



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Dépistage, Confirmation et suivi des patients atteints du
Virus de l'immunodéficience humaine au centre hospitalier
provincial de Meknès.**

Présenté par : Hamrouni Houda

Encadré par : Pr S.Sefrioui (FST fès)

Dr M.Maouloua (CHP Meknès)

Soutenu le : 07/06/2018

Devant le jury composé de :

- **Dr M.Maouloua**
- **Pr S.Sefrioui**
- **Pr.A.Alaoui Belrhiti**

Stage effectué au : CENTRE HOSPITALIER PROVINCIAL DE MEKNES
Année universitaire 2017-2018

Remerciements

*Au nom de DIEU
Clément et Mésericordieux
Louange à ALLAH !*

Mes remerciements s'adressent à :

- **MES PARENTS :**

Tout d'abord, mes plus sincères remerciements vont à mes parents pour leurs encouragements, leur soutien ainsi que leur compréhension. Tout au long de mon cursus, ils ont su me donner toutes les chances pour réussir.

- **DR MOHAMED MAOULOUA :**

C'est l'occasion opportune pour moi de vous remercier pour tout ce que vous avez fait durant mon séjour au sein du service de sérologie au laboratoire des analyses sanguines de L'Hôpital Mohamed V. Votre altruisme professionnel et social fait de vous une personnalité unique. J'ai été marqué par votre grandeur d'âme, votre disponibilité constante sans oublier vos qualités remarquables. Soyez assuré, cher maître de ma profonde gratitude.

Merci infiniment pour la confiance que vous avez mis en moi. Sans cette confiance je n'aurais pas pu reconstruire ma personnalité et mes connaissances.

- **PR SAMIRA SEFRIOUI :**

Pour votre aide et conseils. Grace à votre disponibilité et à vos conseils je suis arrivée à bout. Je vous remercie une fois de plus, par ce travail, je vous atteste mon respect et ma reconnaissance.

- **Aux membres de jury :** Tout simplement merci de votre bienveillance.

- **Je tiens à exprimer mes forts remerciement aux personnels du laboratoire d'analyse médicales de l'hôpital MohammedV.**

C'est avec une certaine émotion et beaucoup de sincérité que je voudrais remercier toutes les personnes ayant soutenu et apprécié mon travail.

Liste d'abréviations

NFS : Numération formule sanguine ou Hémogramme

Vs : Vitesse de sédimentation

Tp : Taux de prothrombine

TCA : Temps de céphaline activée

ECBU : Examen cytobactériologique des urines

Lp : Liquide pleural

LCR : Liquide céphalo-rachidien

TG : Tri-glycérides

ASLO : AntistreptolysineO

TPHA : Treponema Pallidum Hemagglutinations Assay

VDRL : Venereal Disease Research Laboratory

TSH : Thyréostimuline

EPP : Electrophorèse des protéines Plasmatiques

HbA1c : Hémoglobine glyquée

TROD : Test Rapide à orientation Diagnostique

ARV : Anti Rétroviraux

CD4 : Cluster de différenciation 4

SIDA : Syndrome d'immunodéficience acquise

SIV : Virus d'immunodéficience simienne

CRFs : Circulating Recombinant forms

LTR : Long terminal repeat sequence

CTI : Complexe de transcription inverse

CPI : Complexe de Pré-Intégration

NLS : Signaux de localisation nucléaire

TAR : Traitement Anti Rétroviral

TME : Transmission mère-enfant

AZT : Zidovudine

Gp : Glycoprotéine

W.B : Western Blot

ADN(1) : Acide désoxyribonucléique monocaténaire

AND (2) : AND bicatenaire = à deux brins

EDTA : Etylène Diamine-Tétra-Acétique

ELISA : Enzyme-Linked immunosorbent assay (Dosage immuno-enzymatique sur support solide)

TN : Témoin Négatif

TP: Témoin Positif

Liste des figures

Tableau 1 : Quelques différences entre les deux variétés du VIH.	Page 4
Tableau 2 : Souches et les sous types de HIV-1.	Page 5
Tableau 3 : Quantité de réactifs nécessaires selon le nombre de bandelettes.	Page 18
Figure 1 : Structure et génome du VIH-1.	Page 5
Figure 2 : Schéma représentatif du génome (ARN) du VIH.	Page 6
Figure 3 : Formation du DNAc lors de la Rétrotranscription de l'ARN viral de HIV-1.	Page 7
Figure 4 : Evolution de la charge virale du système immunitaire au cours de l'infection par le VIH .	Page 10
Figure 5 : Bandelettes Alere Determine TM HIV1/2 utilisées pour le TROD .	Page 14
Figure 6 : Matériel utilisé pour le Western. Blot.	Page 16
Figure 7 : Réactifs utilisés pour le Western. Blot.	Page 17
Figure 8 : Appareil utilisé pour la détection de la charge virale HIV.	Page 19
Figure 9 : Réactif utilisé pour la charge virale .	Page 20
Figure 10 : Appareil utilisé pour le Comptage des CD4.	Page 21
Figure 11 : Deuxième étape pour réaliser le taux de CD4 .	Page 21
Figure 12 : Troisième étape pour réaliser le taux de CD4.	Page 22
Figure 13 : Cinquième étape pour réaliser le taux de CD4 .	Page 22
Figure 14 : Exemples des cas séronégatifs.	Page 23
Figure 15 : Résultat d'un patient séropositif .	Page 23
Figure 16 : Dernière Etape d'un W.B représentant 3 bandelettes de contrôle (1 ;2 ;3)et deux bandelettes d'échantillons (4 ;5).	Page 24
Figure 17 : Résultat de deux patients (20 et 21) avec un profil complet.	Page 24
Figure 18 : Résultat d'une charge virale indétectable.	Page 25
Figure 19 : Nouveaux cas dépistés par le test rapide.	Page 26
Figure 20 : Répartition d'infections par le VIH selon l'âge.	Page 27

SOMMAIRE

○ Remerciements	
○ Liste d'abréviations	
○ Liste des figures	
I. Introduction	1
II. Présentation de la structure d'accueil	
III. Revue bibliographique : Virus de l'immunodéficience humaine	2
1. Histoire et origines	3
2. Classification	3
3. Types	4
4. Structure et Organisation génétique	5
5. Cible	7
6. Cycle de réplication	7
7. Cycle évolutif	9
8. Transmission	10
9. Diminution du risque d'infection	12
10. Les antirétroviraux	13
IV. Matériel et Méthodes	
A. Dépistage :	
✓ Test rapide	14
B. Confirmation :	
✓ Western Blot	15
C. Suivi des patients atteints du VIH	
1. Charge virale	19
2. Taux de CD4	21
V. Résultats et discussion	
1. Partie résultats	23
2. Répartition d'infection par le VIH	26
VI. Conclusion	28
○ Références bibliographiques et Webographie	

1) Introduction

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine est un problème de santé public et constitue à l'heure actuelle l'une des plus importantes pandémies.

Le diagnostic et la prise en charge de l'infection à VIH ont bénéficié depuis 20 ans de progrès considérables, liés en particulier au développement du traitement Antirétroviral et aux possibilités de mesures du taux de lymphocytes CD4 et de la charge virale. Comprendre comment le VIH se multiplie et endommage le système immunitaire et comment l'infection à VIH progresse sur le plan biologique et clinique est important pour mieux informer les patients et suivre l'évolution de leur infection avec ou sans traitement.

Le But du travail pendant ce stage est le dépistage du Sida par les Tests rapides suite à une prise de risque. En cas de séropositivité, le résultat doit être confirmé par le WESTERN BLOT. Une charge virale et un taux de CD4 sont aussi demandés par le médecin pour savoir à quel stade est le patient afin de commencer le suivi et déclencher la prise en charge avec des traitements antirétroviraux. Ces étapes sont importantes car non seulement elles permettent la prolongation de la durée de vie des patients, mais également la prévention précoce des maladies opportunistes.

2) Présentation de la structure d'accueil

▪ Le centre hospitalier provincial Mohamed V de Meknès

L'Hôpital Mohamed V de Meknès est le plus important des établissements de soins de la Région de Meknès-Fès. Il est parmi les plus grandes structures sanitaires du Royaume. Créé en 1953, il a été inauguré le 17 juillet 1956, par sa Majesté Mohamed V. C'est un hôpital régional qui, depuis son ouverture jusqu'à présent, considéré comme un centre de référence des soins et des consultations de rayonnement régional voir même interrégional, vu qu'il contient plusieurs pôles importants (services des grands brûlés, Pneumologie, etc..).En plus des services de médecine l'hôpital comporte deux laboratoires :

Le laboratoire d'anatomie pathologique

Le laboratoire d'analyses médicales : 4 paillasse + 2 salles de prélèvement

➤ Salles de prélèvement :

Pour accomplir l'étape pré-analytique , l'infirmier choisit les tubes des prélèvements adéquats avec les analyses demandées par les médecins , le choix est par rapport à la présence et la nature des anticoagulants dans les tubes ; l'identification (Nom, Prénom ,Numéros de RAMED ...)des tubes est aussi importante pour le bon déroulement ultérieure des analyses . Ceci sera complété par le technicien où biologiste dans les paillasse en effectuant un triage pour s'assurer que les analyses ne soient pas mélangées entre les patients .

➤ Paillasse d'Hématologie :

Les analyses disponibles sont : NFS, VS, TP, TCA ,Groupage.....

➤ Paillasse de Microbiologie :

Les analyses disponibles sont : ECBU, Copro-Parasito des selles, LP , LCR ...

➤ Paillasse de Biochimie :

Les analyses disponibles sont : Urée, Créatinine, Glycémie, Calcémie, Bilan lipidique...

➤ Paillasse de sérologie :

Analyses	Appareils /Réactifs	But
TPHA/VDRL	TPHATest KIT	Syphilis
TSH /T3/T4	Mini VIDAS + Cobas E 411	Bilan thyroïdien
HbA1c	Bio-Rad D-10	Diabète
Troponine	miniVIDAS + cobas E411	Lésion du myocarde
TROD	Bandelettes :AlereDetermineHIV1/2	<u>VIH/SIDA</u>
Western Blot	MP Diagnostics HIV BLOT 2.2	<u>VIH /SIDA</u>
Taux de CD4	BD FACS Presto	<u>VIH/SIDA</u>

3) Revue bibliographique : Le virus d'immunodéficience humaine

1. Histoire et Origines :

Le Syndrome d'Immunodéficience Acquis (SIDA) a tout d'abord été observé aux Etats-Unis en 1981 chez quatre jeunes homosexuels qui présentaient une pneumonie à *Pneumocystis carinii* associée à une immuno-déplétion sévère des cellules T. Les études cliniques et épidémiologiques ont rapidement révélé que ce syndrome était causé par un agent infectieux transmis par voie sexuelle et sanguine. C'est en 1983 que l'agent étiologique du SIDA est isolé à partir d'un ganglion lymphatique d'un patient présentant une lymphoadénopathie(4).

Le VIH vient de virus de singe, virus de l'immunodéficience simienne (SIV), qui sont passés plusieurs fois à l'homme et ont produit des virus différents(5). Dans la poursuite des travaux, au sud du Cameroun, en République démocratique du Congo (RDC) et au Gabon, on a constaté que les colonies de chimpanzés de zones géographiques différentes étaient infectées par des SIV différents. On a retrouvé très précisément chez des chimpanzés vivant dans la Lobéké, au sud-est du Cameroun, le VIH-1(6).

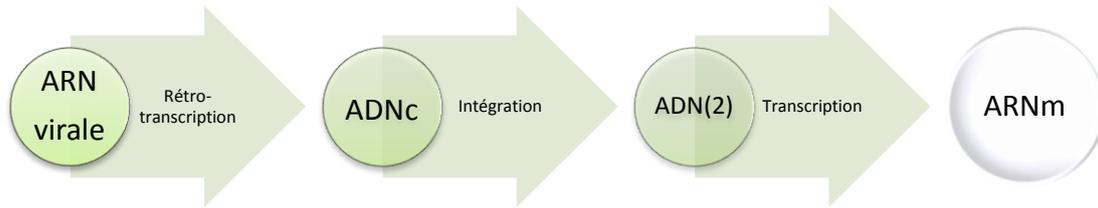
Le VIH est donc issu d'une transmission du virus de l'immunodéficience simienne (VIS) infectant naturellement les grands singes du sud de Cameroun. il aurait franchit la barrière des espèces humaines lors de chasses ,par des morsures d'un singe infecté, par des écorchures lors du dépeçage de ces animaux , ou lors de la consommation de viande de brousse, survenus probablement dans les années 1940.De nombreux facteurs interviennent ensuite dans sa propagation ;Les bouleversements liés aux migrations , à l'urbanisation massive ,aux pratiques de médecine de masse (aiguilles non stériles) sont des cofacteurs à l'origine de la diffusion épidémique actuelle (7) .

2. Classification :

Le VIH fait partie des virus, qui sont généralement classés selon :

- Taille
 - Lien d'assemblage
 - Symétrie de la capsid
 - Présence ou absence d'une enveloppe lipidique
 - L'organisation du génome
-
- Virus à ADN (1) ou (2)
 - Virus à ARN(1) ou (2)
- } À polarité + ou -

Le VIH est classé parmi les virus enveloppés (pouvoir pathogène adhésive) ; ARN(1) ; possédant une Rétrotranscriptase qui travaille contre le dogme central de la biologie moléculaire.



Le VIH fait alors partie :

- Famille des Rétroviridae : l'infection par ces virus entraîne une modification génétique définitive de la cellule qui devient une cellule cancéreuse
- Sous famille des Orthoretrovirinae : ce sont des virus à ARN monocaténaire à polarité positive infectant les Vertébrés
- Genre des Lentivirus : ce sont des virus cytopathogènes (infectent les cellules spécifiquement les cellules immunitaires leucocytaires) ; à évolution lente (8).

3. Type :

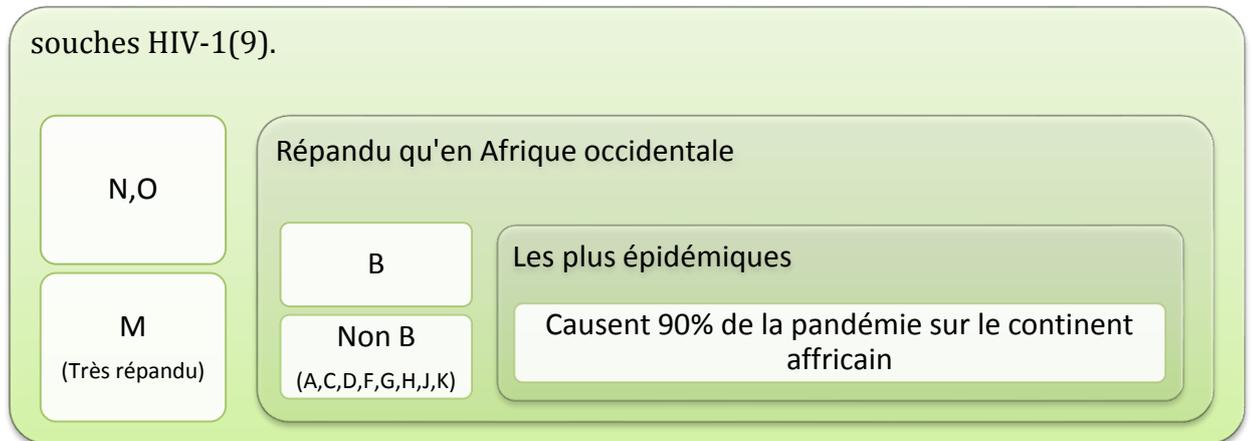
Il existe deux types de VIH : HIV-1 et HIV-2 qui diffèrent selon les origines(1), la répartition et la transmissibilité (tableau1).

Tableau1: Quelques différences entre les deux variétés du VIH.

	VIH-1	VIH-2
Origines	Chimpanzé (SIVcpz)	Mangabey de suie (SIVsm)
Répartition	Mondiale	Afrique de l'ouest
Transmissibilité	Très forte	Moindre

Pour le HIV-1 il existe plusieurs souches comme le montre le tableau si dessous :

Tableau 2 : Souches et Sous types de HIV-1.



Il existe un autre type VIH issue des recombinaisons génétiques entre les différentes souches HIV-1 c'est le CRFS. Ils sont encore mal connu, la présence de ces différentes variétés de VIH causent de véritables problèmes au niveau de la détection de la charge virale, d'où la nécessité de se protéger pendant les rapports sexuelle même entre un couple séropositif (10).

4. Structure et génome (HIV-1):

La structure et le génome du VIH sont illustrés dans la figure(1).

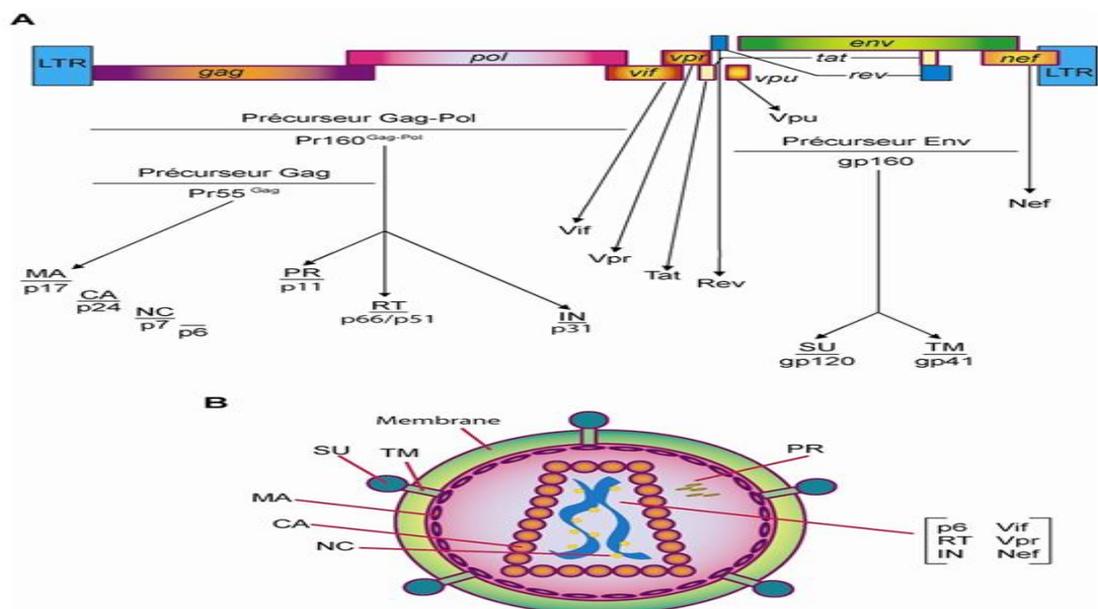


Figure 1 : Structure et génome du VIH-1 (11).

Le génome du VIH est sous forme d'ARN monocaténaire qui comporte des gènes codants pour des protéines nécessaires pour la formation du virion.

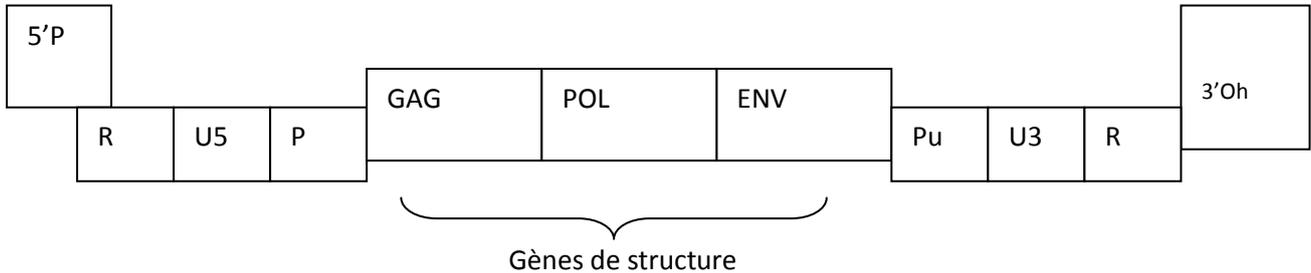


Figure 2 : Schéma représentatif du génome (ARN) du VIH.

-R : Signal de fin de rétro transcription.

-U5/U3 : Séquences régulatrices inconnu.

-P : Séquence qui va initier la synthèse du premier brin d'ADN.

-Pu : Séquence où sera amorcée la synthèse du second brin d'ADN.

-Gag : Corps protéique =code pour la protéine p55 qui sera clivé en p17 , p7,p9,p24 (Figure 1).

-Pol : Code pour la protéine p180 qui sera clivé en p66/51 (Réverse transcriptase) ;p32 (Intégrase) ; p10(Protéase) (Figure1).

-Env : Code pour la Gp160 qui sera clivé en TmGp41(Glycoprotéines transmembranaires) ; SUGp120 (Glycoprotéines de surface) (12)(Figure1).

L'ARN viral est convertit en ADN Proviral Grace à la réverse transcriptase qui possède les activités suivantes (figure 3) :

-Polymérase 5' \longrightarrow 3'

-RNAase H : Dégrade ARN qui est associé a ADN pendant le cycle (attaque l'hybride ADN-ARN).

-Endonucléase : Pour faire intégrer l'ADN viral avec l'ADN humain.

-Saut d'ADN : Spécificité des Rétrotranscriptases (13).

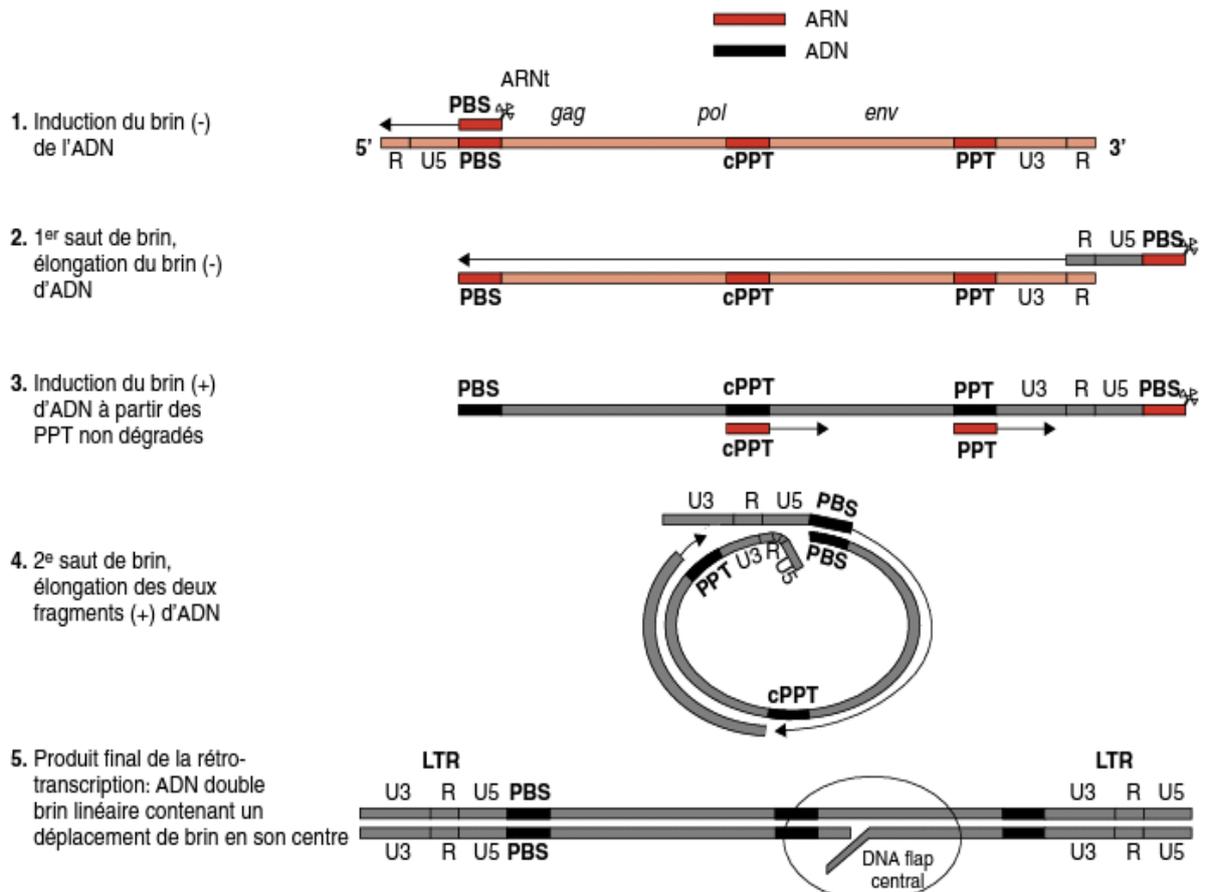


Figure 3 : Formation du DNAc lors de la Rétrotranscription de l'ARN viral de HIV-1 (13).

L'ADN du VIH ou ADNc ou ADN proviral contient des séquences d'intégration au chromosome humain à un site spécifique ce sont les séquences LTR situés aux extrémités 5' et 3' .l'intégration du matériel génétique des rétrovirus au génome de la cellule infecté constitue une étape obligatoire à l'établissement d'une infection productive (13). (Figure1).

5. Cible :

La protéine de l'enveloppe est un trimère de 441.9 KDa située à la surface du virus du VIH-1 (14). Elle contient deux sous-unités associées par des liens non-covalents que l'on nomme Gp120 et Gp41 (15) .C'est deux sous-unités sont produites à la suite du clivage protéolytique du précurseur Gp160 dans le réticulum endoplasmique (RE) (16). Cette protéine détient des fonctions importantes puisque c'est elle qui va permettre l'attachement du virus à la surface de la cellule cible =lymphocyte T et la fusion avec celle-ci lors de son interaction avec la molécule récepteurCD4 et le corécepteur CCR5 ou CXCR4 (17).

6. Cycle de réplication :

On peut diviser le cycle de réplication du VIH-1 en deux grandes parties : la phase précoce et la phase tardive. La phase précoce débute avec l'attachement du virus à la membrane d'une cellule T CD4. Cela se fait à l'aide de la protéine gp120 qui va aller lier la molécule CD4. Cette liaison induit un changement de conformation de gp120, ce qui permet l'exposition du site de liaison au corécepteur (15). Gp120 est la protéine en charge de lier le corécepteur qui est en général soit CCR5 soit CXCR4 selon le tropisme du virus (18). Cette liaison induit un changement de conformation dans gp41 ayant pour conséquence l'exposition d'une région hydrophobe appelée «peptide de fusion» (20). Cela engendre la fusion du virus avec la cellule et la relâche de la capsid dans le cytoplasme. Vient ensuite la décapsidation. Le complexe de transcription inverse (CTI) est alors formé. Il comporte les deux brins d'ARN viral, un ARN de transfert (ARNt), la transcriptase inverse, l'intégrase et les protéines p17, p7 et Vpr (22). La transcription inverse s'effectue en même temps que la décapsidation. Le génome passe par un intermédiaire ARN-ADN, et puis l'ARN est dégradé lors de la synthèse du double brin d'ADN (21). Le complexe de pré intégration est alors créé. Le CPI utilise ensuite les microtubules pour migrer vers le noyau. La migration se fait à l'aide des signaux de localisation nucléaire (NLS) que portent l'intégrase et les protéines p17, p7 et Vpr. Une fois dans le noyau, l'ADN viral s'intègre dans le génome de la cellule avec l'aide de l'intégrase (22). Cette intégration peut s'effectuer à plusieurs locations différentes.

Par la suite, la machinerie de réparation de dommage à l'ADN de la cellule vient compléter les espaces manquants et lier le provirus à l'ADN de la cellule hôte(23) . La suite du cycle fait partie de la phase tardive, car elle implique la production de nouveaux virions. Lors de l'activation d'une cellule infectée, l'ARN polymérase II cellulaire est recruté sur le promoteur viral qui est équipé d'une boîte TATA. Le complexe de pré-initialisation s'assemble à cet endroit et la transcription débute. Cependant, l'ARN polymérase s'arrête après avoir généré un fragment d'ARN en forme d'épingle à cheveux appelé TAR. Pour continuer l'élongation, la polymérase a besoin d'être phosphorylée. La protéine virale Tat se lie donc à TAR, ce qui permet de recruter la kinase cycline dépendante 9 (Cdk9), et qui va alors phosphoryler la polymérase pour permettre la suite de l'élongation (22). Les ARN messagers (ARNm) codant pour les protéines Nef, Tat et Rev sont rapidement transcrits et transportés dans le cytoplasme. La production rapide de Rev est importante, car les ARNm codant pour les protéines de structure ne sont pas épissés et peuvent donc être dégradés dans le noyau s'ils y restent trop longtemps. Rev se lie à la structure nommée «Rev réponse élément» (RRE) située dans le gène *env*. Rev permet le transport des ARNm non épissés hors du noyau grâce à son site d'export nucléaire (NES) (22). Une fois que tous les ARNm sont dans le cytoplasme et qu'ils ont été traduits en protéines, l'assemblage du virion peut commencer. L'ARN génomique fraîchement répliqué à partir du provirus s'assemble aux polyprotéines Gag et Pol (24, 25). Ce complexe se dirige ensuite vers la membrane plasmique. Il s'associe à une région riche en cholestérol et en glycolipide, car un virion dont l'enveloppe est enrichie en lipide favorise la stabilité et la fusion (17). Lors du bourgeonnement et de la relâche du virion, les précurseurs Gag sont clivés par la protéase virale afin de générer la

matrice (p17), la capside (p24) et la nucléocapside (p7) (26) ; La particule virale mature est alors formée.

7. Cycle évolutif :

L'infection par le VIH se divise en trois phases : la primo-infection, la phase de latence et la phase SIDA qui conduit à la mort (fig. 3).

Lors de la première phase : la primo-infection, soit durant les quelques semaines qui suivent l'infection, on observe une chute rapide du nombre de lymphocytes CD4+ (courbe bleue : Figure 4) cibles majoritaires du virus, corrélée à une augmentation rapide de la charge virale dans le sang du patient (courbe rouge : Figure 4). Cette première phase est associée à des symptômes similaires à la *grippe* ou à la *mononucléose*. Le délai qui sépare l'exposition au virus et la présence de nombreux virions dans le sang montre qu'il est important d'attendre environ cinq semaines avant de réaliser un test de dépistage du VIH suite à la prise d'un risque d'infection, ceci pour éviter un diagnostic faux-négatif.

Le système immunitaire réagit et va contenir l'infection au point de rétablir partiellement le nombre de lymphocytes CD4+. La charge virale diminue puis se stabilise, signe d'un équilibre partiel entre réplication virale et destruction par le système immunitaire. On rentre alors dans la phase de latence pendant laquelle les symptômes cliniques sont réduits. Pendant cette deuxième phase qui dure plusieurs années, le nombre de lymphocytes CD4+ va progressivement décroître, sauf pour les individus appelés « elite controllers » chez qui la charge virale diminue au point de ne plus être détectable. Plusieurs facteurs semblent expliquer pourquoi le système immunitaire n'arrive pas à éliminer totalement le virus du corps infecté. La principale raison est la constitution de tissus ou cellules « réservoirs ». La réplication du virus une fois intégré est en effet dépendante de la régulation de l'expression génétique (ex : méthylation de l'ADN), des facteurs de restriction intracellulaires (ex : histones déacétylases, HDAC), mais aussi des protéines virales régulatrices (ex : Tat, Rev – Siliciano & Siliciano). D'autre part, des cellules autres que les lymphocytes CD4+ peuvent être infectées ou porteuses du virus, comme par exemple les macrophages dans lesquels le VIH se réplique peu (Ellery *et al.*, 2007). A partir d'un certain déclin du nombre de lymphocytes CD4+, soit en dessous de 350 cellules/ml, la maladie SIDA se déclare (dernière phase). La charge virale augmente à nouveau rapidement, signe que le système immunitaire n'est plus capable de contenir la réplication active du VIH. Des infections opportunistes peuvent alors survenir (ex : sarcome de Kaposi, infections pulmonaires comme la tuberculose, etc.) et conduire au décès du patient.

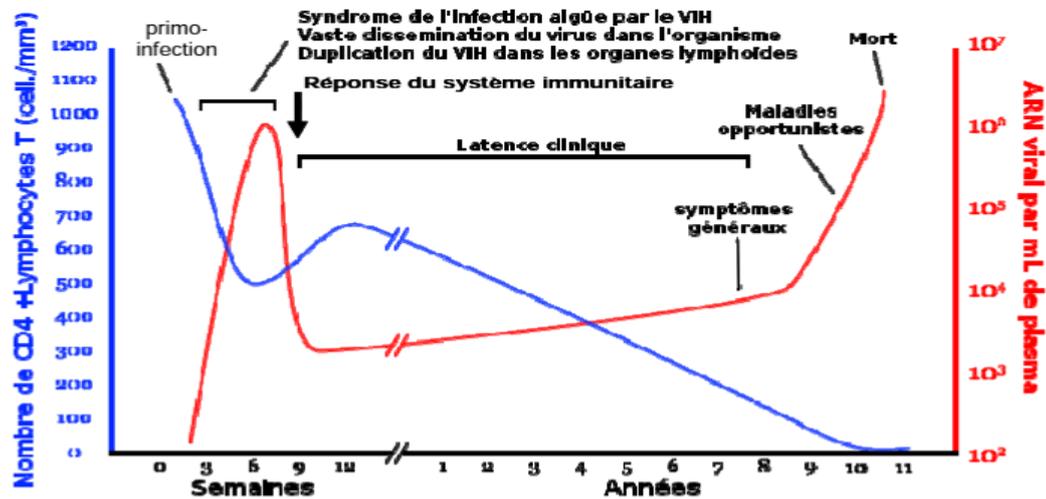


Figure 4 : Evolution du taux de CD4 et de la charge virale du système immunitaire au cours de l'infection par le VIH.

8. Transmission du VIH :

Le VIH est présent dans les liquides de l'organisme des personnes infectées. Il y a risque de transmission lorsqu'un liquide d'une personne infectée contient une quantité suffisamment importante de virus pour être contaminant et trouve une porte d'entrée à travers laquelle il peut pénétrer dans le corps d'une autre personne.

▪ **Les liquides contaminants :**

Les liquides contaminants d'une personne infectée par le VIH sont :

- le sang.
- les sécrétions sexuelles : sperme, liquide séminal et sécrétions vaginales.
- le lait maternel.

En revanche, la salive, la sueur, les larmes et l'urine ne sont pas des liquides contaminants.

▪ **Trois modes de transmission possibles :**

❖ **Transmission Horizontale : sexuelle (28).**

- Transmission hétérosexuelle : Le risque de transmission hétérosexuelle du VIH est environ 2 fois plus élevé pour une femme ayant un rapport non protégé avec un homme VIH+ (0,05 à 0,15 %) que pour un homme ayant un rapport non protégé avec une femme VIH+ (0,03 à 0,09 %) ; cette différence s'explique en partie par un temps de contact du sperme contaminé avec la muqueuse vaginale plus important que celui des sécrétions vaginales avec la muqueuse du gland (l'homme se « retirant » après éjaculation).
- Transmission homosexuelle : Entre hommes, le risque de transmission homosexuelle du VIH lors de rapports avec pénétration anale est élevé en raison de la fragilité et de la perméabilité de la muqueuse anale, lors d'un rapport, le risque est de 0,01 à 0,18 % pour un homme pratiquant une pénétration anale non protégée sur un homme VIH+.

❖ **Transmission sanguine du VIH (29) :**

-Transmission par injections de drogue

La toxicomanie intraveineuse expose au risque de transmission sanguine du VIH lorsqu'il y a partage de seringues, d'aiguilles ou de tout autre matériel nécessaire aux injections (coton, cuillère, etc.). Le risque est de l'ordre de 0,67 % en moyenne par contact à risque, plus important que pour un rapport sexuel non protégé.

-Transmission par transfusion sanguine

La transmission du VIH par transfusion sanguine a aujourd'hui beaucoup diminué grâce au dépistage sérologique systématique du virus chez tous les donneurs de sang. La garantie d'un sang non contaminé n'est cependant pas totale dans la mesure où l'infection à VIH comporte une fenêtre sérologique (au cours de la primo-infection) pendant laquelle les anticorps dirigés contre le virus ne sont pas détectables.

-Transmission lors d'accidents d'exposition des professionnels

Lors d'un AES, le risque de transmission virale ne concerne pas que le VIH (0,3 % par contact à risque) mais également, et de façon plus importante, le VHC (2 %) et le VHB (> 20 %).

❖ **Transmission verticale : de la mère à l'enfant**

La transmission mère-enfant du VIH survient principalement pendant le dernier trimestre de la grossesse, lors de l'accouchement et au cours de l'allaitement au sein. Elle est favorisée par la sévérité de l'infection à VIH chez la mère et par les altérations de l'état du placenta diminuant son effet barrière (infection, rupture prématurée de la poche des eaux...). En l'absence de traitement préventif, le taux de transmission mère-enfant du VIH est de 25 à 50 % ; avec le traitement préventif le plus efficace, il diminue à moins de 3 % (30).

9. Diminution du risque d'infection :

- Le préservatif:

A condition d'être correctement utilisé, le préservatif (masculin ou féminin) rend impossible la transmission sexuelle du VIH et constitue le moyen de prévention le plus efficace et le plus accessible

- La circoncision :

La circoncision constitue un moyen de prévention de la transmission sexuelle, mais uniquement pour les hommes : son effet préventif serait lié au fait que l'ablation du prépuce permet de supprimer une zone particulièrement riche en cellules cibles pour le VIH ; elle diminue le risque d'environ 60 %

- Les effets protecteurs des traitements antirétroviraux :

La transmission de la mère à l'enfant constitue l'une des principaux modes de transmission. Celle-ci peut se réaliser in utero, per-partum et après l'accouchement par l'allaitement. Par conséquent, les moyens de prévention de la transmission verticale du VIH doivent forcément s'intéresser à ces trois étapes ; L'importance de la TME est confirmée par les effets protecteurs des traitements antirétroviraux péripartum (les plus étudiés étant l'AZT et la névirapine : Chez le prématuré, les options thérapeutiques sont plus limitées, Seule l'AZT peut être administrée par voie intraveineuse et la névirapine peut être donnée par voie entérale) et de la césarienne programmée (31) .L'accouchement est le moment où le fœtus est le plus exposé au VIH. Dans tous les cas, il faut s'assurer que la femme reçoit son traitement antirétroviral oral y compris le jour de l'accouchement, même en cas de césarienne. L'allaitement artificiel demeure la seule prévention totalement efficace de la transmission postnatale par l'allaitement. Le traitement préventif classique est l'AZT à la posologie de 8 mg/kg/j en deux à quatre prises pendant 6 semaines, désormais réduite à une durée de 4 semaines. Un renforcement du traitement est recommandé dans les situations à haut risque. Des données récentes confirment l'intérêt du renforcement du traitement préventif chez le nouveau-né, lorsque la mère n'a reçu aucun traitement pendant la grossesse : le taux de transmission était de 13 % après monothérapie d'AZT chez le nouveau-né et de 0 % en cas de renforcement avec au moins deux antirétroviraux. Le traitement est à débiter le plus tôt possible après la naissance et au plus tard avant 48-72 heures de la naissance (32).

10. Les antirétroviraux :

Le traitement ARV ne détruit pas le VIH mais bloque sa multiplication et permet ainsi d'améliorer l'immunité et l'état de santé des patients. Le traitement ARV consiste à prendre 3 médicaments associés (trithérapie) à vie. Tout patient infecté par le VIH présentant des symptômes des stades 3 ou 4 OMS ou dont le nombre de lymphocytes CD4 est inférieur à 350/mm³ doit bénéficier d'une trithérapie ARV.

❖ Mode d'action

Les ARV agissent sur le VIH en interférant avec les étapes de son cycle de réplication. Les principaux ARV disponibles ont comme action de bloquer une enzyme virale impliquée dans le cycle de réplication du VIH : il s'agit des inhibiteurs de la transcriptase inverse, qui

bloquent l'enzyme transcriptase inverse, et des inhibiteurs de la protéase (IP), qui bloquent l'enzyme protéase.

Selon leur structure chimique, les inhibiteurs de la transcriptase inverse se répartissent en deux catégories :

- 1) les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse ou INTI (appelés aussi « analogues nucléosidiques » ou, en raccourci, NUC comme « nucléosidiques ») ;
- 2) les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse ou INNTI (appelés aussi « analogues non nucléosidiques » ou, en raccourci, non-NUC comme « non-nucléosidiques »).

Les inhibiteurs de la protéase nécessitent l'administration conjointe d'un booster, c'est-à-dire d'un médicament (le ritonavir le plus souvent) capable de potentialiser leur efficacité en augmentant leurs concentrations dans le sang : on parle alors d'inhibiteur de protéase boosté.

-Le ritonavir, qui est aussi un anti-rétroviral, n'est utilisé que pour son effet « boost » et non pour son activité anti-VIH. Il agit en freinant l'élimination des IP au niveau d'un des principaux systèmes de dégradation des médicaments appelé cytochrome, situé *dans le foie. Cette action se fait par « compétition » sur les récepteurs à médicaments du cytochrome.*

Matériel et méthodes

A. Dépistage :

✓ Test rapide :

➤ Matériel : le matériel utilisé pour la mise en évidence des anticorps du VIH est :

-Flacon : On peut utiliser deux types de Tube de prélèvement

- a) Tube mauve, avec un anticoagulant EDTA
- b) Tube sec rouge , sans anticoagulant

-Centrifugeuse : Pour la séparation des deux phases de sang.

- a) Pour le tube mauve : le surnageant obtenu est le plasma (+fibrinogène)
- b) Pour le tube rouge : le surnageant obtenu est le sérum (+ fibrine)

- Micropipette : 50 microlitres.

-Bandelettes (Figure5) :

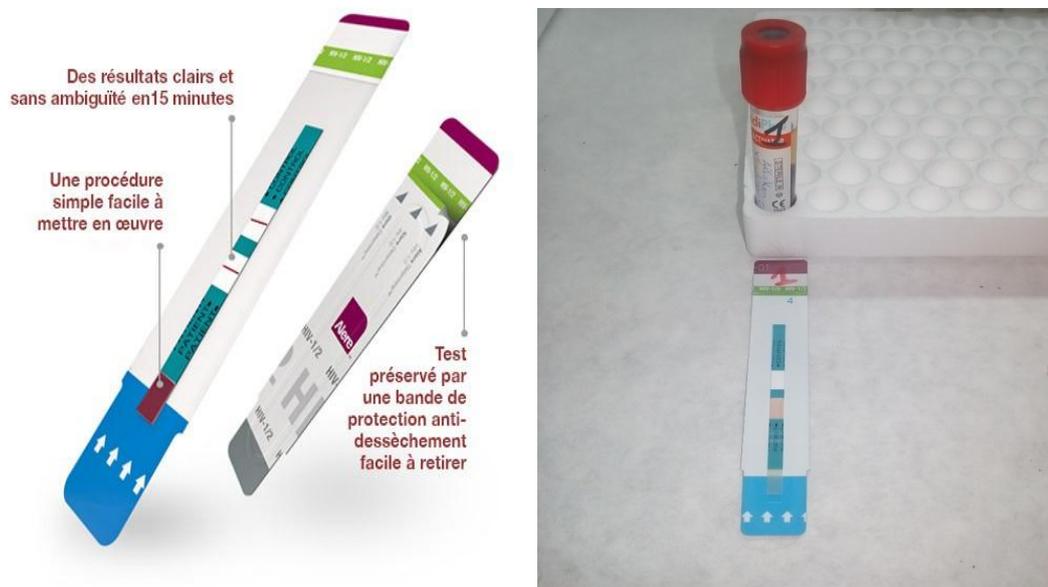


Figure5 : les bandelettes Alere Determine TM HIV1/2 utilisées pour le TROD.

➤ Principe :

Alere Determine TM HIV1/2 est un test immunologique Qualitatif in vitro à lecture visuelle pour la détection des anticorps anti-HIV-1/2 dans le sérum, le plasma ou le sang total humain prélevés par ponction veineuse.

L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt e l'échantillon. Comme l'échantillon migre jusqu'à la zone de dépôt du conjugué, il se reconstitue et se mélange avec le conjugué colloïde de SELENIUM-ANTIGENE.

Ce mélange continue à migrer sur la phase solide jusqu'aux antigènes recombinants immobilisés et aux peptides synthétiques au niveau de la fenêtre-patient.

Si les anticorps anti HVI-1/2 sont présents dans l'échantillon, ils se lient à l'antigène du conjugué antigène-colloïde de sélénium et à l'antigène de la fenêtre-patient en formant une ligne rouge au niveau de la fenêtre-patient .

Si les anticorps anti HIV1/2 sont absents, le conjugué antigène-colloïde se sélénium traverse la fenêtre-patient sans former de ligne rouge.

Une barre de contrôle de la procédure est incluse dans ce système de test afin d'assurer la validité du test.

➤ Procédure d'analyse :

1-Enlever la protection plastique de chaque test.

2-Pour les échantillons de sérum ou de plasma :

a. Distribuer 50 microlitre d'échantillon à l'aide d'une micropipette de précision sur la zone de dépôt de l'échantillon.

b. Attendre au moins 15 minutes (Maximum 60 minutes) et lire le résultat.

B. Confirmation :

✓ Western Blot :

- Matériel: Le matériel indispensable pour la réalisation du Western Blot est :
- Tubes de prélèvement mauve à EDTA.

- Plaques (A).
- Incubateur (B).
- Pipettes jetables en plastique (C).

-3 béchers : nécessaires pour préparer trois solution (de lavage, d'incubation, de conjugué).



Figure 6 : Matériel utilisé pour le Western. Blot.

Un Kit de réactif est également utilisé composé de :

-Bandelettes de Nitrocellulose : Comporte un lysat viral de VIH-1, un peptide d'enveloppe spécifique VIH-2 et une bandelette de contrôle de dépôt sérique(A).

- Contrôle Négatif : sérum humain normal non réactif aux anticorps anti HIV1/2(B).

- Contrôle Positif Fort : Sérum humain à forte concentration en anticorps anti- HIV1 et anti-HIV2(B).

- Contrôle Positif Faible : Sérum humain à faible concentration en anticorps anti HIV1 seulement(B).

-Tampon de Lavage(C).

-Conjugué :Anti-IgG conjuguée à une Enzyme : La phosphatase alcalin(D).

-Substrat : prêt à l'emploi (Solution de 5-Bromo-4-Chloro-3-Indolyl phosphate (BCIP) et de nitrobleu de tétrazolium (NBT))(E).

-Poudre de Blotting : Lait écrémé déshydraté.

- Pincés.

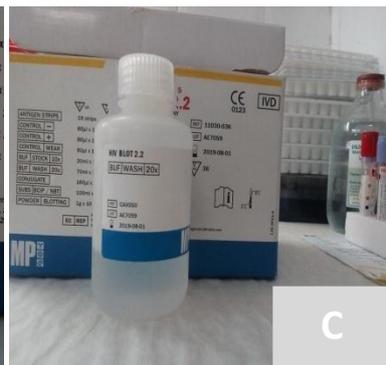
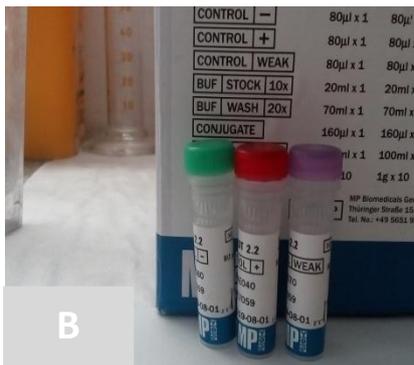


Figure 7 : Réactifs utilisés pour le Western. Blot.

➤ Principe :

Le test HIV BLOT 2.2 de MP Diagnostics est un test immuno-enzymatique qualitatif de détection in vitro des anticorps du virus d'immunodéficience humaine de type 1 et 2 dans le sérum ou le plasma humain. Il est destiné à être utilisé comme test complémentaire plus spécifique sur les échantillons sériques ou plasmatiques ayant présenté une réaction positive aux tests de dépistage rapide.

Des antigènes viraux spécifiques du VIH-1 sont séparés et déposés sur des bandelettes par électrophorèse .Un peptide synthétique spécifique de VIH-2 est disposé sur la même bandelette .Le test permet une caractérisation plus poussée de la réponse sérologique aux protéines virales spécifiques présentes. Chaque bandelette possède également un contrôle interne de dépôt d'échantillon, ce qui permet de réduire au maximum le risque de faux négatif lié à des erreurs de manipulation et vérifier que les échantillons ont été correctement déposés.

Cette méthode est suffisamment sensible pour détecter de très faibles quantités d'anticorps spécifiques au VIH dans le sérum ou le plasma.

➤ Préparation des réactifs :

Tableau 3 : Quantité de réactifs nécessaires selon le nombre de bandelettes.

Réactifs	Nombre de bandelettes utilisées		
	3	6	9
Tampon de lavage dilué au 1/20(mL)	60	100	140
Tampon de blotting dilué au 1/10 (mL)	20	40	60
Poudre de blotting	1	2	3
Solution de conjugué de travail 1/1000 (mL)	7	13	19
Solution de Substrat (mL)	7	13	19

➤ Marche à suivre :

- 1) A l'aide de pinces, extraire avec précaution le nombre nécessaire de bandelettes du tube et les disposer ; face numérotée vers le haut, dans chaque puits ; prévoir 3 bandelettes pour les témoins (TN / TP faible / TP fort).
- 2) Ajouter 2 mL de la solution de lavage dans chaque puit .
- 3) Incuber pendant 2 minutes sous agitation et aspirer.
- 4) Ajouter 2 mL de tampon de blotting (Solution d'incubation).
- 5) Ajouter successivement dans chaque puit 20 microlitres de
 - TN : Témoin Négatif.
 - TP : Témoin Positif Faible.
 - TP : Témoin Positif Fort.
 - Échantillon.
- 6) Recouvrir la plaque et incuber pendant 1 nuit (16-20 heures) à température ambiante.
- 7) Laver chaque bandelette à 3 reprises avec 2ml de tampon de lavage dilué en laissant incuber 5 minutes sous agitation.
- 8) Ajouter 2 ml du Conjugué et incuber 3 minutes.

- 9) Laver 3 fois comme précédemment.
- 10) Ajouter 2 ml de solution de Substrat prête à l'emploi.
- 11) Incuber 15 minutes sous agitation (La réaction peut être arrêtée avant 15 minutes si toutes les bandes sont évidentes).
- 12) Rincer les bandelettes avec l'eau distillée à 3 reprises et laisser les sécher.
- 13) Les coller sur une feuille de papier en les identifiants.

C. Suivi :

1. Charge virale :

➤ Matériel :

-tube de prélèvement mauve , avec anti-coagulant : EDTA.

-Appareil :GeneXpert (Figure 8).



Figure 8 : Appareil utilisé pour la détection de la charge virale HIV.

- Réactif :

Une cartouche sous forme de billes lyophilisées, les billes se dissolvent au contact de l'échantillon(Figure9).



Figure 9 : Réactif utilisé pour la charge virale.

➤ Principe :

Le test de la charge virale mesure la quantité de VIH dans le sang ceci nécessite le comptage de nombre de copies d'ARN du Virus ; Le résultat de test s'exprime en nombre de copies par millilitre (ml) de sang. L'importance de ce test est le suivi de l'impact du traitement sur le patient, Les TAR diminuent la charge virale, et plus la charge virale diminue plus la phase SIDA est éloigné et le patient demeure séropositif mais moins contaminant.

➤ Méthode :

- 1) centrifuger le tube de prélèvement Mauve pour obtenir le Plasma .
- 2) Démarrer le programme.
- 3) Introduire le Nom du patient.
- 4) avec une micropipette, aspirer une quantité du Plasma et l'ajouter au réactif (jetable).
- 5) Lire le code-barres.
- 6) Introduire le réactif dans l'appareil.
- 7) Démarrer le comptage des ARN viraux par l'appareil en se basant sur le principe de la RT-PCR en temps réelle.
- 8) Lecture des résultats.

2. Taux de CD4 :

➤ Matériel

-Appareil :BD FACSPresto (Figure10)



Figure 10 : Appareil utilisé pour le Comptage des CD4.

-Réactif : Cartouches jetables.

-Pipettes jetables de 100 microlitres.

➤ Méthode :

1. Démarrer l'appareil.
2. Pipetez un volume x du sang total nécessaire pour migrer par capillarité dans les tubes (accessoires de l'appareil).



Figure 11 :Deuxième étape pour réaliser le taux de CD4.

3. appuyez sur l'icone 1 pour lancer le temps d'incubation (18 minutes) après avoir mis les tubes dans l'incubateur.



Figure 12 : Troisième étape pour réaliser le taux de CD4.

4. Après le temps d'incubation appuyer sur la deuxième icône pour introduire le nom du patient.
5. Introduire le réactif dans l'appareil pour lancer le comptage du Taux de CD4 dans un volume du sang et attendre le résultat (en moins de 4 minutes).

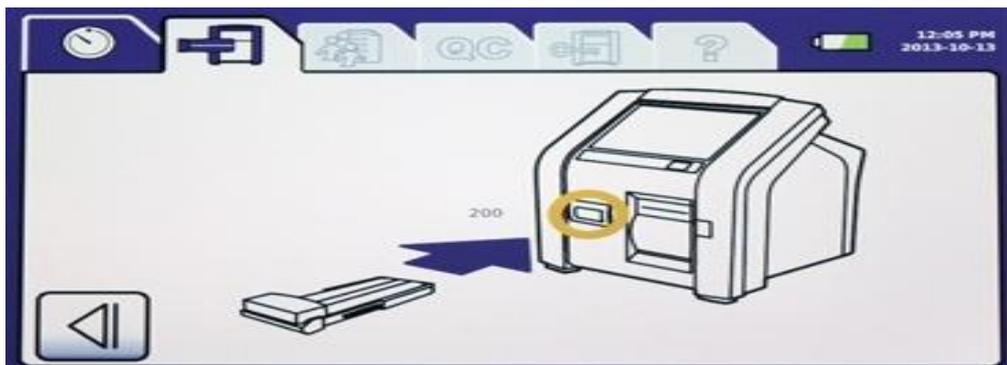


Figure 13 : Cinquième étape pour réaliser le taux de CD4.

➤ Principe :

Le système BD FACSPresto est un système fournissant la valeur absolue et le pourcentage de lymphocytes TCD4 dans des échantillons de sang total, afin de déterminer le statut immunitaire des patients atteints du VIH/SIDA et d'en assurer le suivi .La numération des CD4 permet la aussi de réduire la probabilité de transmission de l'infection à d'autres personnes.

4) Résultats et discussion

1. Partie résultats

▪ Test Rapide :

Les résultats du test rapide de dépistage du VIH sont représentés dans la figure (14 et 15).

- Cas négatif (Une barre) : Une barre rouge apparaît dans la fenêtre-contrôle ; La barre rouge de la fenêtre-patient n'apparaissant pas sur la bandelette (Figure11).

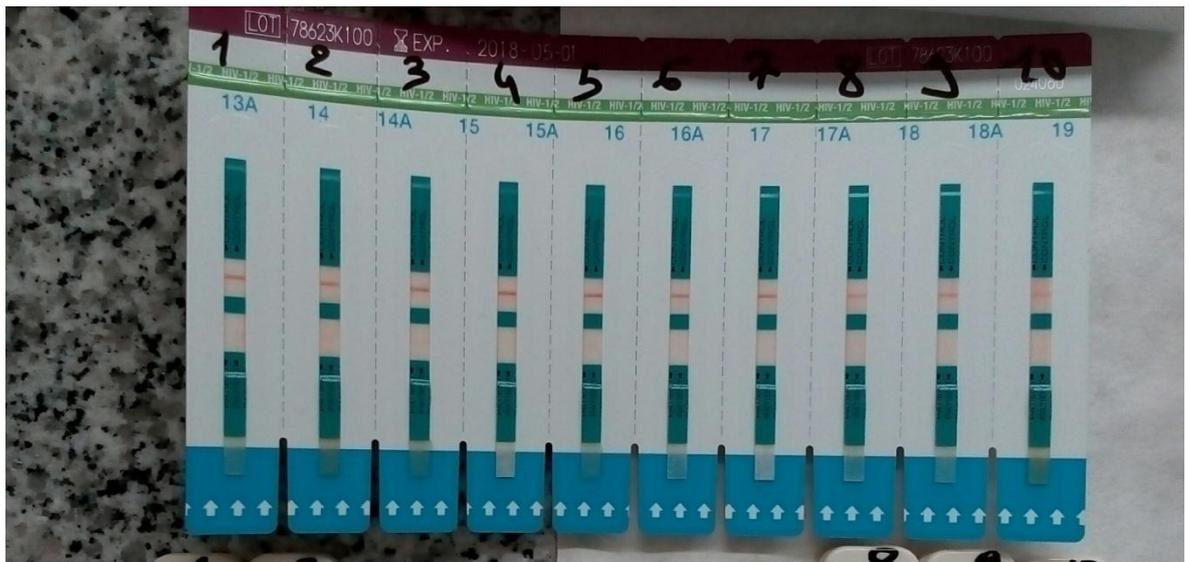


Figure 14 : Exemples des cas séronégatifs.

- Cas positif (deux barres) : les barres rouges apparaissent dans la fenêtre-contrôle et patient(Figure12).

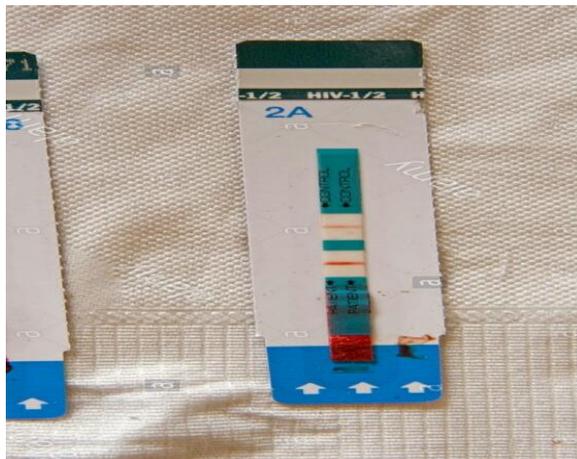


Figure15 : Résultat d'un patient séropositif.

- Western Blot :

Chaque résultat positif d'un test rapide doit être confirmé par un Western Blot car les tests rapides peuvent donner des résultats faux positifs.

La présence ou l'absence d'anticorps anti-VIH1/2 dans un échantillon est déterminée en comparant chaque bandelette de nitrocellulose aux bandelettes de contrôles négatifs, positifs faibles et fort (Figure16).

La bande correspondant au contrôle du dépôt sérique doit toujours être visible. ←



Figure16 : Dernière Etape d'un W.B représentant 3 bandelettes de contrôle (1 ;2 ;3)et deux bandelettes d'échantillons (4 ;5).

✚ Cas très répandu : La plupart des cas trouvés représentent un profil complet : Toutes les bandes sont présentes p17/P24 /p31/Gp41 /p51/p55/p66 / Gp120/ Gp160 (Figure 17).

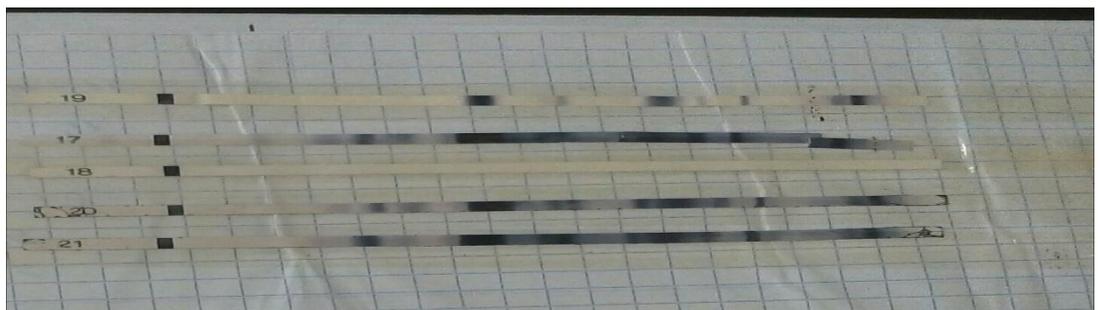


Figure17 : Résultat de deux patients (20 et 21) avec un profil complet.

19: contrôle faible positif ; des bandes peu marquées doivent apparaître, p24 et/ou Gp41 ET Gp 120/Gp160.

17 : contrôle fort positif ; toutes les bandes sont présentes.

18 : contrôle négatif ; Aucune bande n'est présente sauf la bande correspondant au contrôle du dépôt sérique.

20+18 : sont les bandes d'échantillons ils représentent un profil complet.

✚ Interprétation des résultats :

-Pour qu'un résultat soit positif, il ne doit pas forcément avoir un profil complet, il est considéré positif s'il renferme au moins deux bandes parmi : p24 ; Gp41 ; Gp120/160.

-Un sérum est négatif si' il n'y a aucune bande où s'il y'a une p17 isolée.

▪ Charge Virale :

Les cas très répandus trouvés au sein du laboratoire Med V pour l'analyse de la charge virale sont des patients qui consultent régulièrement le médecin ; et leurs résultats représentent une charge virale indétectable (Figure18). Ceci prouve l'efficacité du traitement et une bonne prise en charge.

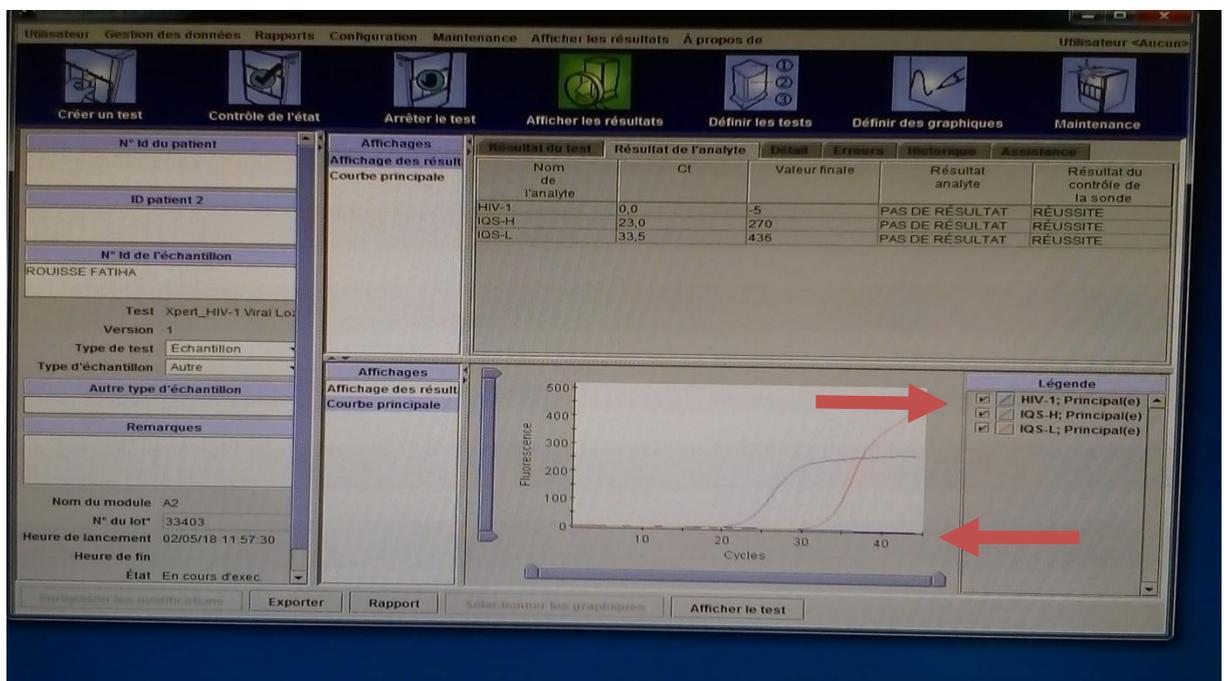


Figure18 : Résultat d'une charge virale indétectable.

La courbe représentant le HIV-1 Principal est indétectable (au niveau 0) c'est-à-dire que la charge virale est au-dessous de 50 copies de virus/mL de sang (sérum). Cela indique que le VIH est moins actif dans sa réplication. Et ce ralentissement de l'activité du virus permet au système immunitaire

de se reconstruire ; C'est une indication pour l'efficacité du traitement antirétroviral, et moins la quantité du virus est présente dans le sang le risque de transmission devient moins élevé.

- Taux de CD4 :

Le taux de CD4 s'exprime en cellules par millimètre cube ou en pourcentage.

D'ordinaire, le taux de CD4 diminue à mesure que le système immunitaire est détérioré par le VIH. Si le taux de CD4 est trop bas, le risque de contracter des infections opportunistes augmentera.

- Pour les personnes séronégatives, ils ont un taux de CD4 normal situé entre 500 et 1500 cellules.

-Si le taux CD4 passe sous la barre des 500 cellules, le risque d'infections augmente et le patient s'approche de la phase SIDA.

-En dessous de 350 cellules, le traitement antirétroviral est recommandé.

-Si le taux de CD4 est inférieur à 200 cellules, le système immunitaire est très faible et le patient risque de contracter des infections potentiellement mortelles.

En pourcentage, si les résultats sont en dessous de 29% c'est-à-dire un taux de CD4 supérieur à 500 et s'il est en dessous de 14% le taux de CD4 est alors inférieur à 200.

2. Répartition d'infection par le VIH

Les nouveaux cas séropositifs trouvés au sein du laboratoire Mohamed V pendant 7 semaines sont au nombre de 5 parmi 50 personnes soit une moyenne de 10%.

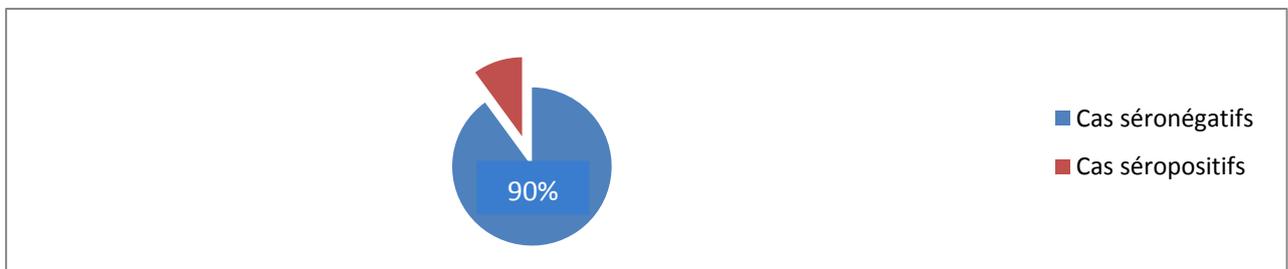


Figure 19 : Nouveaux cas dépistés par le test rapide.

➤ Répartition selon le sexe :

Ces 5 cas ont été confirmés par le Western Blot ; car il est très rare qu'un test rapide donne des résultats faux-positifs. Ces cas représentent tous un profil complet ; Ils sont de sexe féminin.

100% de personnes contaminés étaient de sexe féminin, ceci n'est qu'un résultat partiel durant la période de stage, il ne peut pas refléter le taux réel de contamination par le VIH.

En effet selon l’OMS, l’infection par le VIH touche les hommes ainsi que les femmes, et environ 70% des femmes contaminées contractent le virus de leurs époux.

➤ Répartition selon l’âge :

Parmi les cinq cas séropositifs, il y'a deux enfants et 3 adultes représentés dans la figure (20).

-Deux enfants abandonnés venant du NID ceci montre le risque de transmission mère-enfant, d’où la nécessité de la protection des nouveaux nés par l’AZT et l’accouchement doit être établi par césarienne et non pas par voie normale.

-Deux femmes ont contractés l’infection de leurs conjoints séropositifs, ce qui prouve qu’il n’ya aucune protection durant les relations sexuelles conjugales et légales.

-Une femme venue par hasard au service de (PNEUMOLOGIE), qui présente des signes cliniques du VIH, c’est un cas trouvé à un stade avancé, avec un taux de CD4 bas et une charge virale élevée, d’où la nécessité de dépistage précoce.

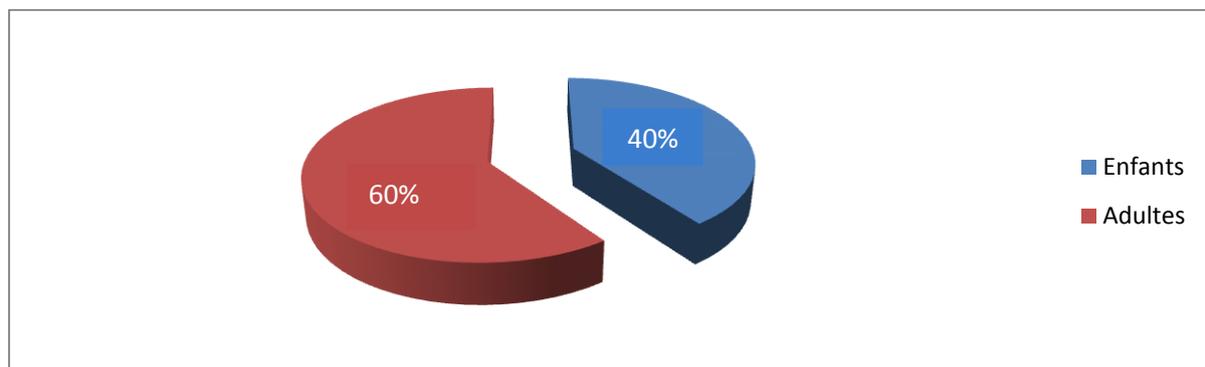


Figure 20 : Répartition d’infections par le VIH selon l’âge.

5) Conclusion

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine constitue à l'heure actuelle un vrai problème de santé public ; les personnes atteintes du VIH doivent bénéficier d'une prise en charge et avoir un accès facile au traitement.

Les nouveaux cas trouvés au sein de l'hôpital Mohamed V vont entamer la prise en charge et commencer le traitement antirétrovirale ; La charge virale et le taux de CD4 sont les analyses qui indiquent à quel stade est le patient (Fenêtre sérologique / phase de latence / phase SIDA) et orientent le médecin afin qu'il donne le traitement avec une posologie convenable.

Les analyses effectuées durant ces deux mois de stage ne concernent pas uniquement les nouveaux cas ; car même pour les cas déjà dépistés ils sont bien suivis en faisant chaque semaine un taux de CD4 et une charge virale pour contrôler l'état immunitaire du patient et suivre l'effet du traitement sur la réplication du virus de l'immunodéficience humaine.

Bien qu'il existe des traitements antirétroviraux efficaces luttant contre le VIH, qui parviennent à rendre dans la plupart des cas la charge virale jusqu'à un niveau indétectable et empêchent ainsi l'apparition du SIDA, il n'existe à l'heure actuelle aucun vaccin ou traitement définitif. La prévention qui passe notamment par les rapports sexuels protégés et la connaissance de son statut sérologique de manière à éviter les infections d'autrui, est le moyen de lutte le plus efficace .Le traitement par les ARV, permet de maîtriser le virus et contribue à éviter sa transmission de sorte que les personnes qui en sont porteuses et celles exposées à un risque d'infection substantiel peuvent bénéficier d'une vie longue, productive et demeurer en bonne santé.

La sensibilisation des gens par les risques de transmission du VIH reste un point sur le quel il faut travailler et renforcer les efforts, pour que tout le monde soit conscient des effets néfastes du VIH sur la santé humaine et les dégâts qu'il peut causer sur le niveau social et même économique.

○ REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

5) Keele BF et al, "Chimpanzee Reservoirs of Pandemic and Nonpandemic HIV-1", *Science*, 2006.

6) Paul M. Sharp and Beatrice H. Hahn, "Origins of HIV and the AIDS Pandemic", *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2011 .

9) Luc Montagnier , willy Rozenbaum ,Jean-Claude Gluckman , "Sida et infection par VIH Médecine-Sciences" , Flammarion .

10) Peeters M, Chai XM, "Origine et diversité du virus de l'immunodéficience humaine .D'où vient-il ,ou va-t-il ? " , *Virologie* , 2013 :26 :448-61 .

13) G. jacquot, S. Benichou, "Import nucléaire du matériel génétique du virus de l'immunodéficience humaine de type 1" , *Virologie*, 2006 , Institut Cochin.

14) Center RJ, Leapman RD, Lebowitz J, Arthur LO, Earl PL, Moss B. "Oligomeric structure of the human immunodeficiency virus type 1 envelope protein on the virion surface." *J Virol*, 2002;76(15):7863-7. Epub 2002/07/05.

15) Melikyan GB, Markosyan RM, Hemmati H, Delmedico MK, Lambert DM, Cohen FS. "Evidence that the transition of HIV-1 gp41 into a six-helix bundle, not the bundle configuration, induces membrane fusion." *J Cell Biol*. 2000;151(2):413-23. Epub 2000/10/19.

16) Bosch V, Pawlita M. "Mutational analysis of the human immunodeficiency virus type 1 env gene product proteolytic cleavage site." *J Virol*. 1990;64(5):2337-44. Epub 1990/05/01.

17) Berger EA, Doms RW, Fenyo EM, Korber BT, Littman DR, Moore JP, et al. "A new classification for HIV-1." *Nature*. 1998;391(6664):240. Epub 1998/01/24.

18) Edwards S, Stucki H, Bader J, Vidal V, Kaiser R, Battegay M, et al. "A diagnostic HIV-1 tropism system based on sequence relatedness." *J Clin Microbiol*. 2015;53(2):597-610. Epub 2014/12/17.

19) Berger EA, Murphy PM, Farber JM. "Chemokine receptors as HIV-1 coreceptors: roles in viral entry, tropism, and disease." *Annu Rev Immunol*. 1999;17:657-700. Epub 1999/06/08.

- 20) Jiang X, Jia Q, Lu L, Yu F, Zheng J, Shi W, et al. "A novel bispecific peptide HIV-1 fusion inhibitor targeting the N-terminal heptad repeat and fusion pe. "
- 21) Arhel N. Revisiting HIV-1 uncoating. "Retrovirology." 2010;7:96. Epub 2010/11/19
- 22) Greene WC, Peterlin BM. "Charting HIV's remarkable voyage through the cell: Basic science as a passport to future therapy." Nat Med. 2002;8(7):673-80. Epub 2002/07/02.
- 23) Craigie R, Bushman FD. HIV DNA integration. "Cold Spring Harb perspectives in medicine." 2012.
- 24) Comas-Garcia M, Davis SR, Rein A. "On the Selective Packaging of Genomic RNA by HIV-1." Viruses. 2016;8(9). Epub 2016/09/15.
- 25) Hellmund C, Lever AM. "Coordination of Genomic RNA Packaging with Viral Assembly in HIV-1." Viruses. 2016;8(7). Epub 2016/07/20.
- 26) Votteler J, Neumann L, Hahn S, Hahn F, Rauch P, Schmidt K, et al. "Highly conserved serine residue 40 in HIV-1 p6 regulates capsid processing and virus core assembly." Retrovirology. 2011;8:11. Epub 2011/02/18.
- 27) Katrak SM. "The origin of HIV : an enigma of evolution." Ann Acad Neurol 2006 ; 9 : 5-10.
- 28) Sandøy IF, *et al.* "Associations between sexual behaviour change in young people and decline in HIV prevalence in Zambia." BMC Public Health 2007 ; 7 : 60.
- 30) 1. Brahmbhatt H, *et al.* "Mortality in HIV-infected and uninfected children of HIV-infected and uninfected mothers in rural Uganda." J Acquir Immune Defic Syndr 2006 ; 41(4) : 504-8.
- 31) Mandelbrot L. "Infection par le virus de l'immunodéficience acquise et grossesse." EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Gynécologie/ Obstétrique, 5- 039- D- 40,201.
- 32) *vie* Laurent Mandelbot et le groupe des experts Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH rapport 2013.
- 33) OMS. Traitement antirétroviral de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent. Recommandations rapides. Novembre 2009.
- 34) OMS. Traitement antirétroviral de l'infection à VIH chez l'adulte et l'adolescent. Recommandations pour une approche de santé publique. Révision 2010.

○ WEBOGRAPHIE

1) www.news-medical.net

3) www.unaids.org/fr/resources/909090

4) https://tel.archives-ouvertes.fr/these_MunierSandie

7) www.sciencesetavenir.fr/sante

8) www.corevih971.org

11) www.these.ulaval.ca

12) [Planet-vie.ens.fr/article/1463/Virus-Sida=evolution du-virus-et-diagnostic](http://Planet-vie.ens.fr/article/1463/Virus-Sida=evolution-du-virus-et-diagnostic).

29) ONUSIDA. Situation de l'épidémie mondiale en 2010. Données de décembre 2009.
http://www.unaids.org/globalreport/default_fr.htm

