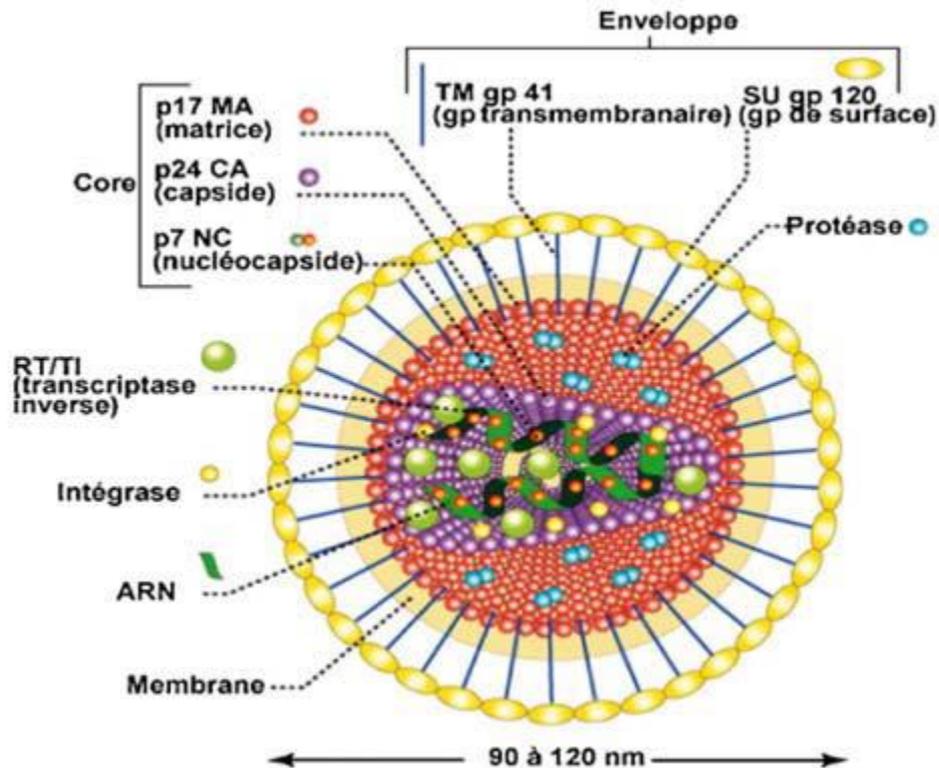
Les rétrovirus sont des particules virales enveloppées de 100 nm de diamètre dont la capsid, icosaédrique, contient les deux molécules d'ARN et comporte trois protéines internes différentes : **la protéine de la capsid (CA ou p24)**, **la protéine de la matrice (MA ou p17)** et **la nucléocapsid (NC ou p7)**.

La capsid virale contient également des molécules de **transcriptase inverse (TI) (p51-p66)**, **d'intégrase (INT ou p32)** et **de protéase (PROT ou p12)**.

L'enveloppe virale est formée d'une double couche lipidique d'origine cellulaire et de deux glycoprotéines (gp) virales. **La glycoprotéine transmembranaire, appelée glycoprotéine de fusion (gp41)**, traverse la double couche lipidique. La gp41 est attachée par des liaisons faibles, non covalentes, à la **glycoprotéine d'enveloppe externe, appelée gp120**, qui fait saillie à la surface du virus sous

forme de spicules et assure la reconnaissance et la fixation aux cellules cibles du VIH.

Structure du VIH-1



Organisation génomique :

Le génome ARN simple brin du VIH-1 a une longueur d'environ 9,6 kb.

Le génome des VIH contient trois gènes codant les différentes protéines virales : **gag**, **pol** et **env**, codant respectivement les protéines internes, les enzymes virales (protéase, transcriptase inverse et intégrase) et les glycoprotéines d'enveloppe.

Il est flanqué de chaque côté par des séquences répétées appelées **long terminal repeat (LTR)** qui jouent un rôle essentiel dans l'intégration du virus et sa transcription.

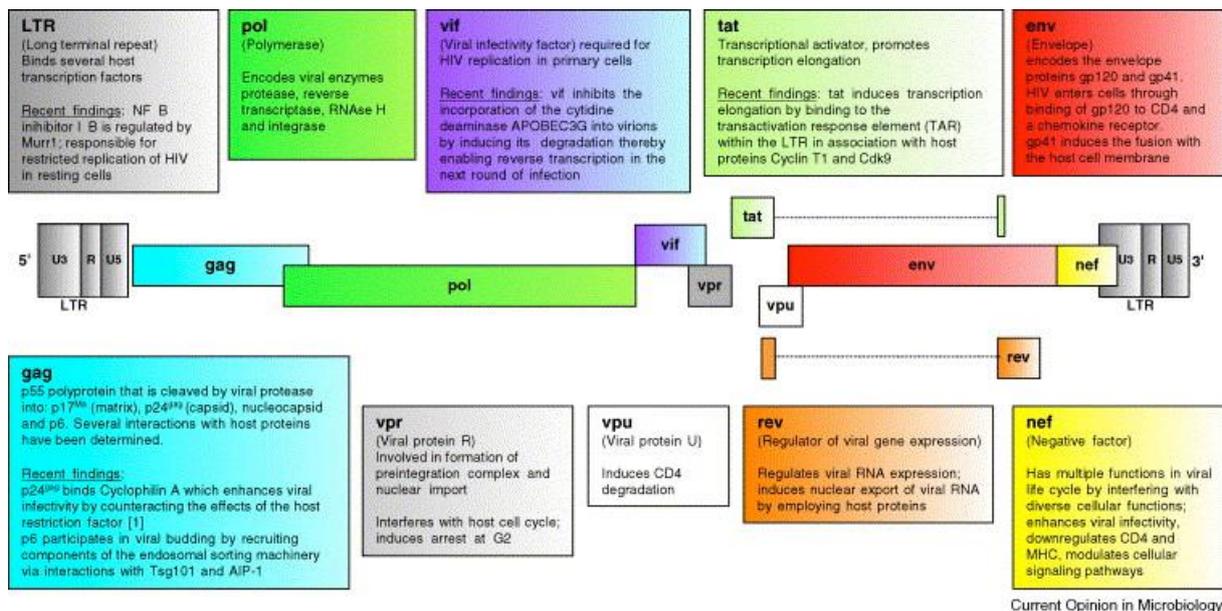
Le génome comporte également des **gènes régulateurs**, codant des protéines qui régulent la réplication virale dans les cellules infectées : **tat**, **nef**, **rev**, **vif**, **vpr**, **vpu**.

(trans-activator transcription (**tat**), negative expression factor (**nef**), regulation of expression of viral proteins (**rev**), viral infectivity factor (**vif**), viral protein r

(vpr) communs au VIH-1 et au VIH-2. De plus, est présent le gène de régulation viral protein u (vpu)).

L'homologie entre le VIH-1 et le VIH-2 au niveau nucléotidique est de l'ordre de 50 %.

Organisation génomique du VIH



2.2. Cycle de multiplication :

Le cycle de réplication du virus peut être divisé en deux étapes.

La première partie de ce cycle, de l'entrée à l'intégration dans le génome cellulaire, s'effectue uniquement grâce aux enzymes virales présentes initialement dans la particule infectieuse, sans expression des gènes viraux, ni intervention de mécanismes cellulaires.

La deuxième phase permet la synthèse de nouveaux virions, elle est régulée à la fois par des mécanismes et protéines cellulaires et viraux. Chaque étape de la réplication des VIH constitue une cible thérapeutique potentielle.

- **Entrée du virus dans la cellule**

Le virus s'attache à son récepteur spécifique situé sur la membrane de la cellule cible, la molécule CD4, par l'intermédiaire de la glycoprotéine d'enveloppe externe, la gp120.

Cette fixation entraîne un **changement conformationnel** de la gp120 capable alors de se fixer aux corécepteurs membranaires CXCR4 ou CCR5.

La liaison de la protéine gp120 au corécepteur, CCR5 ou CXCR4, entraîne un deuxième changement de conformation de la gp120, ce qui provoque **l'exposition du peptide de fusion de la gp41**, conduisant à la **fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire**. Cette fusion constitue la dernière étape de l'entrée du virus dans la cellule et permet la pénétration cytoplasmique de la capside virale.

- **Rétrotranscription et intégration**

Une fois entré dans la cellule, l'ARN viral, encore associé à des protéines de capsid, est **rétrotranscrit dans le cytoplasme en ADN** complémentaire par la TI virale (ADN polymérase ARN dépendante). Celle-ci est également responsable de la destruction progressive du modèle ARN par sa fonction ribonucléase H. La TI virale copie alors **l'ADN viral monocaténaire** nouvellement synthétisé en **ADN bicaténaire qui pénètre dans le noyau de la cellule et où il s'intègre dans l'ADN chromosomique grâce à l'intégrase virale (pour donner un ADN proviral)**.

L'intégration nécessite le transfert de l'ADN viral dans le noyau sous forme d'un complexe dit de préintégration (CPI) contenant l'intégrase virale, les protéines de matrice, de capsid, de nucléocapsid et la protéine accessoire Vpr.

- **Transcription et synthèse des protéines virales**

Après intégration de l'ADN viral double brin dans l'ADN cellulaire, la **transcription du génome viral en ARN messagers (ARNm)** est effectuée par l'ARN polymérase II cellulaire.

La transcription du génome viral est initiée par des facteurs de transcription cellulaires se fixant sur des sites de fixation présents sur le LTR.

Suite à l'initiation de la transcription, les premiers ARNm sont transcrits, ils sont multi-épissés et codent les gènes régulateurs et en particulier les gènes tat, rev et nef.

Après cette phase précoce, des **ARNm plus longs**, peu ou pas épissés, codant les protéines gag, pol, env, Vif, Vpr, Vpu (ou Vpx dans le cas du VIH-2) sont donc **exportés dans le cytoplasme**. Ces ARNm viraux sont de deux types :

- les premiers correspondent aux **gènes gag-pol**. Ils sont traduits en un précurseur polyprotéique qui est secondairement clivé par la protéase virale pour libérer les protéines internes et les enzymes virales au moment du bourgeonnement du virus en dehors de la cellule ;
- les seconds correspondent au **gène env**. Ils sont traduits par les polyribosomes de la cellule hôte en un **précurseur polyprotéique de 160 kDa**, qui est ensuite glycolysé puis clivé par une protéase cellulaire en **gp120 et gp41**.

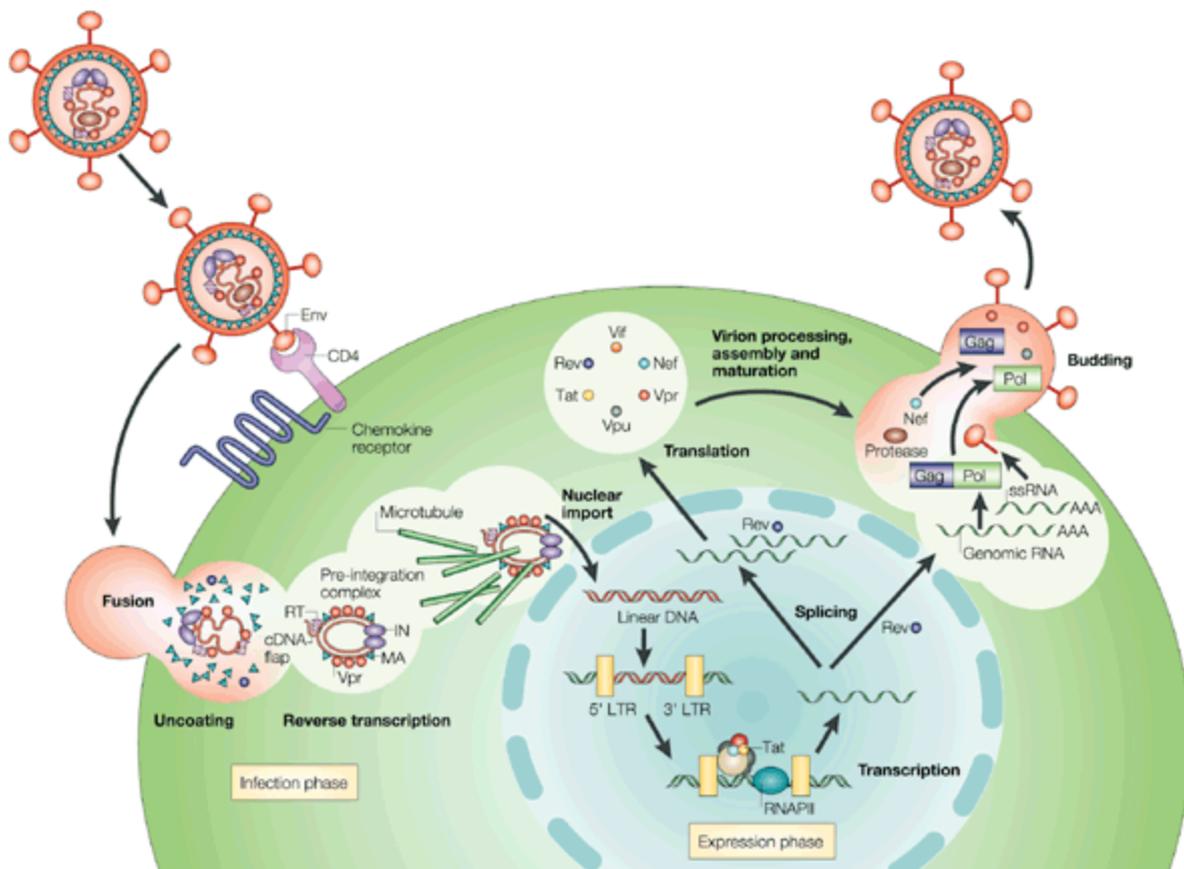
Cette synthèse des précurseurs polyprotéiques viraux est suivie de l'encapsidation et de la dimérisation de l'ARN viral qui fait intervenir les protéines de nucléocapside.

- **Libération et maturation :**

Finalment, les virus sortent de la cellule par bourgeonnement, sous une forme immature et grâce à l'action des protéines Vpu et Vif.

La maturation extracellulaire est liée à l'action de la protéase virale et permet la synthèse de la particule virale infectieuse finale.

Cycle de réplication du VIH



2.3. Tropisme :

Les principales cellules cibles du VIH sont les **lymphocytes CD4**, les **monocytes et macrophages**, les **cellules de la microglie du système nerveux central**, les **cellules folliculaires dendritiques des ganglions**, les **cellules dendritiques du sang** et leurs homologues de la peau et des muqueuses (cellules de Langerhans).

Les virus à tropisme macrophagique utilisent principalement le corécepteur CCR5, virus dit « R5 », alors **que les virus à tropisme lymphocytaire** utilisent majoritairement le corécepteur CXCR4, virus dit « X4 ».

Une des caractéristiques majeures de la réplication in vitro des VIH est l'effet cytopathogène (ECP) qu'ils induisent lors de leur isolement en culture cellulaire, se traduisant par **l'apparition de syncytia consécutifs à la fusion de cellules en agrégats géants avec de multiples noyaux** et un ballonnement de la membrane cellulaire.

2.4. Variabilité génétique :

Les études ont montré que la variabilité génétique du VIH-1 et VIH-2 était importante et que, chez un même individu, le virus est présent sous la forme d'une **quasi-espèce** composée de virus génétiquement proches.

Cette variabilité est liée **aux erreurs réalisées par la transcriptase inverse (TI)** virale et aux recombinaisons génétiques, et est amplifiée par la forte réplication virale. En effet, la TI du VIH, est un enzyme peu fidèle qui ne comporte **pas de système de réparation** en cas d'incorporation erronée d'un nucléotide.

Le taux de mutation a été estimé à 1 pour 10 000 à 100 000 bases pour le VIH. La variabilité porte essentiellement sur le gène *env*, les gènes *gag* et *pol* étant plus conservés.

Sur la base de l'étude des séquences, **quatre groupes sont actuellement décrits à l'intérieur des VIH-1** : le groupe majeur (**M**) et trois autres plus minoritaires, principalement identifiés en Afrique Centrale, en particulier au Cameroun, appelés **O** (Outlier) , **N** (non-M, non-O) , et plus récemment identifié, le groupe **P** .

À l'intérieur du **groupe M**, les études phylogénétiques de la gp120 ont identifié **neuf sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J et K)**

Actuellement, près de 100 **formes circulantes recombinantes (CRF)**, issues de la recombinaison entre deux ou plusieurs sous-types du VIH-1 groupe M, sont décrites.

Un recombinant est défini comme un CRF quand il a été identifié chez au moins trois personnes non liées épidémiologiquement, sinon il s'agit d'une forme unique recombinante (URF).

La variabilité des virus VIH a de nombreuses conséquences : **difficultés à développer un vaccin efficace sur la diversité des souches existantes ; émergence de la résistance aux antirétroviraux.**

Le VIH-1 et particulièrement le groupe M est responsable de la pandémie mondiale à VIH

Au niveau mondial, les VIH-1 non B représentent au moins 90 % des virus circulants. Les sous-types prédominants sont le **sous-type C, responsable de 50 % des infections, principalement en Afrique du Sud et en Asie**, le sous-type A et le sous-type D en Afrique de l'Est, et le **sous-type B (12 %) en Amérique du Nord, en Europe et en Australie.**

En Afrique centrale, circulent les différents groupes du VIH-1 (M, N et O), l'ensemble des sous-types du groupe M et la majorité des formes recombinantes.

La très grande majorité des infections à **VIH-1 groupe O** est retrouvée en Afrique de l'Ouest et, plus particulièrement, au Cameroun

Les isolats du **groupe N sont originaires du Cameroun.**

Le groupe P a été découvert par une équipe française en 2009 au **CHU de Rouen**. Très peu d'infections sont décrites jusqu' à présent.

VIH-2

Le VIH2 présente certaines particularités par apport au VIH-1 :

pathogénicité moindre que celle du VIH-1 ; épidémie liée au VIH-2 reste confinée à l'Afrique de l'Ouest ; risque de transmission sexuelle plus faible que celui du VIH-1 ; transmission de la mère à l'enfant significativement moindre que celle du VIH-1 ; chez les sujets infectés, taux de progression vers le Sida plus faible que lors de l'infection à VIH-1 ; charge virale plasmatique 10 à 30 fois moindre que les patients infectés par le VIH-1, à taux de CD4 comparables.

Comme pour le VIH-1, les virus VIH-2 sont actuellement classés **en neuf groupes distincts (de A à I)** selon l'homologie des séquences des gènes *gag* et *env*.

Le VIH-2 présente une résistance naturelle aux inhibiteurs non nucléosidiques de la TI (INNTI) et aux inhibiteurs de fusion.

Le virus de l'immunodéficience humaine type 2 (VIH-2) a été isolé pour la première fois en 1986 chez un patient originaire des îles du Cap-Vert.

L'épidémie de VIH-2 est restreinte à **l'Afrique de l'Ouest**

3. Physiopathologie de l'infection VIH :

3.1. Mode de transmission :

Le VIH est présent dans la plupart des liquides biologiques (sang, salive, LCR, sperme, sécrétions vaginales, lait) mais il existe seulement trois modes de transmission : sexuelle, sanguine et mère-enfant.

Transmission sexuelle : principal mode transmission dans le monde. La communauté homosexuelle est fortement concernée.

Transmission sanguine : concerne les personnes transfusées, le personnel en milieu de soins (seringues, dispositifs invasifs) et les toxicomanes par voie intraveineuse. La contamination lors des transfusions a considérablement diminué en raison du dépistage systématique des poches de sang pour le VIH (recherche d'anticorps anti-VIH voire recherche de l'ARN viral).

La transmission mère-enfant : peut se faire à trois périodes : prénatale (transplacentaire), périnatale (au moment de l'accouchement), post natale (notamment le lait maternel). **La plupart des enfants sont contaminés en période périnatale.**

3.2. Histoire naturelle :

L'histoire naturelle de l'infection VIH en l'absence de traitement antiviral se subdivise en 03 phases :

1. **Primo-infection** : Après exposition au virus, la **primo-infection** s'accompagne d'un **pic de réplication virale** avec des titres élevés de virus plasmatique, d'une **diminution du nombre de lymphocytes CD4** et d'une **augmentation du nombre de lymphocytes CD8**

2. **Phase de latence** : la primo-infection est suivie d'une **phase dite de latence clinique** (10 ans environ en l'absence e traitement) pendant laquelle la **réplication virale semble stable** ainsi que le nombre de lymphocytes CD4. Il ne s'agit que d'une stabilité apparente car la **réplication virale est particulièrement active dans les tissus lymphoïdes** où survient une détérioration anatomique et fonctionnelle.

3. **Stade Sida** : à cette **phase tardive de l'infection**, on observe une augmentation de la charge virale suivie par la **chute du nombre de lymphocytes CD4**. Cette phase conduit au développement **d'infections opportunistes et de tumeurs**.

3.3. Destruction des lymphocytes CD4 :

L'infection à VIH se caractérise par une **réplication continue en particulier dans les tissus lymphoïdes**, d'un virus hautement variable capable de s'adapter aux conditions extérieures. Le mécanisme de **destruction des lymphocytes T CD4** est sans doute d'origine multifactorielle. Peuvent intervenir :

- La lyse directe des cellules infectées par ECP du virus
- La lyse par les lymphocytes T CD8+ cytotoxiques de lymphocytes T CD4+ non infectés mais porteurs passifs à leur surface de la glycoprotéine d'enveloppe virale
- Les phénomènes d'apoptose (mort cellulaire programmée) lors de la stimulation antigénique de cellules ayant été préalablement en contact avec des antigènes HIV
- L'hyperstimulation cellulaire aboutissant à l'anergie des cellules.

4. Epidémiologie du VIH :

Dans le monde :

Le VIH reste un problème majeur de santé publique de portée mondiale qui a entraîné jusqu'ici plus de 32 millions de décès.

On comptait environ **37.9 millions de personnes vivant avec le VIH à la fin de 2018**. En 2018, 1.7 million de nouvelles infections et 770 000 décès ont été enregistrés dans le monde.

Plus de deux tiers des personnes vivant avec le VIH se trouvent dans **la région africaine (25.7 millions de cas)**.

L'Afrique du Sud est de loin le pays le plus touché par l'infection VIH dans le monde : **en 2018**, on estimait que **7,52 millions** de personnes portaient le virus soit **13.06% de la population**.

Entre 2000 et 2018, les nouvelles infections à VIH dans le monde ont diminué de 37% et les décès liés au virus de 45%, le traitement antirétroviral ayant permis de sauver 13.6 millions de vie.

En Algérie :

Le premier cas de VIH est apparu **en Algérie en 1985**.

Selon un bilan du **ministère algérien de la santé et de l'Onusida**, le nombre de personnes infectées par le VIH, tous âges confondus a atteint **en 2018 quelques 1300 cas** alors que le **nombre de séropositifs frôle les 16000 cas** dont 15000 âgés de plus de 15 ans ; 7000 femmes et 8300 hommes.

5. Pouvoir pathogène :

5. 1. Evolution clinique de l'infection par le VIH :

L'évolution spontanée (en l'absence de traitement) de l'infection VIH peut être divisée en **03 phases** : la phase aiguë ou primo-infection, la phase chronique asymptomatique et la phase finale symptomatique.

Durant ces trois phases, le VIH se réplique activement entraînant progressivement la diminution du nombre de lymphocytes T CD4 (**seuil critique d'immunodépression** : $\leq 200/\text{mm}^3$).

1. **La primo-infection** : 10 à 15 jours après la contamination (extrêmes 5 à 30 jours), un peu plus de la moitié des sujets présentent un **tableau souvent fébrile polymorphe** appelé primo-infection, d'une durée médiane de **02 semaines**. Cette primo-infection **non spécifique** revêt une grande variabilité de signes cliniques : fièvre, syndrome pseudo-grippal persistant, asthénie, polyadénopathies, pharyngite, éruption papulomaculeuse, signes digestifs (diarrhées, nausées/vomissements).

2. **La phase chronique** peut durer plusieurs années. Elle expose à un **risque de contamination** du ou des partenaires car la réplication virale est active.

Elle se caractérise par des

- **Événements cliniques mineurs** :

Manifestations cutanéomuqueuses (dermite séborrhéique, prurigo, zona, verrues...);

Manifestations générales : altération de l'état général, fébricule, sueurs nocturnes abondantes);

Diarrhée chronique.

- Signes biologiques inconstants : leuconéutropénie, thrombopénie, anémie, hypergammaglobulinémie monoclonale.

3. **Le stade Sida (syndrome d'immunodépression acquise)** :

Le stade Sida est défini par l'**ensemble des pathologies opportunistes majeures** (infections et tumeurs) liées à l'immunodépression induite par le VIH. Des pathologies sont d'autant plus fréquentes que le taux de lymphocytes CD4 **est inférieur à $200/\text{mm}^3$** .

Dans tous les cas, la restauration immunitaire (la remontée du taux de lymphocytes T CD4) passant par un traitement antirétroviral efficace, est fondamentale pour le contrôle de ces maladies.

5. 2. Classification de l'infection par le VIH :

L'infection par le VIH est classée en **trois stades selon la classification CDC 1993** : **A** (asymptomatique), **B** (infections opportunistes mineures, pathologies favorisées ou aggravées par l'existence d'un déficit immunitaire, ou symptômes

liés au VIH lui-même), **C** (infections opportunistes, cancers et pathologies liées au VIH lui-même).

Ces catégories sont subdivisées en trois sous-catégories (1, 2 ou 3) en fonction du nombre de lymphocytes CD4.

Lorsqu'un sujet a présenté une pathologie sida, il est classé définitivement dans cette catégorie.

Classification de immunologique l'infection à VIH selon le CDC 1993

Nombre de lymphocytes CD4	Catégorie clinique		
	(A) Asymptomatique, primo-infection ou lymphadénopathie généralisée.	(B) Symptomatique, sans critères (A) ou (C)	(C) Sida
500/mm ³	A1	B1	C1
200-499/mm ³	A2	B2	C2
< 200/mm ³	A3	B3	C3

Stades cliniques et définition du sida chez l'adulte et l'adolescent en fonction de la symptomatologie selon la classification CDC 1993.

Catégorie A :

- Infection VIH asymptomatique
- Lymphadénopathie persistante
- Primo-infection symptomatique

Catégorie B :

- Angiomatose bacillaire
- Candidose oropharyngée
- Candidose vaginale persistante, fréquente ou qui répond mal au traitement
- Dysplasie du col (modérée ou grave), carcinome *in situ*
- Syndrome constitutionnel : fièvre (38,5 °C) ou diarrhée > 1 mois
- Leucoplasie chevelue de la langue
- Zona récurrent ou envahissant plus d'un dermatome

- Purpura thrombocytopénique idiopathique
- Salpingite, en particulier lors de complications par des abcès tubo-ovariens
- Neuropathie périphérique

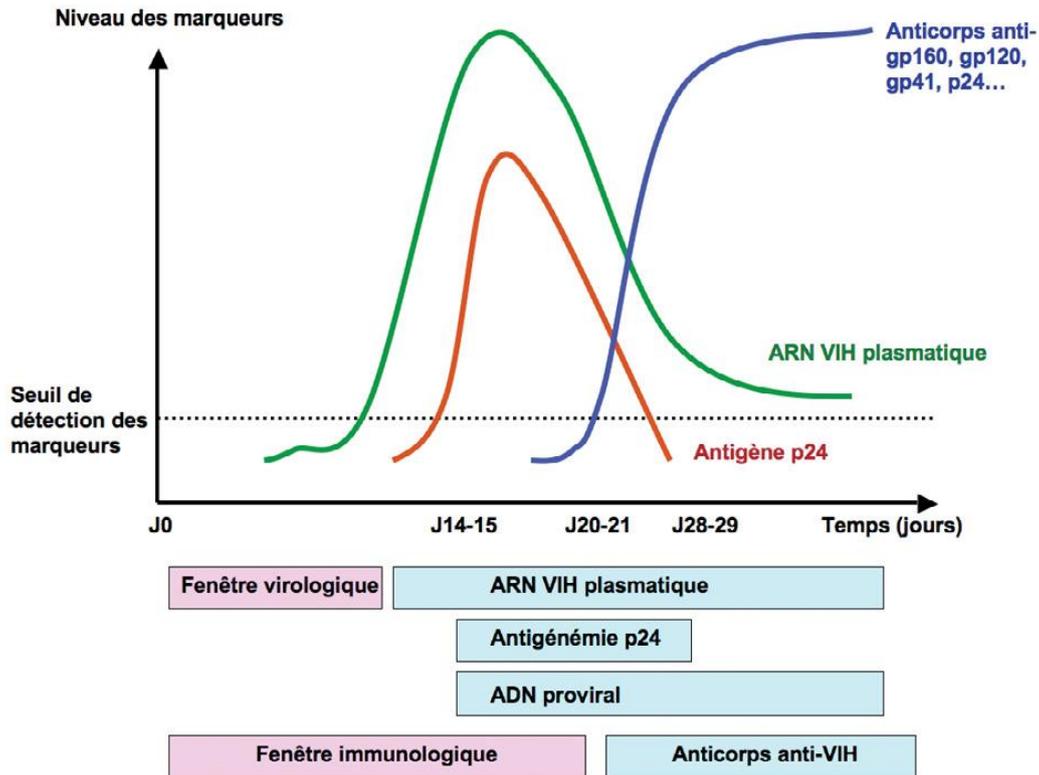
Catégorie C :

- Candidose bronchique, trachéale ou pulmonaire
- Candidose œsophagienne
- Cancer invasif du col utérin
- Coccidioïdomycose, disséminée ou extrapulmonaire
- Cryptococcose extrapulmonaire
- Cryptosporidiose intestinale supérieure à 1 mois
- Infection à CMV (autre que foie, rate ou nœuds lymphatiques)
- Rétinite à CMV (avec altération de la vision)
- Encéphalopathie due au VIH
- Infection herpétique, ulcères chroniques supérieurs à 1 mois ou infection bronchique, pulmonaire ou œsophagienne
- Histoplasmosse disséminée ou extrapulmonaire
- Isosporidiose intestinale chronique (> 1 mois)
- Sarcome de Kaposi
- Lymphome de Burkitt
- Lymphome immunoblastique
- Lymphome cérébral primaire
- Infection à *Mycobacterium avium* ou *kansasii*, disséminée ou extrapulmonaire
- Infection à *Mycobacterium tuberculosis*, quel que soit le site (pulmonaire ou extrapulmonaire)
- Pneumopathie bactérienne récurrente
- Leucoencéphalopathie multifocale progressive
- Septicémie à salmonelle non typhi récurrente
- Toxoplasmose cérébrale
- Syndrome cachectique dû au VIH

6. Cinétique des marqueurs virologiques

Au total, après une phase initiale d'une durée moyenne de 11 jours au cours de laquelle la réplication virale est limitée aux muqueuses et aux tissus lymphatiques, l'ARN viral peut être détecté à partir de 12 jours en moyenne, l'antigène p24 à partir de 17 jours et les anticorps anti-VIH à partir de 22 jours.

Évolution des marqueurs virologiques lors de l'infection par le VIH



7. Diagnostic de l'infection par le VIH :

Le diagnostic de l'infection par les VIH-1 et VIH-2 repose sur une méthode sérologique indirecte fondée sur la détection des anticorps (associés à celles de l'antigène P24) dirigés contre les antigènes viraux grâce à un **test ELISA** (enzyme linked immunosorbent assay) qui reste la **méthode la plus pertinente**.

La détection de la présence virale par une **méthode directe**, c'est-à-dire la mise en évidence du virus ou de ces composants, peut se faire soit par mise en évidence des antigènes viraux, par la détection du génome viral ou encore par multiplication virale en culture cellulaire.

La **quantification de la charge virale** est utilisée dans le **suivi des patients infectés**.

7.1. Diagnostic indirect de l'infection par le VIH : diagnostic sérologique :

1. Tests de dépistage :

1.1. Tests ELISA

Selon les antigènes viraux utilisés et l'isotype de l'anticorps détecté, on distingue des tests ELISA de première, deuxième, troisième et quatrième génération.

Les tests de 4e génération, largement utilisés actuellement, sont des tests mixtes (détectent des anticorps anti- VIH-1 et VIH-2) et combinés (détection des anticorps IgG et IgM dirigés contre le VIH-1, le VIH-2 et l'antigène p24).

Ces tests permettent une **réduction de plusieurs jours de la fenêtre sérologique** au cours de la primo-infection

1.2. Les tests rapides de détection (TDRs) :

Ces tests sont **rapides (moins de 30 minutes)** et ne nécessitent aucun équipement spécifique. Ils permettent la détection rapide des anticorps anti-VIH1 et VIH-2, et pour certains la détection d'antigène p24.

Trois types de tests sont disponibles : **tests d'agglutination** de particules de latex, **tests d'immunofiltration** ; **tests immunochromatographiques +++** (tests les plus employés actuellement).

Les **tests immunochromatographiques** peuvent être effectués sur **sérum, plasma, sang total ou salive** sur une membrane préalablement sensibilisée avec des antigènes recombinants des VIH-1 et VIH-2. Une réaction positive se révèle par l'apparition d'un **trait couleur**.

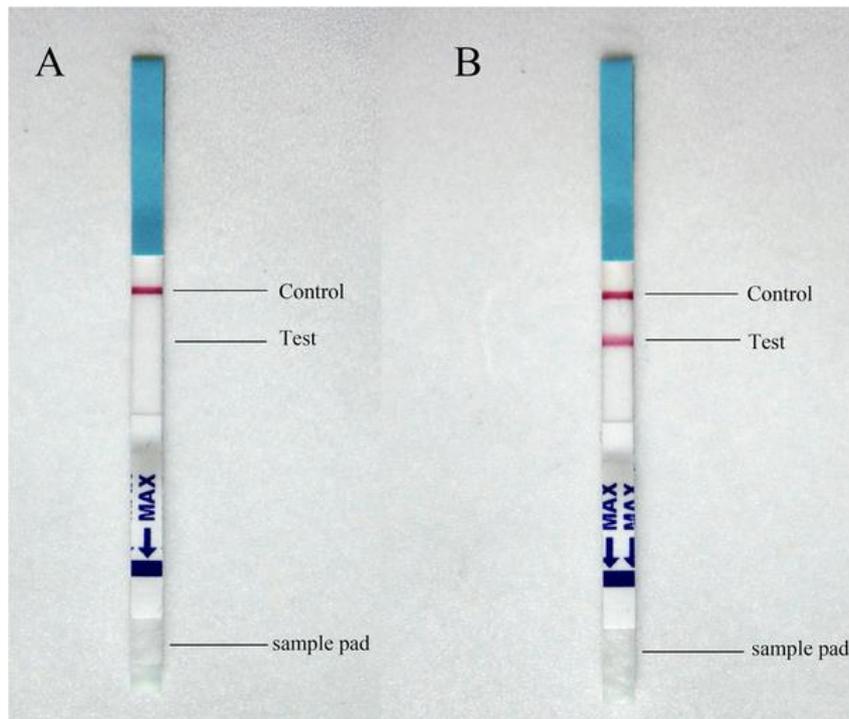
La sensibilité et spécificité des tests rapides sont comparables à ceux des tests ELISA détectant les anticorps anti- VIH mais ils sont **moins sensibles que les ELISA combinés** en particulier pour l'analyse de prélèvements effectués durant la phase de séroconversion. Ils sont donc à **proscrire dans les cas de prise de risque datant de moins de 3 mois**.

Ces tests sont recommandés pour faciliter le dépistage du VIH dans **certaines situations d'urgence et chez certaines populations** comme les migrants, les populations fuyant les institutions. Les situations d'urgences nécessitant de mettre en place rapidement une prise en charge adaptée :

- **accident professionnel d'exposition au sang** : TDR pour le patient source ;
- **accident d'exposition sexuelle** : TDR pour les deux partenaires ;
- **accouchement chez les femmes enceintes dont le statut n'est pas connu** ;
- **urgence diagnostique devant la survenue d'une pathologie évocatrice du stade sida**.

Le TDR ne peut être utilisé **que par un professionnel de santé et tout résultat positif du TDR devra faire l'objet d'une confirmation par un western-blot**.

Test immunochromatographique



2. Test de confirmation sérologique : western-blot :

Un test de dépistage positif **doit toujours être complété par un test de confirmation de référence** dans le but est de confirmer ou d'infirmer la séropositivité vis-à-vis du VIH d'un **échantillon positif ou douteux en ELISA**.

La séropositivité n'est établie que lorsque le résultat de l'analyse de confirmation est positif. Cette analyse **permet de préciser la spécificité des anticorps anti-VIH-1 ou des anti-VIH-2** présents dans le sérum étudié.

La technique utilisée est le **western-blot** :

Dans la technique du **western-blot**, les protéines virales sont séparées par électrophorèse avant d'être transférées sur membrane. **La présence d'anticorps** spécifiques du VIH-1 est mise en évidence grâce à une **réaction enzymatique** qui se matérialise par **une bande colorée** au niveau de la protéine virale reconnue. Un résultat est négatif lorsqu'aucune bande ne correspond à une protéine virale. Le contrôle positif fait apparaître un ensemble de **bandes** correspondant aux glycoprotéines d'enveloppe (gp160, gp120, gp41), aux protéines codées par le gène gag (p55, p24, p17) et aux enzymes codées par le gène pol (p66, p51, p31).

Interprétation du Western Blot :

1. Résultat positif :

Présence d'au moins 03 anticorps dont 02 dirigés contre les glycoprotéines d'enveloppe, l'autre anticorps étant spécifique d'une protéine interne du virus (protéines du core ou protéines enzymatiques : intégrase, protéase, polymérase).

Glycoprotéines d'enveloppe :

VIH 1: gp 160, gp 120, gp 41

VIH 2: gp 140, gp105, gp 36

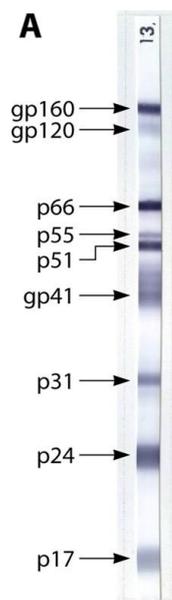
2. Résultat négatif :

Réaction nulle (absence d'anticorps) ou réaction non spécifique (présence isolée d'anticorps anti p17(HIV 1) ou p18 (HIV 2)).

3. Les autres profils sont considérés comme douteux ou indéterminés et doivent faire l'objet d'un autre test de confirmation : Si ce dernier est négatif ou montre une réactivité incomplète stable à plus de 03 mois d'intervalle résultat négatif.

Un **western-blot négatif** associé à des résultats positifs par les techniques sérologiques de dépistage fait envisager un **début de "séroconversion"**, ce qui signifie que les anticorps commencent tout juste à apparaître dans le sang. Un nouveau prélèvement de sang périphérique s'impose alors, une à deux semaines plus tard pour répéter l'analyse.

Western Blot VIH-1



Démarche pratique du diagnostic sérologique :

- ❖ Le schéma d'un diagnostic sérologique du VIH se déroule en trois étapes :
 - un test de dépistage type ELISA combiné sur un premier prélèvement
 - si positif : un test de confirmation VIH-1 et VIH-2 (western blot) sur le même prélèvement
 - si positif : un test de dépistage sur un second prélèvement (une deuxième prise de sang) pour éviter les erreurs d'identification de la personne.

Seul un résultat positif sur le second prélèvement permet d'affirmer définitivement l'infection par le VIH.

- ❖ 02 tests de dépistage positifs, douteux ou discordants : doivent faire pratiquer un test de confirmation. Si ce dernier est négatif ou montre une réactivité incomplète stable à plus de 03 mois d'intervalle le résultat est alors négatif.
- ❖ 02 tests de dépistages négatifs (02 prélèvements distincts) : signent l'absence d'une séroconversion virale. Mais si contamination de moins de 1 mois ou signes de primo infection faire antigénémie p24 (ou éventuellement une recherche du génome viral par biologie moléculaire).

Conclusion :

Diagnostic sérologique de l'infection VIH : présence d'anticorps anti-VIH (1 ou 2) sur deux prélèvements successifs dépistés par ELISA avec 02 méthodes distinctes (02 types d'antigènes différents) et au moins sur un prélèvement par Western Blot.

7.2. Diagnostic direct de l'infection par le VIH :

C'est la mise en évidence de la présence virale par le dosage d'une protéine virale, en détectant l'ARN ou l'ADN viral ou encore par culture virale.

1. Détection de l'antigène viral p24 :

Les antigènes viraux dans le sang de patients infectés correspondent aux particules virales et aux protéines virales. **La détection d'antigène p24 dans le sérum, plasma ou LCR** peut se réaliser grâce à des tests faciles standardisés. Les tests de dépistage **ELISA combiné** permettent la détection à la fois des

anticorps dirigés contre le VIH et de la protéine p24 virale. **Des tests permettant uniquement le dosage de la p24 du VIH-1** sont aussi disponibles.

2. Détection des acides nucléiques viraux :

Détection qualitative de l'ARN viral dans le plasma : fait appel à l'amplification génique par **PCR qualitative**.

Détection quantitative ou détermination de la charge virale : plusieurs techniques :

- Amplification génique : **PCR quantitative en temps réel +++** ou technique **NASBA (nucleic acid sequence based amplification)** (amplification isotherme)
- Hybridation : technique de **l'ADN branché (bDNA)**. Cette technique est basée sur l'utilisation de **sondes ramifiées**. Elle repose sur un branchement successif de sondes, ce qui multiplie les signaux émis et facilite la détection d'une séquence cible. **Le signal émis est directement proportionnel à la quantité de la cible génique.**

L'amplification génique et l'hybridation amplifiée permettent la détection de l'ARN viral plasmatique ou de l'ADN proviral cellulaire.

3. Isolement du VIH en culture :

L'isolement du virus à partir du sang de sujets infectés est une approche longue, coûteuse et nécessitant un **laboratoire de confinement de haute sécurité L3**. L'isolement est réalisé directement à partir de **cellules mononucléaires du sang périphérique (PBMC)** ou du plasma par mise en culture des échantillons en présence de **cellules mononucléées du sang d'un donneur sain**, qui servent de support pour la multiplication virale.

La multiplication virale est mise en évidence par dosage dans le milieu de culture **de l'antigène p24** ou par détection de l'ARN viral par biologie moléculaire (PCR).

❖ Cas particuliers :

1. Primo-infection récente :

Le diagnostic de la primo-infection VIH est important, car **l'infectiosité en primo-infection est plus élevée**.

Un résultat négatif du test de dépistage ELISA combiné (détection des anticorps et de l'antigène p24) **06 semaines après l'exposition supposée** pourra être considéré comme signant **l'absence d'infection par le VIH**.

En cas de traitement prophylactique post-exposition, le délai reste de 3 mois après l'arrêt du traitement. La réduction de moitié du délai d'attente - de 3 mois à 6 semaines - pour être sûr d'un résultat négatif, est la conséquence des évolutions techniques des tests. En effet, les tests combinés permettent la détection simultanée des anticorps apparaissant environ 3 semaines après l'infection et des antigènes p24, marqueurs précoces de la présence de particules virales.

2. Enfants de moins de 2 ans nés mère séropositive :

En raison du passage transplacentaire des anticorps anti-VIH maternels, les tests sérologiques ne peuvent être utilisés jusqu'à l'âge de 18/24 mois (**persistance des anticorps maternels**). Le diagnostic repose alors sur la **recherche de l'ARN plasmatique**.

1. Le diagnostic de l'infection par le VIH chez l'enfant, en l'absence de traitement préventif

Chez le nouveau-né, né de mère vivant avec le VIH, la recherche de l'ARN plasmatique se fait à la **naissance, M1 (mois), M3 et M6**. Deux PCR successives positives confirment la transmission de l'infection VIH de la mère à l'enfant.

2. Diagnostic chez le nouveau-né de mère séropositive ayant reçu un traitement antirétroviral préventif

Il est procédé à un prélèvement pendant la **première semaine et à un mois**. À trois semaines après l'arrêt du traitement préventif, puis un mois plus tard, les mêmes examens sont répétés. Tout résultat positif doit être confirmé sur un deuxième échantillon.

Il est nécessaire d'avoir au moins deux résultats négatifs sur des échantillons prélevés en dehors de la période de traitement de l'enfant pour considérer un enfant comme non infecté.

Conclusion :

Intérêt de la recherche qualitative du génome par biologie moléculaire :

- **Discordance lors du diagnostic sérologique ;**
- **Résultat faussement négatif : fenêtre sérologique ;**
- **Diagnostic chez l'enfant de moins de 02 ans né de mère séropositive.**

8. Méthodes de suivi des patients infectés par les virus VIH :

Le suivi biologique joue un rôle essentiel dans la prise en charge de l'infection VIH. Chez le patient traité, il permet de vérifier l'efficacité du traitement

grâce à la **mesure de la charge virale VIH et du nombre de lymphocytes CD4**. Chez le patient non traité, il permet de déterminer le moment adéquat pour initier un traitement antirétroviral ou la prévention de certaines infections opportunistes. La détermination du sous-type viral et la recherche de résistance(s) sont recommandées dans le bilan biologique dès le diagnostic de l'infection, afin d'adapter au mieux le traitement antirétroviral.

8.1. Mesure de la charge virale ARN plasmatique :

La charge virale plasmatique, déterminée par la **quantification des ARN viraux dans le plasma**, renseigne sur la dynamique de multiplication du virus dans le système lymphoïde. La charge virale permet de mesurer l'évolution de la maladie en complément de la mesure des CD4 et de l'appréciation des signes cliniques.

La mesure de la charge virale se fait par des **techniques de biologie moléculaire**. La majorité des tests utilisés fait appel à des techniques de PCR en temps réel dont le seuil de quantification est de 40 à 50 copies/ml. **Les résultats sont exprimés en nombre de copies d'ARN VIH par millilitre de plasma et en log10 de ce nombre**. Une différence de plus de 0,5 log de la charge virale entre deux résultats peut être considérée comme significative et matérialise une évolution significative de la réplication virale chez le patient.

8.2. Mesure du taux de lymphocytes T CD4+ dans le sang circulant :

Le nombre des lymphocytes CD4 reflète l'importance de la destruction du système immunitaire par le VIH.

Dans les zones relativement basses (moins de 350/mm³) cette valeur prédictive est élevée, le nombre de lymphocytes CD4 étant mieux corrélé au risque d'évolution clinique que la valeur de la charge virale.

La surveillance du nombre de lymphocytes CD4 est essentielle pour commencer, s'il y a lieu, la **prophylaxie des infections opportunistes ou un traitement par des antirétroviraux (ARV)**.

8. 3. Les tests de résistance aux antirétroviraux (ARV) :

1. Les tests génotypiques :

Les techniques utilisées actuellement pour étudier la résistance du VIH aux molécules antirétrovirales sont **principalement des tests génotypiques** qui, après séquençage de certaines régions déterminées du génome viral, permettent **la détection de mutations nucléotidiques connues** permettant de prédire le caractère sensible intermédiaire ou résistant de la souche virale vis-à-vis d'une molécule donnée.

Au cours du suivi des patients, la réalisation de tests génotypiques de résistance aux antirétroviraux est recommandée lors du diagnostic de primo-infection et d'infection récente, avant l'initiation du traitement, en cas d'échec thérapeutique et dans le suivi et le traitement de femmes enceintes infectées.

2. Test phénotypique de résistance aux ARV :

Le test phénotypique mesure la capacité du virus d'un patient à se multiplier en présence d'ARV. Ce test s'effectue dans des laboratoires spécialisés. Il permet de déterminer la concentration d'une molécule donnée inhibant à 50 % (CI50) ou à 90 % (CI90) de la réplication du virus du patient en présence d'antirétroviraux.

Ce test est complexe, long à réaliser et coûteux, mais présente l'avantage de prendre en compte toutes les mutations, y compris celles qui n'ont pas été caractérisées auparavant. De plus, les résultats obtenus sont quantitatifs, exprimés en changement de CI50 ou CI90 du virus (population virale) du patient par rapport à une valeur seuil en dessous de laquelle l'isolat est considéré comme sensible.

9. Traitement antirétroviral

9.1. Les antirétroviraux :

Six classes de molécules ayant des activités antirétrovirales :

1. Les inhibiteurs nucléosidiques (ou nucléotidiques) de la transcriptase inverse (INTI)

Les inhibiteurs nucléosidiques (ou nucléotidiques) de la transcriptase inverse (INTI) sont des dérivés des nucléosides naturels ; ils agissent en les remplaçant et empêchent l'accrochage d'un nouveau nucléoside, stoppant ainsi la réplication virale. Ils nécessitent d'être activés par triphosphorylation pour les nucléosides et biphosphorylation pour les nucléotides, par les kinases cellulaires. Ces composés ne présentent pas de groupement 3-OH, leur incorporation produit une terminaison de la synthèse de la chaîne d'ADN.

2. Les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)

Ce sont des petites molécules qui inhibent de façon non compétitive la reverse transcriptase en se fixant sur son site catalytique. Contrairement aux INTI, ils ne nécessitent pas de phosphorylation préalable. Ces molécules n'ont pas d'activité sur le VIH-2 et le VIH du groupe O.

3. Les inhibiteurs de protéases (IP) :

Les IP interviennent tardivement dans le cycle viral en bloquant l'action de la protéase qui clive les polypeptides précurseurs. **Ils empêchent ainsi la maturation des néovirions** qui ne pourront pas infecter d'autres cellules.

4. Les inhibiteurs de fusion

Lors de la pénétration du virus dans la cellule CD4, celui-ci se lie à la membrane cellulaire par l'intermédiaire de la gp120 et de deux boucles trimériques HR-1 et HR-2 localisé dans la gp41. **L'enfurvitide** est un petit peptide proche de la région HR-2.

5. Inhibiteurs de l'intégrase :

Les inhibiteurs d'intégration actuellement utilisés se fixent sur le complexe ADN viral-intégrase au niveau du site catalytique de l'enzyme et bloquent la fixation du complexe sur l'ADN cellulaire.

6. Antagonistes des récepteurs CCR5 : Les antagonistes de CCR5 constituent une nouvelle approche thérapeutique antirétrovirale.

Le Maraviroc : Son mécanisme d'action passe par une liaison réversible au corécepteur CCR5 , à l'origine d'un changement conformationnel de ce dernier, ce qui empêche l'interaction de la gp120 avec la boucle V3.

Principaux antirétroviraux disponibles

Classe	Molécules
INTI	Zidovudine Lamivudine Abacavir Ténofovir Emtricitabine Associations de INTI AZT + Lamivudine AZT + Lamivudine + abacavir Lamivudine + abacavir Ténofovir + Emtricitabine
INNTI	Rilpivirine Etravirine Efavirenz
IP	Ritonavir Indinavir

	Lopinavir/ritonavir Darunavir Atazanavir Tipranavir
Inhibiteur de l'intégrase	Raltégravir Dolutégravir Elvitégravir
Inhibiteur de la fusion	Enfuvirtide ou T20
Inhibiteur du corécepteur CCR5	Maraviroc

9.2. Objectifs du traitement antirétroviral :

Obtenir une efficacité viro-immunologique à savoir restaurer et maintenir un taux de lymphocytes T CD4 supérieur à 500/mm³ (restauration du système immunitaire) en rendant la charge virale plasmatique indétectable (inférieur à 50/mm³ (contrôle de la réplication virale).

Ceci permet de réduire la morbidité et la mortalité associées au VIH (réduire la fréquence des infections opportunistes associées)

9.3. Quand initier le traitement :

Tous les patients vivant avec le VIH ont une indication de traitement antirétroviral quel que soit le taux de lymphocytes CD4+ y compris s'il est supérieur à 500/mm³.

L'instauration d'un traitement antirétroviral doit être préparée pour optimiser l'adhérence au traitement : rôle de l'équipe multidisciplinaire d'éducation thérapeutique et d'éducation à la santé.

9.4. Modalités de traitement :

Il est recommandé de réaliser un test génotypique de résistance lors du diagnostic de l'infection par le VIH (permet de rechercher la présence de mutations de résistance aux antirétroviraux).

De même la détermination de la charge virale plasmatique avant toute thérapie est indispensable et permet de suivre l'efficacité virologique sous traitement.

Le traitement, poursuivi à vie, repose sur des combinaisons de trois molécules antirétrovirales appelées trithérapies antirétrovirales, permettant d'obtenir une efficacité antirétrovirale durable et limitant le risque de sélection de résistances.

En première intention on privilégie une trithérapie simple comportant 02 inhibiteurs nucléosi(ti)diques de transcriptase inverse (INTI) associés à ,soit un inhibiteur non nucléosi(ti)diques de transcriptase inverse (INNTI) soit une inhibiteur de protéase (IP) soit un inhibiteur d'intégrase .

Il existe des formes combinées qui favorisent l'observance et qui permettent une seule prise par jour d'un comprimé unique.

Le traitement antirétroviral doit être maintenu à vie. A l'heure actuelle l'infection à VIH est une maladie incurable par les modalités thérapeutiques disponibles.

Lors d'un premier traitement antirétroviral, les associations préférentielles d'antirétroviraux recommandées sont :

- 2 INTI + 1 IP : ténofovir + emtricitabine + darunavir-ritonavir
- 2 INTI + 1 INNTI : ténofovir + emtricitabine + Rilpivirine
- 2 INTI + 1 inhibiteur de l'intégrase : ténofovir + emtricitabine + raltégravir ou dolutégravir)
- 2 INTI + 1 inhibiteur de l'intégrase : Abacavir + lamivudine + dolutégravir

Remarque :

Les traitements antirétroviraux eux-mêmes exposent à une morbidité propre notamment à moyen et long terme. Le suivi régulier et l'observance du patient sont indispensables.

9.5. Suivi des patients sous traitement antirétroviral

1. Evaluation de l'efficacité :

L'évaluation de l'efficacité du traitement repose sur le contrôle virologique et immunologique. Par ailleurs, la surveillance clinique et biologique sont indispensables.

Contrôle virologique : réalisation des charges virales avec comme objectif :

01 mois : réduction de la charge virale de plus de 02 log₁₀ copies/ml.

03 mois : charge virale inférieure à 400 copies /mm³

06 mois : charge virale indétectable (inférieur à 50 copies /³mm).

Objectif : charge virale indétectable après 06 mois de traitement antirétroviral.

Contrôle immunologique : restauration du système immunitaire par ascension du taux de lymphocytes T CD4.

Le taux de CD circulant sera réalisé, comme la charge virale, à 1 mois et 3 mois de traitement, puis tous les 3 mois la première année. Au-delà de 1 an de traitement et pour les patients ayant une charge virale indétectable, un contrôle immunologique sera réalisé tous les 3 à 4 mois si les CD4 sont inférieurs à 500/mm³ et tous les 4 à 6 mois si les CD4 sont supérieurs à 500/mm³.

2. Recherche de mutations de résistance aux antirétroviraux par techniques génotypiques: permettent d'adapter la prise en charge thérapeutique lors d'un échec thérapeutique due à une résistance aux molécules antirétrovirales.

10. Prévention :

Il n'existe à l'heure actuelle aucun vaccin efficace contre le VIH.

La prévention demeure l'unique moyen pour lutter efficacement contre la propagation de l'infection :

- ✚ **Prévention de la transmission sexuelle** : éducation sexuelle, utilisation de préservatifs, dépistage du VIH et des autres infections sexuellement transmissibles.
- ✚ **Prévention de la transmission par voie sanguine** : dépistage systématique de l'infection (don de sang ou d'organe), matériel invasif à usage unique (soins).
- ✚ **Prévention à base d'antirétroviraux** :
 - **Traitement des personnes vivant avec le VIH** : le traitement antiviral efficace permet de rendre la charge virale des patients vivant avec le VIH indétectable et annule quasiment intégralement le risque de transmission à leur(s) partenaire(s).
 - **Traitement post-exposition** pour réduire le risque d'infection par le VIH après un risque significatif
 - **Prophylaxie pré-exposition** : il s'agit pour la même personne non infectée par le VIH de prendre une prophylaxie à base d'antirétroviraux (ténofovir + emtricitabine) avant la prise de risque pour diminuer le risque de contamination par le VIH (lors d'un risque sexuel élevé).
 - **Prévention de la transmission mère-enfant** : un traitement efficace chez la mère en cas d'indétectabilité de la charge virale réduit considérablement le risque de transmission au nouveau-né lors de l'accouchement (de 20-25% en l'absence de traitement à 0.3% pour une charge virale indétectable à l'accouchement).