



HAL
open science

Prise en charge de l'infection par HIV-1 dans les pays en développement : aspects diagnostiques et évaluation immuno-virologique de l'efficacité thérapeutique dans le sang et les compartiments muqueux

Abdelaye Keita

► To cite this version:

Abdelaye Keita. Prise en charge de l'infection par HIV-1 dans les pays en développement : aspects diagnostiques et évaluation immuno-virologique de l'efficacité thérapeutique dans le sang et les compartiments muqueux. Médecine humaine et pathologie. Université de Lyon, 2018. Français. NNT : 2018LYSES061 . tel-02172061

HAL Id: tel-02172061

<https://theses.hal.science/tel-02172061>

Submitted on 3 Jul 2019

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

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



UNIVERSITÉ
JEAN MONNET
SAINT-ÉTIENNE

N° d'ordre NNT : 2018LYSES061

THESE de DOCTORAT DE L'UNIVERSITE DE LYON

Opérée au sein de
Université Jean Monnet

Ecole Doctorale N° EDSI488
(Ecole Doctorale Science, Ingénierie, Santé)

Spécialité de doctorat : Biologie Cellulaire et Moléculaire

Discipline : Biologie, médecine et Santé

Soutenue publiquement le 31/10/2018, par :

Abdelaye KEITA

Prise en charge de l'infection par HIV-1 dans les pays en développement : aspects diagnostiques et évaluation immuno-virologique de l'efficacité thérapeutique dans le sang et les compartiments muqueux

Devant le jury composé de :

Pr Bruno POZZETTO	PUPH, Université Jean-Monnet/GIMAP-E3064	Président du Jury
Pr Laurent ANDREOLETTI	PUPH, Université de Reims	Rapporteur
Pr Edouard TUAILLON	PUPH, Université de Montpellier UMR 1058	Rapporteur
Pr Cécile HENQUELL	PUPH, CHU Clermont-Ferrand	Examineur
Pr Emmanuelle GORMALLY	PU, Doyen de la Faculté Catholique de Lyon	Examineur
Pr Thomas BOURLET	PUPH Université Jean-Monnet/GIMAP-E3064	Directeur de Thèse
Pr Mamadou S TRAORE	PU, Directeur de l'INRSP Bamako	Invité



Remerciements

Je voudrais adresser mes vives et chaleureux remerciements à toutes les personnes qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de cette thèse.

Mes remerciements vont à l'endroit des membres du jury, qui malgré leurs multiples occupations, ont accepté de juger ce travail.

Je remercie le Professeur Bruno POZZETTO pour m'avoir accueilli en tant que Directeur du GIMAP. Je tiens à lui témoigner ma profonde reconnaissance et mon estime, pour ses conseils, son enthousiasme, sa disponibilité et pour m'avoir fait découvrir sans le savoir « peut-être » sa passion de la recherche. C'est un honneur de présider mon jury de thèse. Veuillez trouver ici le témoignage de ma gratitude

Mes remerciements au Professeur Laurent ANDREOLETTI et au Professeur Edouard TUAILLON pour avoir accepté d'être les rapporteurs de cette Thèse. Mais aussi pour leurs conseils et leur bienveillance qui ont permis d'enrichir ce manuscrit.

Une fois de plus, merci au Pr Laurent ANDREOLETTI, Virologue, au CHU de Reims, car c'est sur son initiative et grâce à sa précieuse collaboration que le travail sur les DBS du Tchad a été possible.

J'adresse mes remerciements au Professeur Cécile HENQUELL et au Professeur Emmanuelle GORMALLY pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.

Au Professeur Mamadou Souncalo TRAORE Directeur Général de l'Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP) de Bamako, merci d'être venu du Mali pour participer à ce jury, en sachant que l'institution que vous dirigez a retenu cette thèse parmi ses priorités. Je n'oublie pas le financement de l'INRSP qui m'a permis de réaliser la collecte et une partie des examens de laboratoire.

Mes remerciements chaleureux vont à mon Directeur de thèse, le Professeur Thomas BOURLET, pour m'avoir accueilli en stage sur le séquençage, qui a abouti à cette thèse. Il a accepté spontanément de diriger ce travail, de faciliter mon inscription à l'UJM, de même que la collaboration entre l'INRSP de Bamako et l'école doctorale. Thomas BOURLET prône le sens du travail en équipe et m'a mis à l'aise pendant tout le temps que j'ai passé à Saint Etienne. Il est venu deux fois au Mali pour suivre l'évolution du travail de terrain, bien évidemment sur fonds propre. Il a cru en moi, aux résultats que nous pouvions atteindre bien que nous ayons peu de ressources pour conduire ce travail. Merci pour m'avoir montré les voies de la rigueur et de la clarté du message scientifique dont j'ai pu bénéficier pendant ces années. Cette rencontre professionnelle et humaine est un événement précieux et déterminant dans ma vie. Je n'oublie pas non plus nos activités extra thèse comme les premières leçons de ski. Recevez l'expression de toute ma reconnaissance.

Je remercie sincèrement Josselin RIGAILL pour sa disponibilité et son appui, qui nous a permis d'obtenir les résultats du microbiote vaginal.

Au Dr Sylvie PILLET pour l'assistance technique, son accueil toujours sympathique au sein du service et ses précieux conseils et encouragements. Je saisis cette occasion, pour remercier toute l'équipe du Laboratoire de Virologie du CHU de Hôpital Nord et particulièrement Véronique, Julie, Audrey et Nathalie, leur disponibilité, leur aide indispensable au cours de mes manipulations ont été un atout pour mener à terme ce travail.

Je remercie amicalement toute l'équipe du GIMAP pour les discussions scientifiques de formation au métier de la recherche biomédicale.

Je tiens à exprimer ma reconnaissance au Dr Tenin Aoua THIERO, Directrice adjointe de l'INRSP de Bamako pour m'avoir toujours guidé avec prévenance et générosité.

Tous mes remerciements à la famille DIOP, Monsieur Mery et Aminata pour l'accueil. Ce qui m'a permis de gérer efficacement mes séjours à Saint Etienne pendant mes venus.

Un grand merci à toute l'équipe de la Fondation Mérieux, à travers le Dr Jean Louis MACHURON, qui a bien voulu prendre en charge mon voyage et le transport de nos échantillons de Bamako à Saint Etienne.

Ce travail a pris une grande place dans mon champ de vie ces dernières années, ce qui fait que j'ai été très souvent absent en famille, il appartient donc à mes enfants, ma femme et à mes proches.

A mon épouse Fatoumata, merci pour la compréhension, l'attention, la patience, et le soutien durant ce long périple. A mes enfants Djeneba, Kadidia, Sekou Amadaou et Mariam, pour leur amour et soutien permanent en acceptant mes multiples absences.

Merci aux patients qui ont bien voulu participer à ce travail de recherche.

Je terminerai par remercier mes collègues du Mali, pour leur soutien dans l'exécution de cette thèse.

Résumé


A l'ère de l'objectif cible « 90-90-90 » de l'ONUSIDA de réduction de la pandémie liée à HIV, il est important d'évaluer régulièrement la cascade de prise en charge des personnes vivant avec le virus HIV afin d'en vérifier l'avancement et d'identifier d'éventuels obstacles à sa réalisation. Pour cela nous avons étudié tout d'abord l'efficacité du traitement antirétroviral (TAR) dans le sang de personnes nouvellement dépistées séropositives à Bamako (Mali). Dans un deuxième travail nous avons évalué la faisabilité des tests de charge virale et de résistance génotypique aux antirétroviraux à partir de sang total séché sur un support de type buvard (DBS). La troisième partie de nos travaux était consacrée à des aspects plus physiopathologiques avec l'évaluation du traitement sur les réservoirs salivaires et génitaux (patients de Bamako) et sur le microbiote vaginal, ainsi que l'étude du profil de résistance des souches archivées dans l'ADN cellulaire de biopsies rectales. Nous avons tout d'abord observé un taux important de perdus de vue à un an dans la cohorte de Bamako (environ 45%). Nous avons également constaté un taux élevé de résistance primaire aux ARV à Bamako et au Tchad (>15%). De manière rassurante, le succès virologique au bout de 1 an chez les personnes traitées était d'environ 90% ce qui correspond à l'objectif de l'ONUSIDA (3^{ème} 90) et un faible niveau de mutations acquises a été observé chez ces personnes adhérentes au traitement. Nous avons démontré l'efficacité du TAR sur le compartiment salivaire et constaté une compartimentation du virus au niveau cervico-vaginal chez certaines femmes traitées (27%) présentant une excrétion virale au niveau vaginal avec une charge virale plasmatique indétectable et/ou des séquences génétiques différentes sur le gène *pol* entre le virus isolé dans la muqueuse et celui provenant du sang. De plus, une dysbiose était observée avant la mise sous traitement, avec normalisation de la flore sous TAR efficace. En ce qui concerne le travail sur les biopsies rectales, des profils

similaires ont été observés entre la souche plasmatique majoritaire au moment de la mise sous TAR et celle archivée dans le rectum 1 à 5 ans après traitement.

En conclusion, nos travaux apportent des informations nouvelles sur le déroulement des différentes étapes de la prise en charge de l'infection par HIV-1 dans les pays en développement : tout d'abord une faible adhésion au traitement ce qui peut constituer un obstacle majeur à la réalisation du plan 90/90/90 ; une forte prévalence de la résistance primaire qui plaident en faveur de l'accessibilité aux différentes classes d'antirétroviraux et de leur utilisation rationnelle, de l'utilisation généralisée en routine des tests de charge virale et du développement d'un réseau de surveillance de la résistance aux ARV dans les pays à ressources limitées ; des données d'efficacité de traitement sur les réservoirs muqueux mettant en évidence l'existence d'une dysbiose et d'une compartimentation du virus au niveau génital ce qui pose le problème du risque résiduel de transmission chez certaines personnes, même sous ARV.

Mots clés : HIV-1 -Traitement antirétroviral – Compartimentation – Résistance primaire – DBS

Table des matières

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS _____	viii
LISTE DES FIGURES _____	xii
LISTE DES TABLEAUX _____	xiii
Introduction générale _____	1
Etude Bibliographique _____	2
Chapitre I : Données épidémiologiques _____	3
1. Situation au niveau mondial _____	3
1.1. Personnes vivant avec HIV _____	3
1.2. Nouvelles infections _____	4
1.3. Décès liés au sida _____	5
1.4. Personnes vivant avec le HIV ayant accès à un traitement antirétroviral _____	5
2. Populations vulnérables _____	6
2.1. Justification de la prise en charge des populations vulnérables _____	6
2.2. Autres populations laissées pour compte _____	9
3. Diversité génétique du HIV _____	11
3.1. Facteurs de variabilité génétique virale  _____	11
3.2. Classification actuelle _____	14
3.3. Répartition géographique _____	16
Chapitre II : Immunopathogenèse de l'infection à HIV _____	18
1. Entrée du virus au niveau muqueux _____	20
2. Établissement des réservoirs _____	22
2.1. Réservoirs cellulaires _____	22
2.2. Réservoirs tissulaires _____	33
3. Rôle du microbiote dans la pathologie HIV _____	40
3.1. Le rôle protecteur du microbiote vaginal normal _____	40
3.2. Rôle du microbiote vaginal dans l'infection par HIV _____	41
3.3. Interactions entre microbiote vaginal et inflammation _____	42
3.4. Impact du microbiome vaginal sur l'efficacité de la prophylaxie _____	43
3.5. Impact du microbiome du GALT sur l'efficacité du TAR _____	45
3.6. Autres microbiotes _____	45
Chapitre III : Prise en charge de l'infection par HIV en Afrique subsaharienne _____	46
1. Rappel des objectifs de l'ONUSIDA _____	46
1.1. Objectif de dépistage de 90% des PVVIH _____	48
1.2. Objectif de 90% de prise en charge thérapeutique _____	49
2. Stratégie de dépistage recommandée par l'OMS _____	49
2.1. Les stratégies et algorithmes de dépistage _____	50
2.2. Les situations particulières _____	50
3. Suivi de l'infection _____	52
4. Traitement antirétroviral _____	53
4.1. Molécules antirétrovirales disponibles _____	53

4.2.	Schéma(s) thérapeutique(s) préconisé(s)	54
4.3.	Efficacité des ARVs sur les réservoirs	56
5.	Résistance aux antirétroviraux	58
5.1.	Notion de barrière génétique	59
5.2.	Polymorphisme et résistance naturelle de sous-types non-B	61
5.3.	Tests génotypiques de résistance aux antirétroviraux	62
5.4.	Données de résistance primaire	63
5.5.	Émergence des souches résistantes dans les réservoirs	65
6.	Les moyens de prévention	66
6.1.	La prophylaxie pré-exposition (PrEP)	67
6.2.	La prophylaxie post -exposition (PPE)	69
6.3.	Le traitement comme prévention (TasP)	71
6.4.	La circoncision masculine	72
7.	Obstacles à surmonter	73
7.1.	Défaut de prise en charge de certaines populations-clés	73
7.2.	Problèmes d'adhérence à la prise en charge	75
7.3.	Dépistage et suivi de la charge virale	75
8.	Moyens à mettre en œuvre	77
8.1.	Elargir et améliorer le dépistage	78
8.2.	Atteindre les populations clés et réduire le nombre de perdus de vue	88
8.3.	Améliorer la surveillance de la résistance	91
8.4.	Implanter des systèmes de type Point of Care (POC)	95
	Travaux Personnels	99
	Partie 1 : efficacité du traitement antirétroviral chez des personnes séropositives vis à vis de HIV-1 nouvellement dépistées	103
	1/ Efficacité du traitement antirétroviral chez des personnes nouvellement dépistées à Bamako (article 1)	103
	2/ Tests de charge virale et de résistance génotypique aux antirétroviraux à partir de support de type DBS	112
	Partie 2 : évaluation de l'efficacité du traitement antirétroviral dans les compartiments muqueux : profils de résistance aux antirétroviraux, influence du microbiote	120
	1/ Efficacité dans le compartiment et composition du microbiote vaginal	120
	2/ Profils de résistance de souches archivées dans le compartiment rectal d'hommes infectés par HIV-1 et sous traitement antirétroviral efficace (article 2)	133
	Discussion et conclusion générale	141
	Références Bibliographique	147
	Annexes	168

LISTE DES SIGLES ET ABREVIATIONS

3TC : Lamivudine

ABC : Abacavir

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNc : Acide Désoxyribonucléique complémentaire

ANRS : Agence Nationale de Recherche sur le SIDA et des hépatites virales

ARN : Acide Ribonucléique

ARNm : Acide Ribonucléique messenger

ARV : Antirétroviral

ASC : Agent de Santé Communautaire

ATV : Atazanavir

ATV/r : Atazanavir boosté avec du ritonavir

AZT : Zidovudine

BIC : bictégravir

CAB : Cabotegravir

CCR5 : chemokine Receptor type 5

CD4 : Cluster of differentiation 4

CD8 : Cluster of differentiation 8

CESAC : Centre de soins, d'animation et de conseils pour les personnes atteintes du VIH/SIDA

CHAI : Clinton Health Access Initiation

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CPA : Cellules presentatrice d'Antigene

CRF : Circulating Recombinant Form

CSH : Cellules Souches Hématopoïétiques

CSLS : cellule sectorielle de lutte contre le VIH Sida

CSLS/MSHP : cellule sectorielle de lutte contre le VIH Sida du Ministère de la santé et de l'hygiène publique

CV : Charge virale

CXCR4 : chemokine receptor type 4

DBS : Dried Blood Spots

DCs : Dendritic Cells-Specific

DTG : dolutegravir

DPS : Dried Plasma Spots
DRV : Darunavir
DRV/r : Darunavir boosté au ritonavir
EDTA : Ethylène diamine tétraacétique
EFV : Efavirenz
ELISA : Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
ETV : Etravirine
EVG : Elvitegravir
FDA : Food and Drug Administration
FDC : Follicular Dendritic Cells
FGT : Femal Genital Tract
FTC : Emtricitabine
GALT : gut-associated lymphoid tissue
GIMAP : Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes
gp120 : Glycoprotéine de surface de 120 kDa
gp41 : Glycoprotéine transmembranaire 41 kDa
HAART : Highly active antiretroviral therapy
HIV : Human Immunodeficiency Virus
HIV-1 : Human Immunodeficiency Virus type 1
HPC : cellules progénitrices hématopoïétiques
HSH : Hommes ayant des relations Sexuelles avec d'autres Hommes
IAP : indicateurs d'alerte précoce
IDV : indinavir
IgA : Immunoglobuline A
IgG : Immunoglobuline G
IgM : Immunoglobuline M
IL : interleukine
INNTI : Inhibiteurs Non Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique
INSTI : Inhibiteur de Transfert de brin
INTI : Inhibiteurs Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse
IP : Inhibiteurs de Protéase
IP/r : Inhibiteurs de Protéase boostés par le ritonavir
IST : Infection Sexuellement Transmissible

LPV : Lopinavir
LPV/r : Lopinavir boosté par le ritonavir
LPS : lipopolysaccharides
MA : macrophages alvéolaires
MDC : Myeloide Dendritic Cells
MI : macrophages interstitiels
MICI : maladie intestinale inflammatoire
MIP : macrophage inflammatoire protéin
Nef : Negative Regulatory Factor
NF-KB : facteur nucléaire activateur de la chaîne légère kappa des cellules B
NFV : Nelfinavir
NK : Natural Killer
NSMC : Non Seminal mononuclear cell
NVP : Nevirapine
OMS : Organisation Mondiale de la Santé
ONUSIDA : Organisation des Nations Unies de lutte contre le Sida
OPP : Open Polyvent Plateform
OTU : Operational Taxonomic Unit
p24 : Protéine de capsid de 24kDa
PBMC : peripheral blood mononuclear cell
PCR : Polymerase Chain Reaction
PDCs : plasmacytoïdes dendritic Cells
PDV : Perdus de vu
PEPFAR : President's Emergency Plan for AIDS Relief
PHIAS : population-based HIV impact assessment
POC : Point Of Care
Pol : Polymérase
PPE : Prophylaxie Post Exposition
PrEP : Prophylaxie Pré-exposition
PVVIH : Personne vivant avec HIV
RAL : raltegravir
RTV : Ritonavir
SCV : Sécrétions cervicovaginales
SIV : Simian Immunodeficiency Virus

SMS : Short Message Service
SNC : Système nerveux central
SQV : Saquinavir
TAR : Traitement antirétroviral
TasP : Treatment as Prevention
Tat : trans-activating regulatory protein
TB : tuberculose
TCD4 : Lymphocyte T CD4
TCM : Lymphocyte T Central Mémoire
TDF : Ténofovir
TDR : Test de Diagnostic Rapide
TDRM : Transmitted Drug Resistance Mutation
TEM : Lymphocyte T effectrice Mémoire
T/F : transmitted/founder
TGF : transforming growth factor
TI : Transcriptase Inverse
TLR : Toll Like Receptor
TMT : Lymphocyte T Mémoire Transitionnel
TN : Lymphocyte T Naif
TPV : tipranavir
Treg : Lymphocyte T regulator
TS : travailleuse de sexe
URF : Unique Recombinant Form
USAC : Unités de soins & d'accompagnement
vif : virion infectivity factor
vpr : viral protein R
vpu : viral protein U
vpx : viral protein X

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1. ÉVOLUTION DU NOMBRE DE PVVIH	3
FIGURE 2. ÉVOLUTION DE LA PREVALENCE DE HIV	3
FIGURE 3. ÉVOLUTION DU NOMBRE DE NOUVELLES INFECTIONS PAR HIV DANS LE MONDE	4
FIGURE 4. NOMBRE DE DECES LIES AU SIDA PAR ANNEE	5
FIGURE 5. ÉVOLUTION DU NOMBRE DE PVVIH AYANT ACCES AU TRAITEMENT ARV	6
FIGURE 6. PREVALENCE COMPAREE ENTRE HOMMES ET FEMMES.....	8
FIGURE 7. PRESENTATION SCHEMATIQUE DE LA CHAINE DE TRANSMISSION DE HIV	8
FIGURE 8. PREVALENCE DE L'INFECTION PAR HIV DANS LA POPULATION HSH	9
FIGURE 9. UTILISATEURS DE DROGUES INJECTABLES : PREVALENCE DE L'INFECTION A HIV	10
FIGURE 10. PREVALENCE DE L'INFECTION PAR HIV DANS LA POPULATION TRANSGENRE	10
FIGURE 11. LA RECOMBINAISON GENETIQUE DU HIV-1.....	13
FIGURE 12. CLASSIFICATION DU VIRUS HIV	15
FIGURE 13. REPARTITION DANS LE MONDE DES PRINCIPAUX SOUS TYPES ET CRF DU HIV-1.....	16
FIGURE 14. PRINCIPALES ETAPES DE L'INFECTION PAR HIV PAR VOIE MUQUEUSE.....	19
FIGURE 15 : HYPOTHÈSES ACTUELLES D'ENTREE DU VIRUS A TRAVERS LA MUQUEUSE.....	21
FIGURE 16. LA SYNAPSE VIROLOGIQUE ENTRE LYMPHOCYTE T ET CELLULES EPITHELIALE.....	21
FIGURE 17. CONSTITUTION DU RESERVOIR DE HIV AU NIVEAU CELLULAIRE.....	22
FIGURE 18. CAPACITE PROLIFERATIVE ET DUREE DE VIE VARIABLE DES LYMPHOCYTES.....	23
FIGURE 19. ÉTABLISSEMENT DU RESERVOIR DU HIV ET PROLIFERATION HOMEOSTATIQUE	28
FIGURE 20. HYPOTHESES DE PERSISTANCE DE PRODUCTION VIRALE DANS LES RESERVOIRS.....	29
FIGURE 21. REPOSE IMMUNITAIRE DU GALT	32
FIGURE 22. SCHEMA DU TISSU LYMPHOÏDE INTESTINAL (GALT)	34
FIGURE 23. INTERACTIONS ENTRE HORMONES SEXUELLES, LE MICROBIOME	44
FIGURE 24. CONNAISSANCE DU STATUT HIV	48
FIGURE 25. CONTINUUM DU DEPISTAGE, DE LA PREVENTION, DU TRAITEMENT	50
FIGURE 26. STRATEGIE DE DEPISTAGE RECOMMANDEE PAR L'OMS	51
FIGURE 27. DETECTION DE L'INFECTION A HIV	52
FIGURE 28. LES 6 EVENEMENTS SENTINELLES DE LA PRISE EN CHARGE	53
FIGURE 29. LISTE DES ANTIRETROVIRAUX DISPONIBLES	54
FIGURE 30. DONNEES PHARMACOLOGIQUES DES ARVs DANS LES TISSUS MUQUEUX.....	57
FIGURE 31. NOTION DE BARRIERE GENETIQUE D'UN ARV	60
FIGURE 32. PREVENTION DE L'INFECTION PAR HIV	67
FIGURE 33. PRESENTATION DE LA CONCEPTION DE L'ANNEAU VAGINAL	70
FIGURE 34. SENSIBILITE DU PREPUCE A L'INFECTION PAR HIV	72
FIGURE 35. PYRAMIDE DE DEPISTAGE ELARGI	78
FIGURE 36. CARTE DES LABORATOIRES D'ANALYSE DE LA PHARMACO RESISTANCE	93
FIGURE 37. LES SOUS-TYPE DE HIV RETROUVES AU TCHAD.....	116
FIGURE 38. VALEUR MOYENNE DE L'ARN DU HIV DANS LE SANG, LES SECRETIONS	124
FIGURE 39. ANALYSE DE LA CORRELATION DES CHARGES D'ARN DU HIV-1.....	125
FIGURE 40. ANALYSE DE LA CORRELATION DES CHARGES D'ARN DU HIV-1.....	125
FIGURE 41. ANALYSE PHYLOGENETIQUE A PARTIR DES SEQUENCES DU SANG	127
FIGURE 42. ANALYSE DU MICROBIOTE VAGINAL AVANT ET APRES INITIATION DU TRAITEMENT.....	129

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : FORMES RECOMBINANTES CIRCULANTES DE HIV-1(CRFs).....	17
TABLEAU 2 : LES TESTS DE DIAGNOSTIC SEROLOGIQUES DU HIV	52
TABLEAU 3 : SCHEMAS DE TAR DE PREMIERE INTENTION PRIVILEGIES ET AUTRES OPTIONS.	55
TABLEAU 4 : OPTIONS DE DEUXIEME ET TROISIEME LIGNES PROPOSEES PAR L'OMS.....	56
TABLEAU 5 : PRINCIPALES ETUDES COMPARANT LES PROFILS DE RESISTANCE	66
TABLEAU 6 : SENSIBILITE ET SPECIFICITE DU DBS POUR LE DIAGNOSTIC PRECOCE DU HIV..	84
TABLEAU 7 : SENSIBILITE ET SPECIFICITE DU DBS PAR RAPPORT AU PLASMA	85
TABLEAU 8 : LES TECHNOLOGIES DE POC POUR LA MESURE DE LA CHARGE VIRALE.....	97
TABLEAU 9 : CARACTERISTIQUES DEMOGRAPHIQUES ET IMMUNO-VIROLOGIQUES.....	117
TABLEAU 10 : CARACTERISTIQUES DES PATIENTS PRESENTANT DES MUTATIONS	128

Introduction générale

A l'ère de la perspective d'éradication de la pandémie liée à HIV-1 au niveau mondial, il est important d'évaluer régulièrement la cascade de prise en charge des personnes infectées et les avancées vers l'objectif cible « 90-90-90 », notamment dans les pays en développement. Le but est d'identifier les éventuels obstacles à lever et de mettre à jour les données d'efficacité du traitement en évaluant notamment la résistance primaire et acquise aux antirétroviraux.

Mon projet de Thèse a consisté d'une part à étudier l'efficacité de la prise en charge en 12 mois de traitement antirétroviral chez des personnes nouvellement dépistées à Bamako, la diversité des souches virales présentes chez ces patients ainsi que le taux de résistance primaire aux antirétroviraux. Nous avons également évalué l'intérêt du support de type DBS pour le dosage de la charge virale et la réalisation du test de résistance génotypique aux antirétroviraux. Enfin, nous avons étudié l'efficacité du traitement dans le compartiment salivaire et génital ainsi que la composition du microbiote dans les sécrétions cervicovaginales, avant et après traitement.

Notre manuscrit se compose d'une étude bibliographique séparée en 3 chapitres consacrés (1) à des données épidémiologiques actualisées, (2) à la physiopathogénèse de l'infection et (3) à la prise en charge des patients dans les pays en développement.

Dans une deuxième partie, nous présentons les principaux résultats obtenus au cours de ma thèse qui ont fait l'objet de deux articles publiés et deux autres en cours de rédaction.

Etude Bibliographique

Chapitre I : Données épidémiologiques

1. Situation au niveau mondial

1.1. Personnes vivant avec HIV

Depuis le début de l'épidémie, 77,3 millions [59,9 millions - 100,0 millions] de personnes ont été infectées par HIV dans le monde ¹. Au milieu des années 1990, au moment où l'incidence de l'épidémie a atteint un pic dans la plupart des pays, l'Onusida estimait le nombre de personnes vivant avec le virus HIV (PVVIH) à plus de 20 millions dans le monde. En 2011, le nombre de personnes infectées était estimé à 34 millions, la plupart vivant en Afrique subsaharienne ou en Asie du Sud et du Sud-Est, mais aucune région du monde n'est épargnée². En 2017 on estimait à 36,9 millions le nombre de PVVIH dont 35,1 millions d'adultes (Figure 1). L'Afrique subsaharienne abritait 25,7 millions de PVVIH dont 6,1 millions en Afrique de l'Ouest et centrale¹. La même année le Mali comptait 109 329 personnes infectées âgées de quinze ans et plus dont 71 582 femmes (rapport 2017 de la Cellule Sectorielle de Lutte contre le HIV Sida au Mali (CSLS)). La prévalence globale au niveau mondial de l'infection par HIV en 2016 était estimée à 0,8% (Figure 2). Les prévalences les plus élevées ont été relevées au Swaziland (27,2%), au Lesotho (25%) et au Botswana (21,9%). Celle du Mali était estimée à environ 1% et celle de France à 0,4%.³

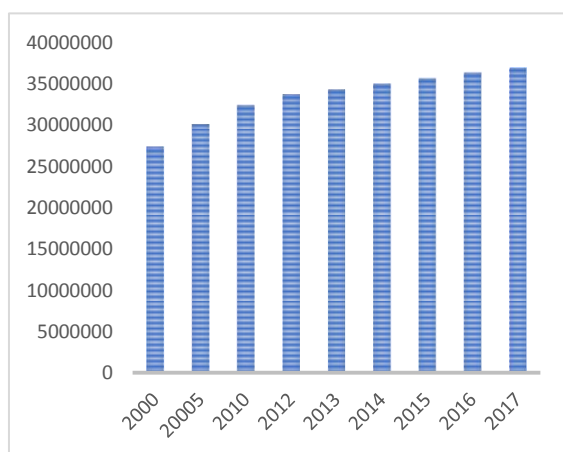


Figure 1. Évolution du nombre de PVVIH dans le monde 2000 à 2017, d'après le rapport de l'ONUSIDA 2017¹.

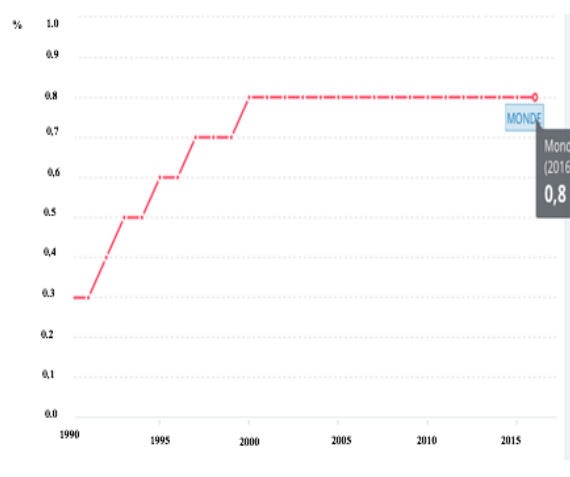


Figure 2. Évolution de la prévalence de HIV dans la population âgée de 15 à 49 ans en 2016, d'après les données de la banque mondiale³.

Le pourcentage des PVVIH s'est stabilisé, mais leur nombre total dans le monde s'accroît du fait de la survenue continuelle de nouvelles infections associée à des temps de survie prolongés, dans une population générale qui s'accroît sans cesse.

1.2. Nouvelles infections

Le nombre de nouvelles infections par HIV a été réduit de 47 % depuis le pic de 1996 et de 16% depuis 2010 ⁴. En Afrique de l'Ouest et en Afrique centrale, elle a chuté de 9% en 2010 ⁴. Bien que la mise à disposition universelle des antirétroviraux (ARV) progresse à grand pas, on enregistrait, en 2017, 1,8 millions de nouvelles infections (Figure 3), contre 3,4 millions en 1996. Au Mali, 9815 personnes ont été infectées par HIV en 2017 dont 832 enfants (rapport annuel de la CSLS).

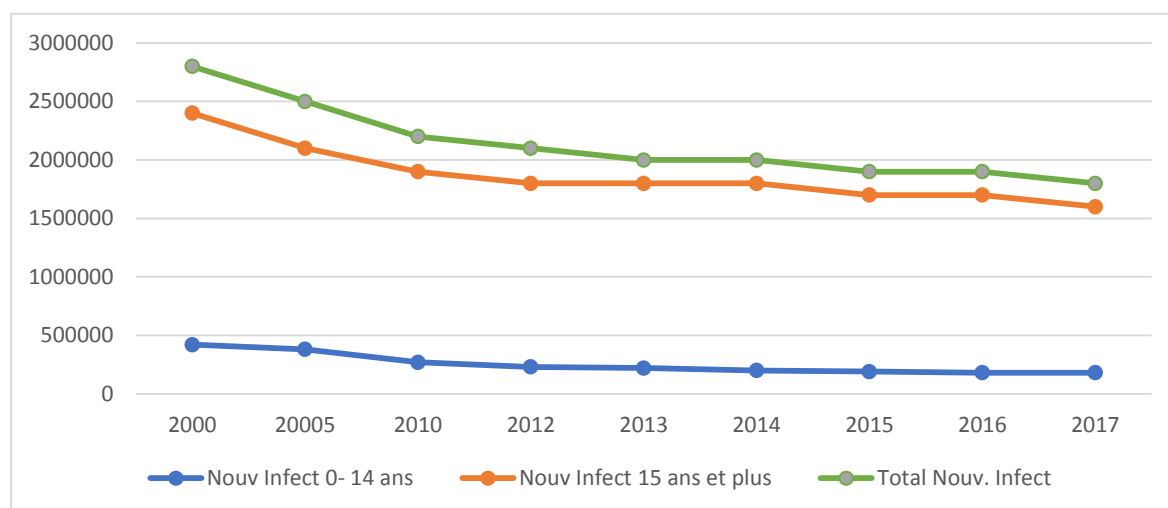


Figure 3. Évolution du nombre de nouvelles infections par HIV dans le monde de 2000 à 2017, d'après le rapport ONUSIDA 2017 ¹.

Les approches conjuguant l'accélération du dépistage, la mise sous traitement antirétroviral, une approche préventive globale qui inclut les préservatifs, la circoncision masculine médicale volontaire, la prophylaxie préexposition (PreP), les efforts visant à protéger les droits de l'Homme, la lutte contre la stigmatisation et la création d'un environnement propice à l'amélioration des prestations des services de santé ont contribué à une baisse mondiale des nouvelles infections causées par HIV.

1.3. Décès liés au sida

On estime à 35,0 millions le nombre de personnes décédées de suite de maladies liées au SIDA depuis le début de l'épidémie en 1981. Le nombre de décès a diminué de 48 % depuis 2005, année du niveau le plus élevé. Les personnes décédées de pathologies liées au virus HIV en 2017 était d'environ 940 000 dans le monde contre 1,9 millions en 2005 et 1,4 millions en 2010 (Figure 4A). En Afrique de l'Ouest et Afrique centrale, entre 2010 et 2016, le nombre de décès a diminué de 21 %. Selon les données de 2017, parmi les 8 régions étudiées (Afrique de l'Est et du Sud, Afrique de l'Ouest et du Centre, Asie et Pacifique, Europe occidentale et centrale et Amérique du Nord, Amérique latine, Europe de l'Est et Asie centrale, Caraïbes et Moyen Orient et Afrique du Nord), l'Afrique de l'Est enregistrait le plus grand nombre avec 380 000 décès ¹ (Figure 4B). La même année le Mali enregistrait 6 864 décès (rapport annuel de la CSLS).

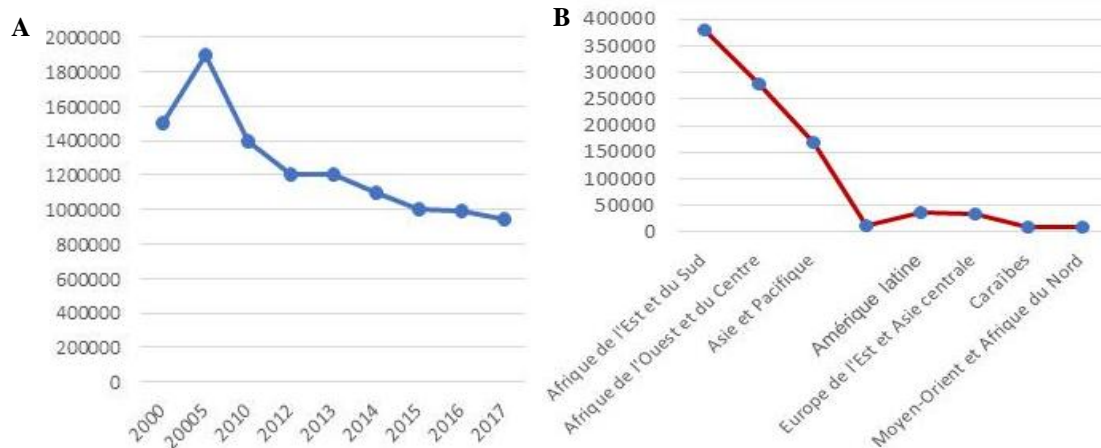


Figure 4. Nombre de décès liés au sida par année au niveau mondial (A) et par région (B), d'après le rapport ONUSIDA 2017 ¹.

1.4. Personnes vivant avec le HIV ayant accès à un traitement antirétroviral

En 2016, environ 53 % de toutes les PVVIH, 54 % des adultes âgés de 15 ans et plus, et 43 % des enfants âgés de 0 à 14 ans avaient accès à un traitement antirétroviral. De plus environ 76 % des femmes enceintes infectées par HIV avaient accès à des médicaments antirétroviraux pour prévenir la transmission du virus à leur bébé. Le nombre de PVVIH ayant accès au traitement est passé de 611 000 en

2000 à 21,7 millions en 2017 dans le monde (Figure 5A), soit 59% d'accès au traitement dans le monde. Les régions les plus avancées dans la couverture en traitement ARV sont : l'Europe occidentale et centrale et l'Amérique du Nord avec 78% ; l'Afrique de l'Est et du sud avec 66% et les Caraïbes avec 57%. L'Afrique de l'Ouest et centrale enregistraient 40% d'accès au traitement (Figure 5B) ¹. Au Mali, on comptabilisait 42 078 patients sous ARV en 2017 (rapport annuel de la CSLS).

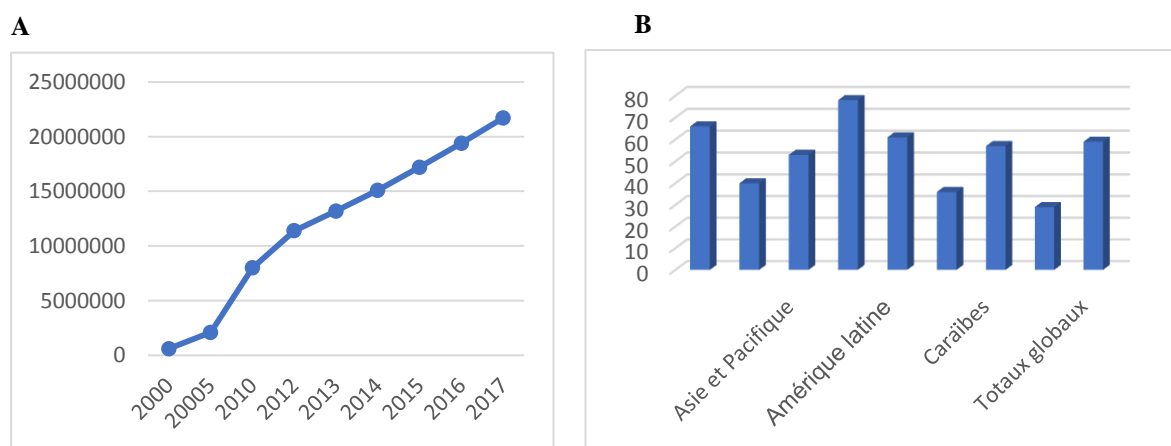


Figure 5. Évolution du nombre de PVVIH ayant accès au traitement ARV au niveau mondial (A) et par région (B), d'après le rapport ONUSIDA 2017 ¹.

Les défis consistent à s'assurer que toutes les PVVIH soient mises sous traitement et renforcer la prévention et l'éducation en les intégrant au cœur des programmes de santé publique.

2. Populations vulnérables

2.1. Justification de la prise en charge des populations vulnérables

Le terme générique utilisé est aussi « populations-clés », pour désigner des groupes de personnes spécifiques présentant une vulnérabilité accrue au virus HIV et dont l'accès aux services est considérablement limité : les hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes (HSH) ; les femmes, en particulier d'âge jeune ; les personnes transgenres ; les personnes consommatrices de drogues injectables ; les professionnel(le)s du sexe ; les personnes incarcérées. Ces populations vulnérables sont très souvent socialement marginalisées, criminalisées et victimes de diverses violations des droits de l'homme ce qui les rend plus exposées au risque d'être contaminées par HIV. Elles affichent également des taux de mortalité et de morbidité

supérieurs à ceux de la population générale. L'accès de ces sous-populations aux services appropriés, ou leur utilisation, est nettement moindre que celui des autres groupes⁵. On estime qu'en 2015, 44% des nouvelles infections se sont produites chez des membres des populations clés et leurs partenaires avec des taux de prévalence de 15 à 25% supérieurs à ceux de la population générale environnante^{6,7}. Au total le risque estimé d'être contaminé par HIV serait multiplié par 27 chez les HSH, par 23 chez les personnes qui s'injectent des drogues, par 13 chez les travailleuses du sexe, par 12 chez les personnes transgenres. Les populations clés et leurs partenaires sexuels représentaient 47% des nouvelles infections à HIV dans le monde en 2017 ; 95% des nouvelles infections en Europe de l'Est, en Asie centrale et au Moyen-Orient et en Afrique du Nord ; et 16% des nouvelles infections à HIV en Afrique orientale et australe¹. En Afrique subsaharienne, les populations clés ont représenté 25% des nouvelles infections par HIV en 2016⁵. Au Togo les nouvelles infections ont concernées environ 2,4% des travailleuses du sexe, 7,9% des clients de professionnelles du sexe et 6,9% des HSH⁸.

La voie hétérosexuelle reste prédominante :

- les femmes constituaient les 2/3 des personnes infectées;
- la contamination des filles a lieu, en moyenne 5 à 7 ans avant les garçons ;
- les adolescentes sont 3 à 7 fois plus infectées que les adolescents.

Les nouveaux cas d'infection par HIV parmi les jeunes femmes en Afrique au sud du Sahara, sont augmentés de 44% par rapport aux jeunes hommes du même âge dans la région (Figure 6). Approximativement 610 000 nouveaux cas d'infection ont touché les populations jeunes (15-24 ans) ; 59% de ces nouveaux cas ont touché les jeunes femmes âgées de 15 à 24 ans. Au Malawi, en Zambie et au Zimbabwe, la moitié des populations jeunes n'ont pas connaissance de leur séropositivité, et plus de la moitié n'ont pas accès au traitement antirétroviral. Seulement 36% des jeunes hommes et 30% des jeunes femmes en Afrique sub-saharienne ont une connaissance de base de la manière de se protéger contre le virus HIV. Les analyses sur l'impact du HIV sur les populations (PHIAS) réalisées au Malawi, en Zambie et au Zimbabwe et soutenues par le plan d'urgence du Président des États-Unis pour la lutte contre le sida (PEPFAR), ont révélé que moins de 50% des populations jeunes porteuses de HIV étaient informées de leur séropositivité, contre 78% d'adultes âgés de 35 à 59 ans⁹.

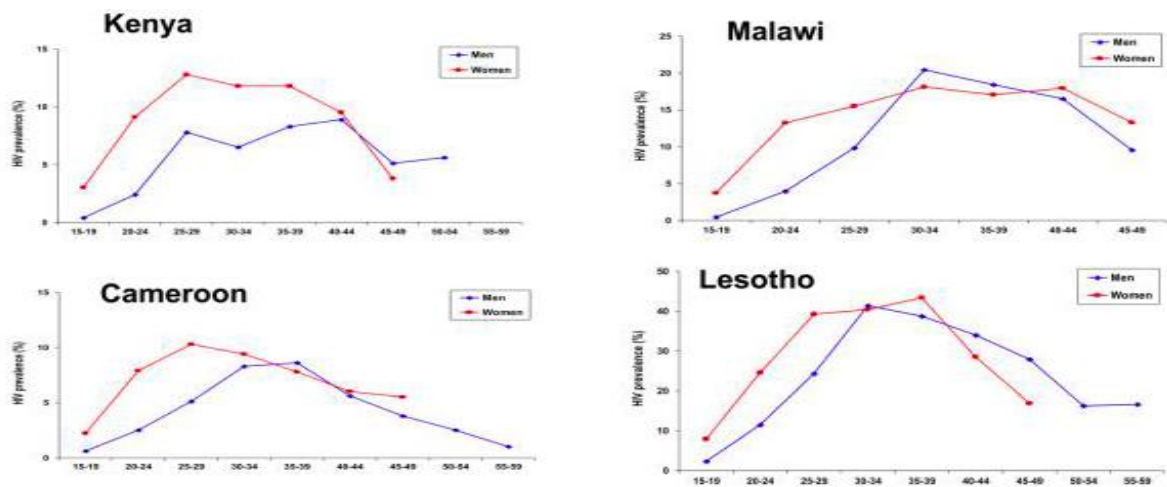


Figure 6. Prévalence comparée entre hommes et femmes par tranche d'âge dans 4 pays d'Afrique sub-saharienne, d'après ¹⁰.

Les populations jeunes (15-24 ans) sont laissées pour compte à de nombreux égards : défaut d'informations et de connaissances sur le risque lié à HIV, défaut de dépistage, faible accès au traitement et à la prévention. La vulnérabilité des jeunes femmes de moins de 25 ans à l'infection par HIV est rapportée dans plusieurs études menées en Afrique du Sud^{10,11}. Les populations de jeunes femmes dans certaines zones de ce pays jeunes sont très exposées à l'infection par le HIV et se contaminent selon le cycle présenté, Figure 7.

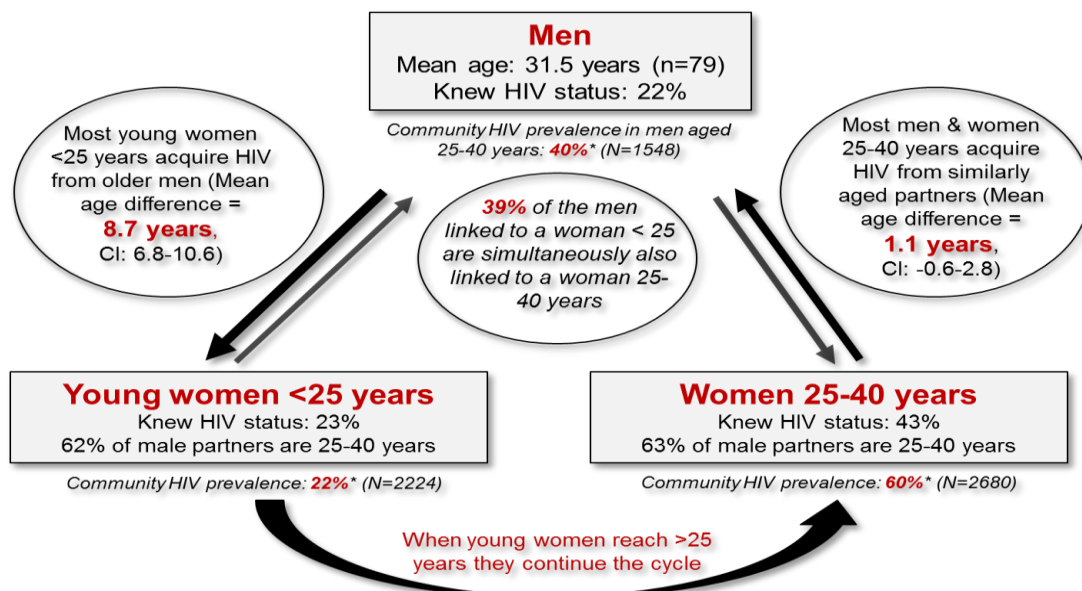


Figure 7. Présentation schématique de la chaîne de transmission de HIV entre des femmes jeunes et des hommes d'âges différents reconstituée à l'aide d'une étude phylogénétique menée dans une communauté du KwaZulu-Natal en Afrique du Sud ¹¹.

Les professionnel(le)s du sexe restent exclues des programmes d'intensification des traitements antirétroviraux au Zimbabwe, en dépit d'initiatives nationales positives auprès de la population adulte. Les professionnel(le)s du sexe ont indiqué que le harcèlement et le rejet social constituaient un obstacle majeur à l'accès au traitement antirétroviral ¹². Une étude menée au Zimbabwe a révélé que les taux de prévalence de HIV était de 60 % chez les professionnel(le)s du sexe, avec parmi eux 9,6 % de personnes nouvellement infectées entre 2009 et 2014 ¹³.

La prévalence de l'infection par HIV chez les HSH, varie en fonction des régions du monde, certaines données commencent à être disponibles en Afrique subsaharienne (Figure 8). Dans plusieurs pays d'Afrique australe où l'homosexualité est punie par la loi, un homme sur cinq ayant des rapports sexuels avec des hommes a indiqué avoir été victime de chantage du fait de sa sexualité, et ces personnes ont plus de réticence à utiliser les services de santé ⁶.

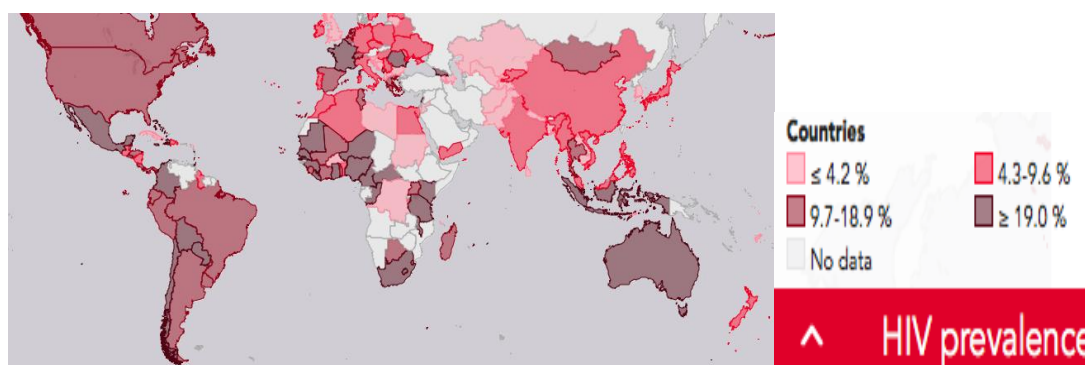


Figure 8. Prévalence de l'infection par HIV dans la population HSH, d'après *Atlas HIV* ¹⁴.

2.2. Autres populations laissées pour compte

La prévalence de HIV dans la population usagère de drogue injectable est montrée Figure 9. Dans la plupart des pays d'Europe de l'Est et d'Asie, les consommateurs de drogues injectables se voient refuser l'accès aux services de santé, et risquent de se faire arrêter et persécuter par la police. Les moyens éprouvés de prévention du HIV tels que les thérapies de substitution, sont illégaux dans de nombreux pays. En Russie, moins d'un pour cent des consommateurs de drogues injectables vivant avec le HIV reçoivent un traitement contre la maladie ^{15,16}.

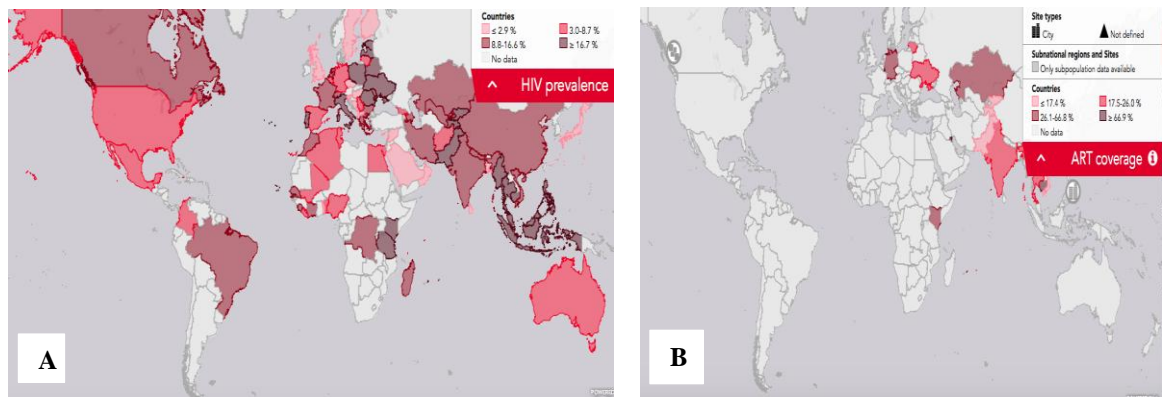


Figure 9. Utilisateurs de drogues injectables : prévalence de l'infection à HIV (A), couverture en ARV (B), d'après ¹⁴.

Les personnes transgenres représentent également une population vulnérable et ont un besoin urgent de services de prévention, de traitement et de soins. Une méta-analyse regroupant les données disponibles au niveau mondial : aux États-Unis, dans six pays d'Asie-Pacifique, cinq d'Amérique latine et trois d'Europe, estimait la prévalence du HIV à 19,1% (11 066 femmes transgenres dans le monde). Le risque d'être infecté par HIV chez les femmes transgenres était environ 49 fois plus important que chez les adultes en âge de procréer dans les 15 pays étudiés, quelque-soit leur revenu⁷.

D'autres recherches disponibles indiquent des taux très élevés : 63% à Rio de Janeiro, 62% à Buenos Aires, 46 % chez les travailleuses du sexe à Lisbonne, 78 % chez les travestis et transgenre en milieu carcéral à Sao Paulo , ou 81 % chez les travailleuses du sexe transgenre à Atlanta¹⁷. En Afrique, il y a très peu de données, mais une prévalence de 15% en 2015 chez les femmes transgenres en République démocratique du Congo a été rapportée (Figure10)¹⁴.

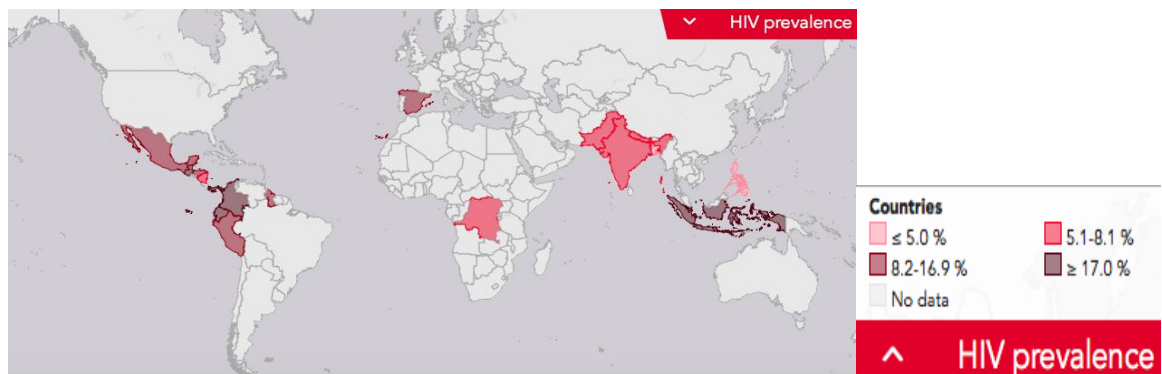


Figure 10. Prévalence de l'infection par HIV dans la population transgenre, d'après ¹⁴.

Il existe donc un besoin urgent de veiller à ce que les populations clés soient pleinement incluses dans les stratégies de riposte à la pandémie. Cela passe par des investissements nationaux et internationaux afin de fournir aux populations clés des accès à la prévention (préservatifs et lubrifiants, prophylaxie préexposition, aiguilles et seringues stériles), au dépistage et au traitement. Toucher les populations-clés et sauver des vies dans les situations d'urgence requiert des stratégies souples.

3. Diversité génétique du HIV

Il est clairement établi de nos jours que de multiples transmissions zoonotiques de lentivirus du singe à l'Homme sont à l'origine de la pandémie à HIV¹⁸. L'exposition de l'Homme au sang ou aux tissus contaminés des primates non- humains infectés, lors de la chasse ou de la préparation de la viande de brousse, ou même lors de blessures infligées par des singes domestiqués, expliquerait le franchissement de la barrière inter-espèces du singe à l'Homme¹⁹.

En se basant sur la similarité génétique, le virus peut se diviser en types, groupes, sous types ou clades. En outre il existe deux types de HIV, le HIV-1 et le HIV-2 qui sont transmis par contact sexuel, par le sang et de la mère enfant²⁰.

Le processus d'évolution existe chez toutes les espèces vivantes mais la variabilité génétique de HIV est liée à plusieurs facteurs et a pour conséquence la présence simultanée chez un même patient de variants viraux, appelés aussi quasi-espèces. Si chez un sujet récemment infecté, les virus circulants sont génétiquement très homogènes, la population virale va évoluer avec un taux global de changement estimé à 1% par an pour le gène *env* et 0,5% par an pour le gène *gag*. Un mélange complexe de variants va apparaître progressivement et évoluer de façon différente et indépendante au niveau des différents tissus et cellules²¹.

3.1. Facteurs de variabilité génétique virale

Cette grande variabilité a pour origine plusieurs facteurs^{22,23} :

- l'introduction au hasard de mutations et l'absence de correction de la transcriptase inverse (TI) virale lorsqu'elle effectue la synthèse d'ADN sur la matrice d'ARN ;

- la réplication permanente du virus à un niveau élevé dans l'organisme infecté, favorisant l'apparition de mutants ;
- la recombinaison entre souches différentes dans une même cellule infectée. Ce phénomène est lié à la faculté qu'a la TI de sauter d'un brin à l'autre lors de son activité de synthèse ;
- les épisodes de surinfection.

3.1.1. Des mutations aléatoires fréquentes

Le taux de mutations aléatoires est au moins 1000 fois plus important au niveau du génome de HIV qu'au niveau du génome humain. En effet, la TI virale est une enzyme qui ne possède pas d'activité de correction de type exonucléase de 3' vers 5'. La rétro-transcription de l'ARN génomique est initiée dans le «core» viral dans les étapes précoces du cycle viral. De plus, l'ARN polymérase II cellulaire contribue également à l'apparition de mutations aléatoires au moment de la transcription du génome viral ²⁴. Les erreurs introduites au cours de la rétro transcription sont donc fréquentes et sont estimées à une erreur tous les 10 000 nucléotides copiés. Le génome étant composé d'environ 10 000 nucléotides, il sera donc introduit environ une mutation à chaque cycle de réplication. Ces mutations peuvent affecter tous les gènes y compris celui de la polymérase virale sur des codons impliqués dans la résistance aux ARV. Au sein de l'organisme d'une personne infectée et non traitée, on estime que 10 milliards de virions sont renouvelés chaque jour.

3.1.2. Les recombinaisons génétiques

Le phénomène de recombinaison a été mis en évidence en 1989 ²⁵, lorsqu'une cellule est infectée par deux virions génétiquement différents (Figure 11A et B), les séquences peuvent donner naissance à des formes recombinantes grâce à la capacité de la TI de «sauter» d'une molécule d'ARN à l'autre lors de la rétro-transcription, créant ainsi un ADN recombinant (Figure 11C et D) ²⁶. Celles identifiées chez au moins trois individus sans lien épidémiologique entre eux sont appelées formes circulantes recombinantes (CRF) ²⁷. Des recombinaisons impliquant des CRF sont appelées CRF de deuxième génération. Les virus recombinants identifiés chez moins de trois personnes sont appelés formes recombinantes uniques (URF). Le nombre et la complexité des souches recombinantes ne cessent

d'augmenter, avec des recombinaisons entre CRF et/ou URF (voir Tableau 1). Ces recombinaisons sont le résultat de co-infections ou de surinfections par différentes souches de HIV-1. Selon les études, des taux de co-infections variant de 0 à 20 % ont été rapportés ²⁸. Des co- et/ou surinfections ont été documentées avec des souches du même sous-type, sous-type et CRF différents mais aussi avec les différents groupes de HIV-1 (M et O) ²⁸⁻³⁰. Le nombre croissant des formes recombinantes du HIV-1 montre que les co-infections et les surinfections jouent un rôle majeur dans la génération de nouvelles souches recombinantes et donc dans l'évolution de la diversité virale mondiale.

3.1.3. Autres

En plus de ces facteurs, d'autres mécanismes de variabilité génétique faisant intervenir certaines protéines accessoires du HIV (Vif et Vpr) sont également décrits.

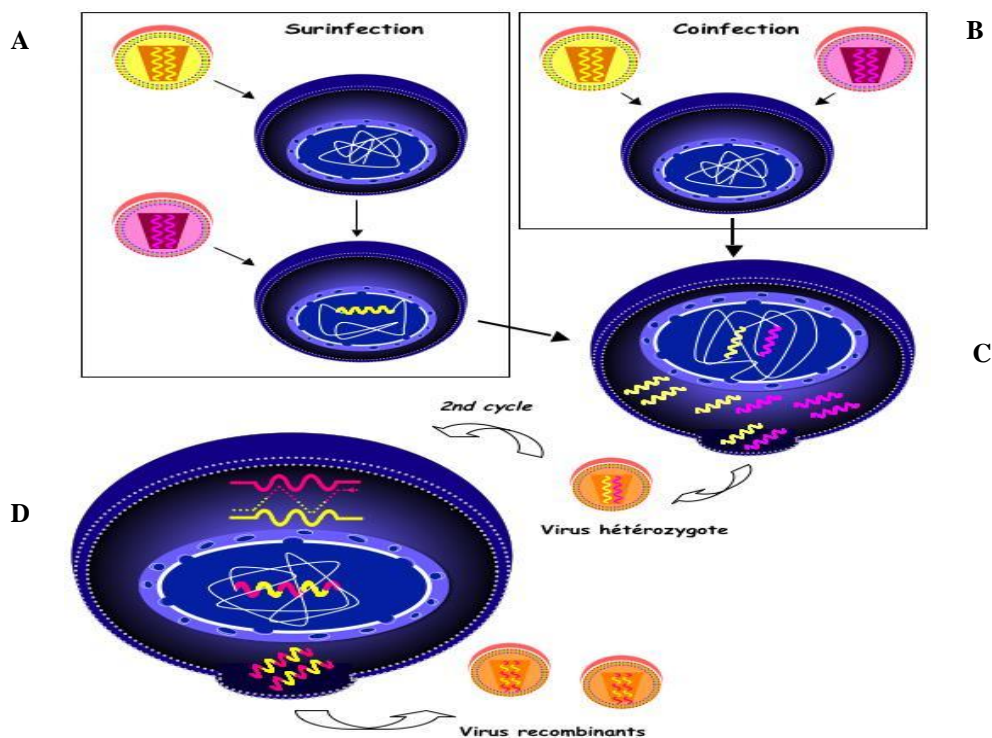


Figure 11. La recombinaison génétique du HIV-1 expliquant une partie de la diversité génétique du HIV. Pendant le 1^e cycle, deux virus de sous-type différent, représentés en jaune et rose, infectent successivement (surinfection) (A) ou simultanément une cellule (co-infection) (B). Le cycle aboutit à la production de virions hétérozygotes (C). Lors du 2nd cycle (D), ce virion infecte une nouvelle cellule dans laquelle a lieu la recombinaison pendant la transcription inverse. Il en résulte un ADN proviral chimérique, aboutissant ainsi à la production de virus recombinants, d'après la Thèse de A Derache, UPMC 2008.

3.2. Classification actuelle

Si un grand nombre de mutations entraîne la production de virions défectifs, certaines d'entre elles confèrent un grand pouvoir d'adaptation permettant au virus d'échapper au système immunitaire de son hôte. La diversité peut influencer la transmissibilité virale et la pathogénicité. Elle est le principal obstacle à la conception et au développement efficaces des vaccins, car la réponse immunitaire humaine au HIV est spécifique à la souche et doit être prise en compte dans le développement des tests de dépistage et de suivi ainsi que la mise au point de molécules antirétrovirales³¹⁻³³. L'analyse phylogénétique du gène *env* a révélé l'existence de multiples clusters phylogénétiques qui ont été utilisés pour la classification de HIV à partir de 1992 en se basant sur les similarités de séquences virales (Figure 12A)³⁴. Au fur et à mesure que la base de données a augmenté au fil des ans, les séquences *gag* et *pol* ont été incorporées dans la procédure de classification, identifiant les types de HIV, groupes, sous-types, sous-sous-types et formes recombinantes circulantes³⁵, tel que résumé dans la Figure 12A. Le virus HIV sur le plan phylogénétique peut être classé en deux types : 1 (HIV-1) et 2 (HIV-2)³⁶. Les deux types viraux peuvent être responsables du SIDA. HIV-1 est le principal responsable des infections dans le monde. Le virus HIV-2 est confiné à l'Afrique de l'Ouest. HIV-1 et HIV-2 sont des virus étroitement apparentés avec une homologie de séquence nucléotidique de 58%, 59% et 39% respectivement dans les gènes *gag*, *pol* et *env*³⁷. Malgré des modes de transmission similaires, HIV-2 n'est pas aussi efficacement transmis^{36,38}. Comparé à HIV-1, HIV-2 à un temps prolongé de développement de la maladie comparativement à HIV-1³⁹. Une recombinaison génétique entre les types 1 et 2 a également été rapportée⁴⁰. La distinction entre les types de HIV est essentielle pour une surveillance précise, un diagnostic ainsi qu'une administration de thérapies antirétrovirales appropriées.

Concernant HIV-1, on distingue, selon les données de séquences obtenues sur des génomes complets ou sur les gènes structuraux, 4 groupes : M (majeur), O (*outlier*), N (non M, non O ou *new*) et P. Le groupe M (Figure 12B), qui est associé à la pandémie, contient neuf sous-types A à K eux-mêmes parfois divisés en sous-sous-types et plusieurs CRF. Ces derniers portent un numéro attribué dans l'ordre chronologique dans lequel ils ont été découverts⁴¹. En plus du numéro, une extension indique les sous-types impliqués (ex : CRF02_AG) quand il s'agit d'une

recombinaison entre deux sous-types. Le terme « cpx » (pour complexe) est utilisé quand trois ou plusieurs sous-types ou même CRF sont présents dans le génome mosaïque.

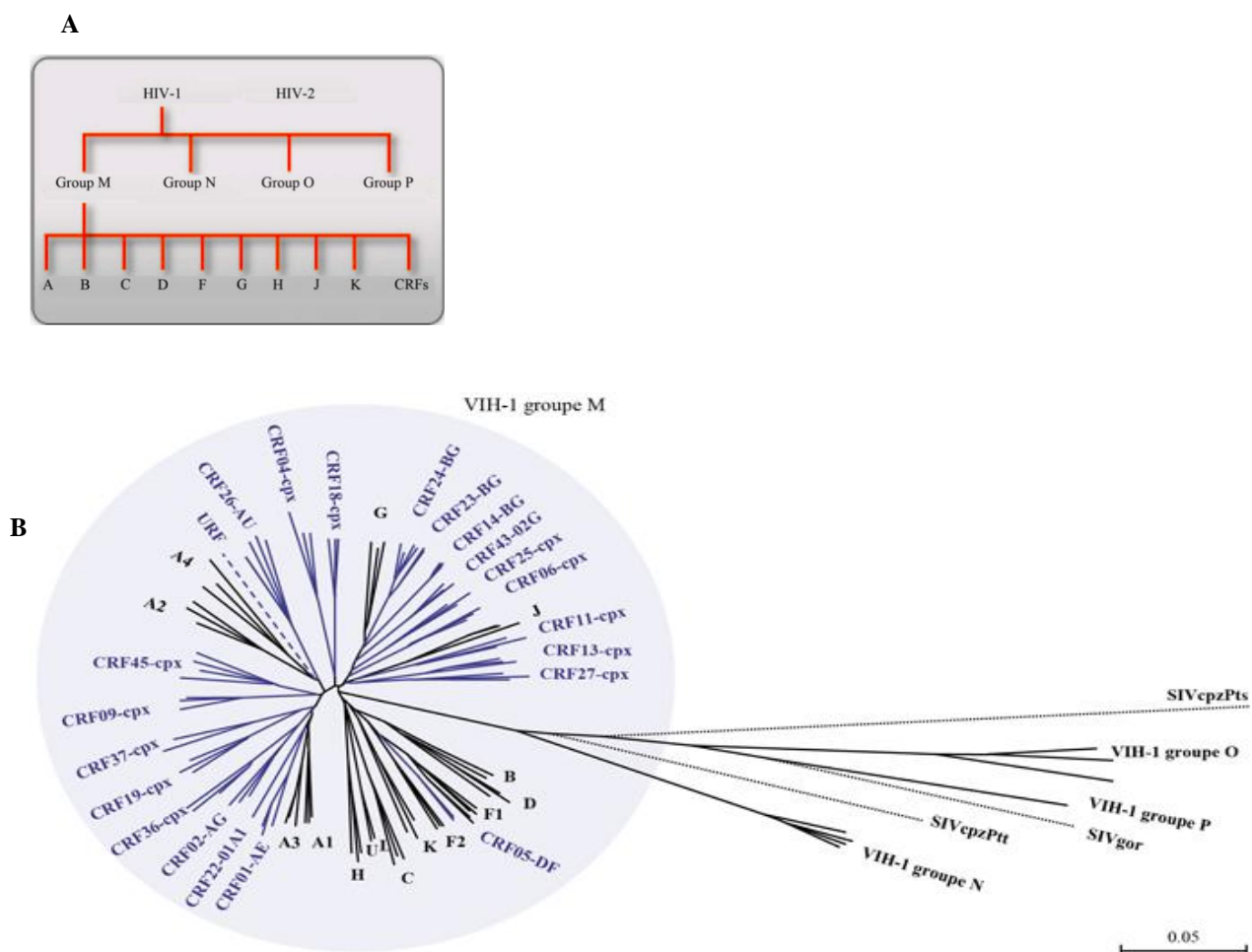


Figure 12. Classification du virus HIV (A) et diversité génétique du groupe M de HIV-1 (B), d'après ⁴².

Le CRF01_AE est le produit de la recombinaison entre une souche A et une souche ancestrale E (les séquences E n'étant plus retrouvées que dans le CRF) ; certains CRF, comme CRF18_cpx et CRF27_cpx, impliquent la recombinaison de plus de 5 sous-types différents. La liste exhaustive actualisée des souches CRF est présentée dans le Tableau 1.

La variation génétique entre souches d'un même sous-type est en général inférieure à 17 % alors que la variation génétique entre différents sous-types est comprise entre 17 et 35 % ⁴³. La classification du HIV-1 est en constante évolution, elle change

au fur et à mesure des découvertes de nouveaux sous-types viraux ou CRF. La diversité génétique intra-sous-type augmente aussi avec le temps ⁴⁴.

3.3. Répartition géographique

La répartition géographique des souches est différente d'un continent à l'autre (Figure 13) ⁴⁵. Le sous-type B est prédominant en Amérique du Nord, Europe de l'Ouest, Australie et Nouvelle- Zélande. Le CRF01_AE domine en Asie du Sud-Est, alors que le sous-type C est largement prédominant en Inde.

Les sous-types B et C ainsi que des recombinants B/C sont observés en Chine ; le sous-type B et des recombinants B/F dominent le tableau en Amérique du Sud, avec la présence d'un foyer de sous-type C au Brésil. Tous les sous-types et CRF sont présents en Afrique centrale, le sous-type C en Afrique du Sud et en Afrique de l'Est, alors que le CRF02_AG est prédominant en Afrique de l'Ouest, particulièrement au Mali où la diversité du HIV est constatée aussi. Au Mali, la prévalence du CRF02_AG varie entre 56.5% et 72% selon les études ⁴⁶⁻⁴⁹.

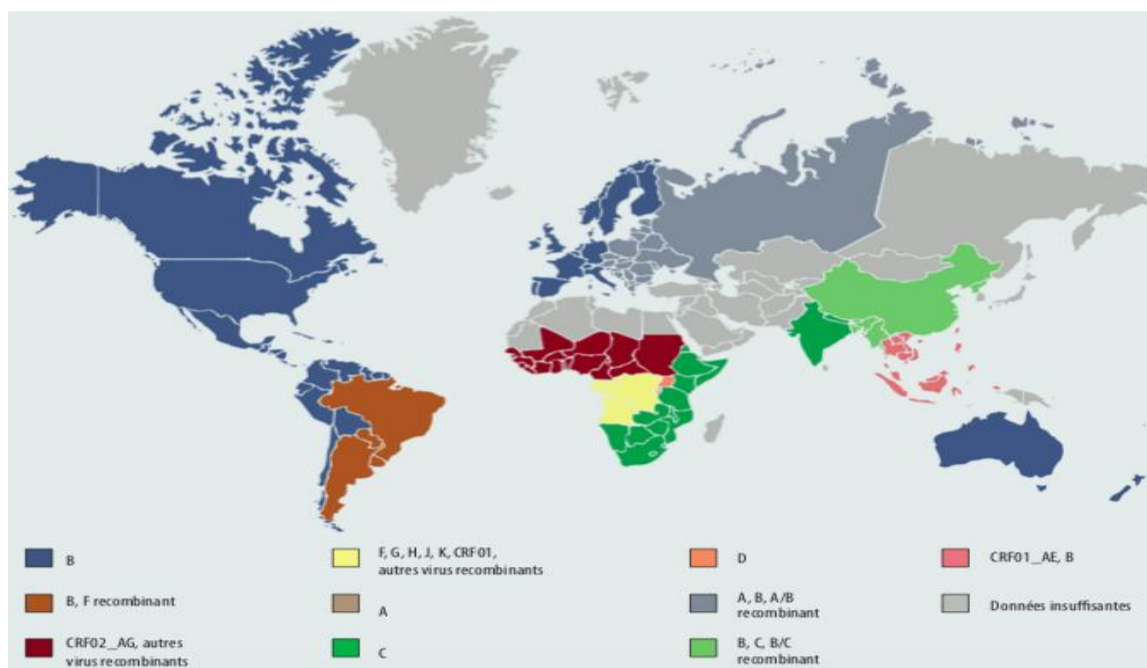


Figure 13. Répartition dans le monde des principaux sous types et CRF du HIV-1, d'après ⁵⁰.

Les autres sous-types retrouvés au Mali sont les B, C, G, CRF06_CPX, CRF09_CPX, CRF01_AE, A2 / CRF16_A2D, A1 et CRF13_CPX, K, J, AK, CRF19_cpx, F-2 et des URF. Leurs fréquences respectives varient selon les études ^{46-49,51,52}.

Tableau 1 : formes recombinantes circulantes de HIV-1(CRFs), d'après

<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html> (consulté 23 aout

2018) ⁵³.

Nom	Souche de référence	Sous-types
<u>CRF01_AE</u>	CM240	A, E
<u>CRF02_AG</u>	lbNG	A, G
<u>CRF03_AB</u>	Kal153	A, B
<u>CRF04_cpx</u>	94CY032	A, G, H, K, U
<u>CRF05_DF</u>	VI1310	D, F
<u>CRF06_cpx</u>	BFP90	A, G, J, K
<u>CRF07_BC</u>	97CN54	B', C
<u>CRF08_BC</u>	97CNGX-6F	B', C
<u>CRF09_cpx</u>	96GH2911	A, G, U
<u>CRF10_CD</u>	TZBF061	C, D
<u>CRF11_cpx</u>	GR17	A, E, G, J, U
<u>CRF12_BF</u>	ARMA159	B, F1
<u>CRF13_cpx</u>	96CM-1849	CRF01, A, G, J, U
<u>CRF14_BG</u>	X397	B, G
<u>CRF15_01B</u>	99TH.MU2079	CRF01, B
<u>CRF16_A2D</u>	97KR004	A2, D
<u>CRF17_BF</u>	ARMA038	B, F1
<u>CRF18_cpx</u>	CU76	A1, F, G, H, K, U
<u>CRF19_cpx</u>	CU7	A1, D, G
<u>CRF20_BG</u>	Cu103	B, G
<u>CRF21_A2D</u>	99KE_KER2003	A2, D
<u>CRF22_01A1</u>	02CMLT72	CRF01, A1
<u>CRF23_BG</u>	CB118	B, G
<u>CRF24_BG</u>	CB378	B, G
<u>CRF25_cpx</u>	02CM_1918LE	A, G, U
<u>CRF26_A5U</u>	02CD_MBTB047	A, U
<u>CRF27_cpx</u>	04FR-KZS	A, E, G, H, J, K, U
<u>CRF28_BF</u>	BREPM12609	B, F1
<u>CRF29_BF</u>	BREPM16704	B, F1
<u>CRF30_0206</u>	00NE36	CRF02, CRF06
<u>CRF31_BC</u>	04BR142	B, C
<u>CRF32_06A6</u>	EE0369	CRF06, A6
<u>CRF33_01B</u>	05MYKL007	CRF01, B
<u>CRF34_01B</u>	OUR2275P	CRF01, B
<u>CRF35_AD</u>	AF095	A, D
<u>CRF36_cpx</u>	NYU830	CRF01, CRF02, A, G CRF01, CRF02, A, G, U
<u>CRF37_cpx</u>	NYU926	G, U
<u>CRF38_BF</u>	UY03_3389	B, F1
<u>CRF39_BF</u>	03BRRJ103	B, F1
<u>CRF40_BF</u>	05BRRJ055	B, F1
<u>CRF41_CD</u>	CO6650V1	C, D
<u>CRF42_BF</u>	luBF_13_05	B, F1
<u>CRF43_02G</u>	J11223	CRF02, G
<u>CRF44_BF</u>	CH80	B, F1
<u>CRF45_cpx</u>	04FR.AKU	A, K, U
<u>CRF46_BF</u>	01BR087	B, F1
<u>CRF47_BF</u>	P1942	B, F1
<u>CRF48_01B</u>	07MYKT014	CRF01, B

Nom	Souche de référence	Sous-types
<u>CRF49_cpx</u>	N28353	A1, C, J, K, U
<u>CRF50_A1D</u>	8179	A1, D
<u>CRF51_01B</u>	HM021	CRF01, B
<u>CRF52_01B</u>	M043	CRF01, B
<u>CRF53_01B</u>	11FIR164	CRF01, B
<u>CRF54_01B</u>	09MYSB023	CRF01, B
<u>CRF55_01B</u>	HNCS102056	CRF01, B
<u>CRF56_cpx</u>	URF5	CRF02, B, G
<u>CRF57_BC</u>	1439	B, C
<u>CRF58_01B</u>	09MYPR37	CRF01, B
<u>CRF59_01B</u>	09LNA423	CRF01, B
<u>CRF60_BC</u>	BAV499	B, C
<u>CRF61_BC</u>	JL100010	B, C
<u>CRF62_BC</u>	YNFL13	B, C
<u>CRF63_02A</u>	10RU6637	CRF02, A6
<u>CRF64_BC</u>	YNFL31	B, C
<u>CRF65_cpx</u>	YNFL05	CRF01, B, C
<u>CRF66</u>		
<u>CRF67_01B</u>	MAS59	CRF01, B
<u>CRF68_01B</u>	XC46 10JP-	CRF01, B
<u>CRF69_01B</u>	5091N200	CRF01, B
<u>CRF70_BF</u>	PE004	B, F1
<u>CRF71_BF</u>	PE008	B, F1
<u>CRF72_BF</u>	MG002	B, F1
<u>CRF73_BG</u>	9196_01	B, G
<u>CRF74_01B</u>	10MYPR268	CRF01, B
<u>CRF75</u>		
<u>CRF76_01B</u>	N628	CRF01, B
<u>CRF77_cpx</u>	14MYNBB090	CRF01, B, C
<u>CRF78_cpx</u>	YNTC19	CRF01, B, C
<u>CRF79_0107</u>	SX15DT013	CRF01, CRF07
<u>CRF80</u>		
<u>CRF81</u>		
<u>CRF82_cpx</u>	mSSDU12	CRF01, B, C
<u>CRF83_cpx</u>	mSSDU94	CRF01, B, C
<u>CRF84</u>		
<u>CRF85_BC</u>	SCYB2	B, C
<u>CRF86_BC</u>	15YNHS18	B, C
<u>CRF87_cpx</u>	DH32	CRF01, B, C
<u>CRF88_BC</u>	05YNRL25	B, C
<u>CRF89</u>		
<u>CRF90_BF1</u>	BRGO6043	B, F1
<u>CRF91</u>		
<u>CRF92_C2U</u>	DRC699	C, U A1, A5, C, CRF02, U
<u>CRF93_cpx</u>	DRC817	CRF02, U
<u>CRF94_cpx</u>	32FR0916	CRF02, B, F2
<u>CRF95</u>		
<u>CRF96_cpx</u>	JL.RF01	CRF01, B, C

Chapitre II : Immunopathogenèse de l'infection à HIV

Un certain nombre de facteurs contribuent au risque d'acquisition de l'infection par voie muqueuse et à l'apparition de la maladie après exposition à un agent pathogène. Il s'agit notamment de la nature de l'exposition (par exemple : la voie de pénétration, la taille de l'inoculum microbien), de la virulence du pathogène, de la sensibilité de l'hôte à l'infection, de l'environnement inflammatoire et microbien. Le virus HIV infecte des cellules qui expriment le récepteur CD4 à leur surface et les corécepteurs CXCR4 et CCR5 (récepteurs des chimiokines), comme les lymphocytes T CD4+ activés, les monocytes, les macrophages, les thymocytes, et les cellules dendritiques ce qui conduit à terme à un déficit immunitaire profond qui, en l'absence de traitement, s'accroît avec le temps⁵⁴. Cette immunodépression est liée au fait que le virus infecte et entraîne une mort cellulaire, orchestrant la réponse immunitaire adaptative. Toutefois le rythme auquel évolue la maladie est variable d'une personne à l'autre et il existe des cas où la maladie progresse plus lentement voire pas du tout (patients dits progressseurs lents ou non-progressseurs)⁵⁵.

Au cours d'une infection par voie muqueuse différentes étapes peuvent être observées : la pénétration du virus à travers la barrière épithéliale ; l'expansion des quasi-espèces transmises au niveau sous-muqueux ; la dissémination dans les ganglions puis la propagation du virus par voie systémique dans les différents compartiments cibles de l'organisme (Figure 14). Les mécanismes par lesquels le HIV peut traverser sous forme libre l'épithélium comprennent les brèches, phénomène de transcytose et les interactions avec les cellules de Langerhans. Dans l'espace sous-muqueux, le HIV peut infecter les cellules T locales ou les macrophages qui expriment le CD4 et le CXCR4 ou le CCR5. L'entrée du virus peut être bloquée par des agents qui empêchent la liaison de la protéine Env virale au CD4 ou au corécepteur viral. Cependant, le HIV peut encore être capable d'établir une infection en se liant aux récepteurs CD4, DC-SIGN ou à d'autres molécules de fixation à la surface des cellules dendritiques⁵⁶.

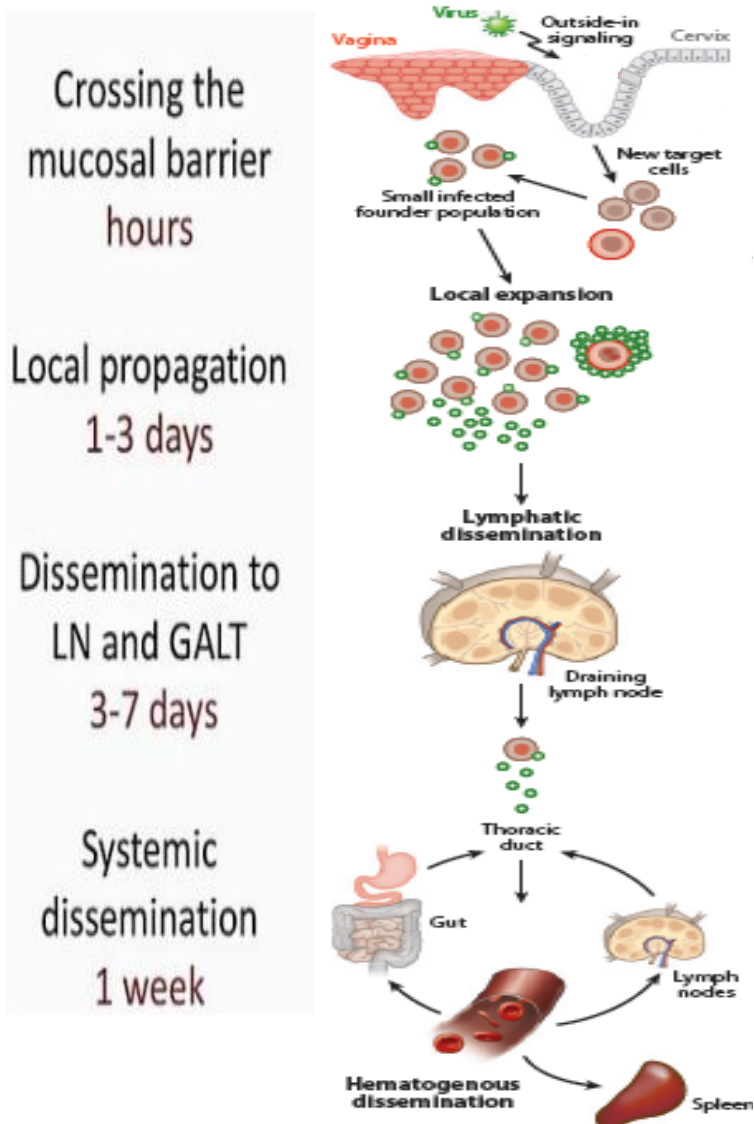


Figure 14. Principales étapes de l'infection par HIV par voie muqueuse, d'après ⁵⁷.

Le virus traverse la barrière épithéliale (Figure 14) de la muqueuse pour établir une petite population résidente qui se développe ensuite localement en utilisant l'afflux de nouvelles cellules cibles recrutées par la signalisation externe. L'expansion locale se propage par drainage lymphatique aux ganglions lymphatiques génitaux où l'expansion produit rapidement plus de virus, qui se propagent par le canal thoracique puis par voie hématogène vers les tissus lymphatiques. La production de virus dans les tissus lymphatiques avec augmentation des titres de virus en circulation, définit la phase systémique de l'infection. Les macrophages peuvent prévenir ou contrôler partiellement l'infection sur chaque site, de même que les lymphocytes T cytotoxiques. Ces mécanismes sont positionnés aux portes d'entrée où ils sont le plus susceptibles d'être efficaces ⁵⁷.

Comme nous l'avons décrit plus haut, la diversité génétique de HIV et la réplication sélective de variants dans certain(e)s cellules et tissus aboutissent à la constitution de compartiments ou réservoirs viraux dans l'organisme. Ces derniers jouent un rôle majeur dans l'évolution de la maladie, en absence ou en présence d'un traitement antirétroviral.

1. Entrée du virus au niveau muqueux

Les mécanismes développés par les virus enveloppés pour pénétrer dans leurs cellules cibles diffèrent sensiblement d'un virus à un autre, mais peuvent généralement être divisés en trois étapes distinctes :

- une étape d'adsorption sur les cellules cibles durant laquelle les glycoprotéines d'enveloppe virales établissent un contact avec des récepteurs cellulaires ;
- un événement moléculaire permettant l'activation des propriétés fusogènes de la glycoprotéine virale ;
- une réaction de fusion membranaire.

L'adsorption des virus enveloppés à la surface cellulaire est médiée par des interactions établies entre les glycoprotéines d'enveloppe virales et deux grands types de molécules de surface : les facteurs d'attachement et les récepteurs d'entrée⁵⁸. Plusieurs études ont démontré que HIV-1 utilise l'endocytose pour entrer dans certains types cellulaires, par exemple les lymphocytes T CD4, les monocytes, les macrophages⁵⁹ ou encore les cellules dendritiques⁶⁰. Les premières cibles du HIV lors de la transmission hétérosexuelle de l'homme vers la femme sont les cellules immunitaires présentes dans la muqueuse et la sous muqueuse génitale féminine. Lorsque le virus est en présence de ces cellules, après avoir franchi les muqueuses, l'infection devient possible. Il existe donc des mécanismes permettant au virus de franchir cette barrière, de nombreuses études montrent que les virions peuvent traverser ces muqueuses *via* différentes voies d'importances inégales (Figure 15)⁶¹. Le HIV utilise des mécanismes d'entrée dans les cellules comme l'internalisation des virions, suivie de la fusion des membranes virales et endosomales de manière indépendante du pH, ce qui pourrait être une voie d'entrée majeure du virus dans les macrophages⁵⁹. Il est capable d'entrer dans sa cellule cible par l'intermédiaire de contact cellules à cellules en utilisant des structures particulières appelées

«synapses virologiques» (Figure 16). Ce mode d'entrée, est généralement beaucoup plus efficace que l'infection directe des cellules cibles^{62,63}.

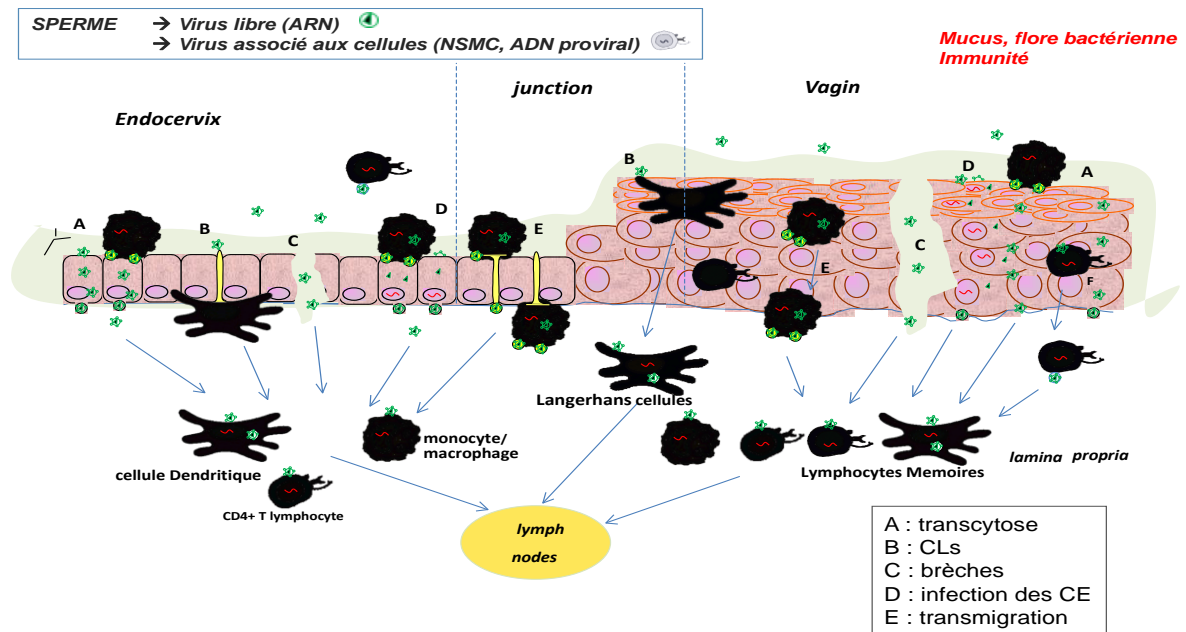


Figure 15. Hypothèses actuelles d'entrée du virus à travers la muqueuse génitale lors d'une contamination par voie hétérosexuelle homme→femme, d'après la Thèse de P. Lawrence, UJM, 2012.

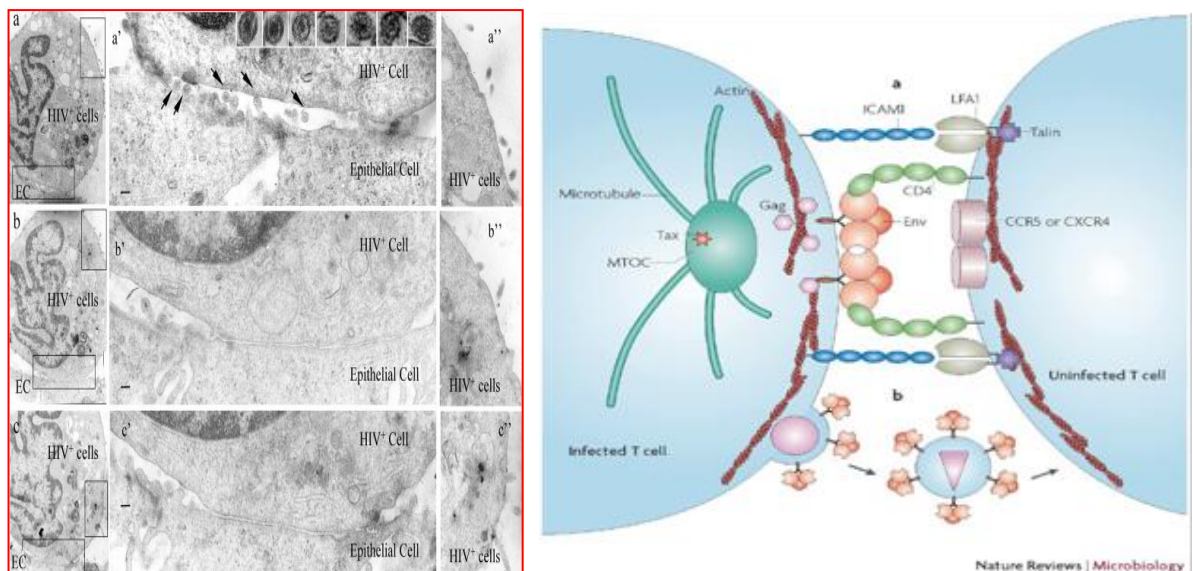


Figure 16. La synapse virologique entre lymphocyte T et cellules épithéliale et entre 2 lymphocytes, d'après⁶⁷.

2. Établissement des réservoirs

Un réservoir viral peut être défini comme un type cellulaire ou un site anatomique dans lequel persistent, de façon prolongée, des virus compétents pour la réplication⁶⁸. Le concept de réservoir a pris toute son importance peu de temps après l'introduction de la multi thérapie active en 1996, quand plusieurs auteurs ont démontré la persistance du virus intégré de manière latente dans des cellules T CD4⁺ (Figure 17), chez des patients traités par au moins trois molécules antirétrovirales désigné par le terme HAART (*highly active antiretroviral therapy*), ruinant alors les espoirs fondés sur l'éradication totale du virus⁶⁹⁻⁷¹.

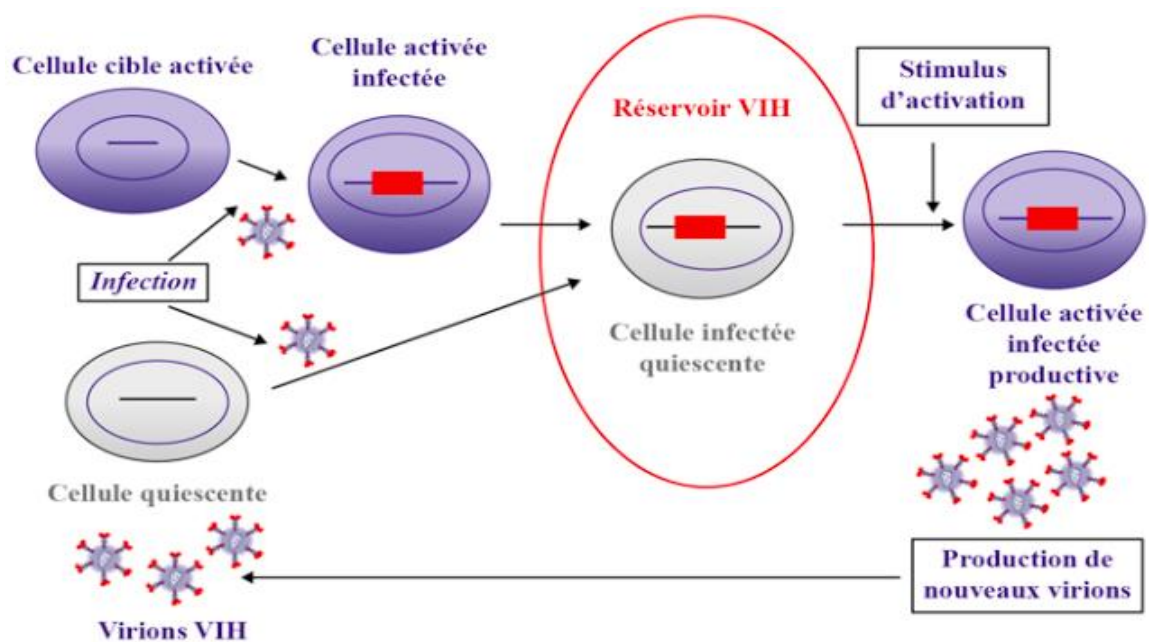


Figure 17. Constitution du réservoir de HIV au niveau cellulaire, d'après⁷².

2.1. Réservoirs cellulaires

Il a été démontré que plusieurs types cellulaires pouvaient servir de réservoir du virus HIV-1 : les lymphocytes T CD4⁺⁷³, les cellules de la lignée monocyte-macrophage⁷⁴ et les cellules dendritiques⁷⁵.

2.1.1. Lymphocytes T CD4+

Il existe une relation entre l'état d'activation du lymphocyte T CD4⁺ infecté et sa capacité à produire du virus. En cas d'infection par HIV, l'expansion clonale des

cellules naïves induite par la rencontre avec un antigène permet, en fonction des cytokines produites par le système immunitaire inné, d'engager la différenciation fonctionnelle dans les organes lymphoïdes secondaires. Selon leur état de différenciation, on distingue les sous-populations lymphocytaires suivantes : les naïves (TN), les mémoires centrales (TCM), les mémoires transitionnelles (TMT), les mémoires effectrices (TEM) et les effectrices. Après la phase de contraction clonale, une partie de ces cellules retourneront à un statut mémoire TCM ou TEM ⁷⁶. Ces différentes sous-populations lymphocytaires ont une durée de vie, des capacités d'activation et de prolifération différentes avec une expression croissante du CCR5 (Figure 18).

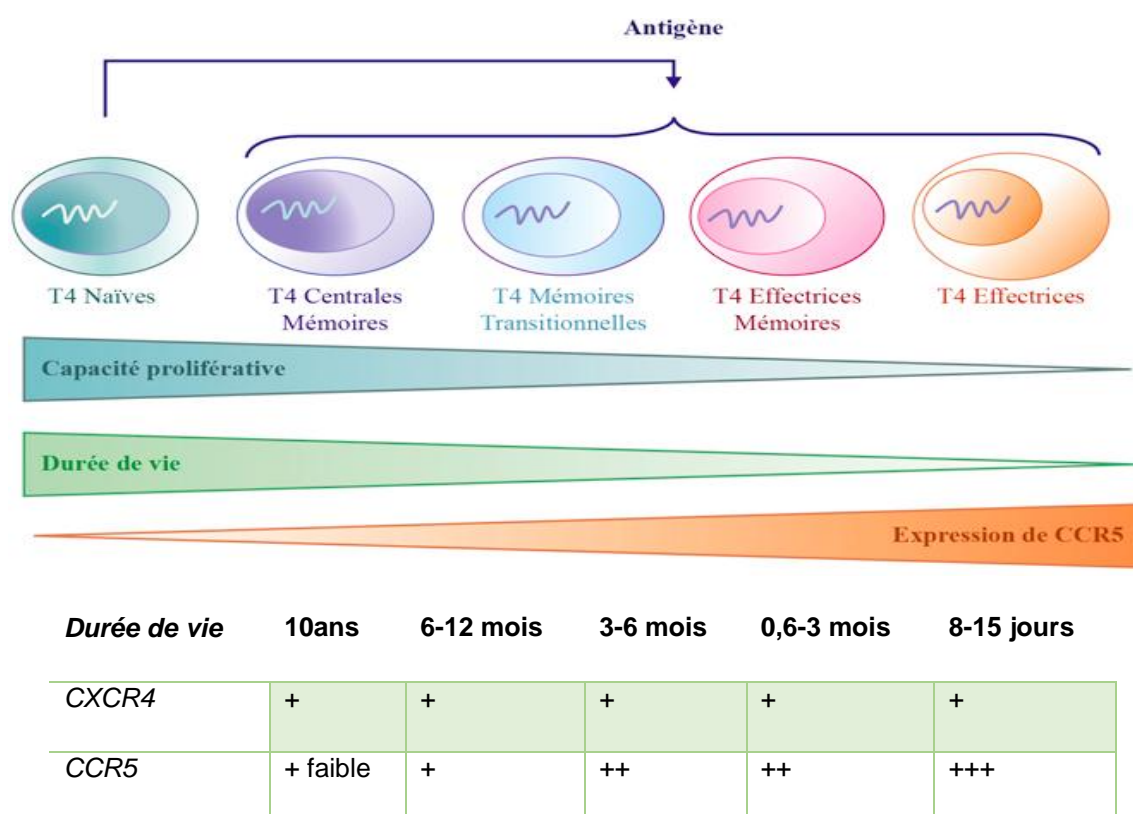


Figure 18. Capacité proliférative et durée de vie variable des lymphocytes T CD4+, principales cellules réservoirs de HIV, en fonction de leur état de différenciation, d'après ⁷².

La charge virale résiduelle chez des patients traités, est due en partie à la production de virus à partir de réservoirs cellulaires autres que les lymphocytes T CD4+ quiescents ⁷⁷. L'existence d'autres réservoirs cellulaires autre que le stock majoritairement établi dans les lymphocytes T CD4+ quiescents ⁷⁸, trouve son

explication dans la mise en évidence de virus plasmatiques après arrêt du traitement. Ces virus étaient différents des virus clonés à partir des virus présents dans les sous-populations lymphocytaires T CD4⁺ ⁷⁹.

2.1.2. Monocytes/macrophages

Les monocytes, représentent 5 à 10 % des cellules mononuclées circulantes. Après avoir circulé pendant quelques jours, les monocytes migrent dans les différents tissus et se différencient en macrophages tissulaires matures ⁸⁰. Bien que les monocytes non différenciés se montrent résistants à l'infection par HIV *in vitro*, de l'ADN viral a été détecté dans les monocytes circulants des patients infectés ⁸¹. Ils expriment les récepteurs CD4 et CCR5/CXCR4 et peuvent donc être infectés ⁸² ; les antirétroviraux y pénètrent peu ⁸³. L'intégration de l'ADN de HIV dans leur génome a été démontré ainsi que l'archivage de virus dans des vésicules endosomiques ⁸⁴. Leur capacité à produire du virus a été mise en évidence chez des patients au stade SIDA ⁸⁵ où 10 % des macrophages peuvent être infectés. Ils contribuent pour moins de 1% à l'ADN-HIV du sang périphérique chez le patient au stade chronique ⁸⁶ et les clones viraux sont phylogénétiquement distincts de ceux présents dans les T CD4⁺ ⁷⁹. Leur demi-vie courte de quelques jours avant leur différenciation en macrophages et le turnover important de ces derniers laissent penser que ces cellules représentent un réservoir temporaire de virus, mais sont importants du fait de leur dissémination tissulaire ⁸⁷.

Les macrophages présents aux sites d'infection, sont une des premières cibles des variants infectieux de HIV-1 qui sont majoritairement à tropisme macrophagique (virus R5, utilisant le récepteur aux chimiokines CCR5 pour l'infection). En revanche, les macrophages intestinaux du jéjunum ne sont pas ou peu sensibles à l'infection par HIV ⁸⁸. La raison de cette différence peut être liée à la très faible expression du récepteur CD4 et du corécepteur CCR5 à la surface des macrophages intestinaux, associée à un microenvironnement cytokinique riche en IL-10 et *transforming growth factor* (TGF) et à la présence de fortes concentrations de lipopolysaccharides (LPS) bactériens, qui pourrait limiter l'entrée virale ⁸⁸. Toutefois, la susceptibilité des macrophages du tractus intestinal à l'infection peut varier selon leur localisation (dans le jéjunum, dans le colon ou dans le rectum), et selon les niveaux d'inflammation locale ^{89,90}. Les macrophages présents au niveau rectal et cervico-

vaginal semblent plus permissive à la réplication de HIV-1 que les macrophages intestinaux, due à l'expression différentielle des co-récepteurs de l'entrée ^{88,91}. Contrairement aux lymphocytes TCD4⁺, les macrophages infectés sont particulièrement résistants aux effets cytotoxiques du virus et accumulent de grandes quantités de virus sans être détruits. Ainsi, les macrophages servent de sanctuaire au virus, en lui permettant d'échapper à l'immuno-surveillance, et sont des vecteurs pour l'infection des cellules environnantes. Ce sont également des cellules possédant des capacités migratrices ce qui leur confèrent un rôle important dans le maintien du réservoir ⁸⁷.

2.1.3. Cellules dendritiques

Les cellules dendritiques expriment peu les récepteurs électifs du virus à savoir CD4, CXCR4 et CCR5 mais captent le virus à leur surface par la lectine DC-SIGN ⁹². Il existe plusieurs types de cellules dendritiques (DCs) ⁹³ :

- les DCs myéloïdes (MDCs) présentes dans les ganglions, le sang, le thymus, les ganglions lymphatiques ;
- les DCs plasmacytoïdes (PDCs) : localisées dans les muqueuses ou le tissu cutané (cellules de Langerhans). Les PDCs peuvent être infectées et produire du virus ⁹³ ;
- les cellules dendritiques folliculaires (FDCs) : présentes dans les centres germinatifs des organes lymphoïdes, sont capables de capter un grand nombre de particules virales à leur surface.

Les cellules dendritiques, malgré une durée de vie courte (quelques jours), ont des capacités de migration dans l'organisme ⁹² et permettent ainsi la dissémination du virus. Les FDCs qui ont la capacité de capter un grand nombre de particules virales à leur surface, jouent ainsi un rôle de réservoir dynamique ^{75,94}.

2.1.4. Lymphocytes NK

Les lymphocytes NK ont été peu étudiés au cours de l'infection par HIV. Une faible fraction de lymphocytes NK (CD56+CD3-) exprime le récepteur CD4 et peut être infectée par HIV ⁹⁵. L'analyse longitudinale des niveaux d'ADN-HIV dans les cellules NK de patients traités 1 à 2 ans par des antirétroviraux a indiqué que les cellules NK

restent infectées de façon persistante. Ces résultats démontrent qu'un sous-ensemble de cellules non-T avec des marqueurs NK reste infecté et suggèrent un rôle des NK pour la persistance virale. *A contrario*, une autre étude sur les prélèvements sanguins de trois patients ne retrouvait pas de NK (CD56+CD3-) infectées après 7 ans de traitement ⁷⁹. Les propriétés de réservoir de ces cellules méritent d'être précisées.

2.1.5. Lymphocytes T CD8+

L'infection des lymphocytes T CD8 a été rapportée chez des patients en primo-infection ⁹⁶. Les fréquences d'infection sont variables suivant les populations (TN, TMT, TCM) ⁹⁷ et sont conditionnées par le niveau d'expression du récepteur CD4 qui est faible et fugace dans les différentes phases de différenciation des lymphocytes T CD8 ⁹⁸. Les lymphocytes T CD8 ne doivent pas être considérés comme un réservoir de HIV.

2.1.6. Lymphocytes B

Il existe quelques preuves *in vitro* que les lymphocytes B peuvent s'infecter après expression de faibles niveaux de CD4 et CXCR4. Par ailleurs au même titre que les DCs, les lymphocytes B peuvent capter le virus HIV à leur surface et infecter les lymphocytes T CD4 en *trans*. Leur rôle de réservoir au regard de leur demi-vie inconnue reste posé ⁹⁹.

2.1.7. Cellules myéloïdes

Les cellules myéloïdes précurseurs des divers types cellulaires résistent à l'infection virale ¹⁰⁰. Seules des cellules pro-génitrices hématopoïétiques exprimant le CD34 peuvent exprimer le CD4 et donc peuvent être infectées. Elles ont été retenues récemment comme un réservoir potentiel ¹⁰¹.

2.1.8. Établissement de la latence virale

La Figure 19A, montre qu'après stimulation antigénique spécifique, les CD4 naïfs se différencient en cellules effectrices pour détruire l'antigène. Quand l'antigène disparaît, ces cellules évoluent soit en apoptose soit en cellules mémoires quiescentes jusqu'à une prochaine stimulation antigénique. Au cours de l'infection

aigüe, un réservoir stable de cellules mémoires quiescentes infectées de manière latente par HIV-1 s'établit ⁷⁰. Deux modalités différentes interviennent dans le processus de la latence selon qu'elle soit mise en place avant ou après l'intégration de l'ADN viral du HIV-1 dans le génome de la cellule hôte. La première, dite latence pré intégrative (Figure 19B), survient, comme son nom l'indique, avant l'intégration de l'ADN dans le génome de la cellule infectée. Elle est très fréquemment observée dans les cellules TCD4⁺ naïves ¹⁰², mais s'avère être très labile et ne perdure pas longtemps dans la cellule hôte. Cette modalité concerne particulièrement les cellules mémoires quiescentes et surtout les naïves qui ont une grande capacité de survie et une longue demi-vie et qui doivent présenter une activation transitoire, suboptimale pour pouvoir être infectées. Le passage à la forme activée de la cellule hôte (CD4 effecteur) par stimulation antigénique idiotypique permet l'intégration de l'ADN viral dans le génome cellulaire et la production de virions. Après activation, une partie de ces cellules pourra évoluer en cellules mémoires ou naïves quiescentes (phase de contraction clonale), conserver le provirus dans leur génome, c'est la phase d'intégration post-latence. Bien que faiblement infectées, les cellules naïves sont néanmoins porteuses du virus (Figure 19C).

La seconde, post-intégrative, explique mieux la persistance à long terme du virus dans les réservoirs cellulaires. Ses bases moléculaires commencent à être connues mais des zones d'ombre subsistent ¹⁰². Une nouvelle activation de ces cellules aboutira à la production de nouveaux virions sources de nouvelles infections ¹⁰³.

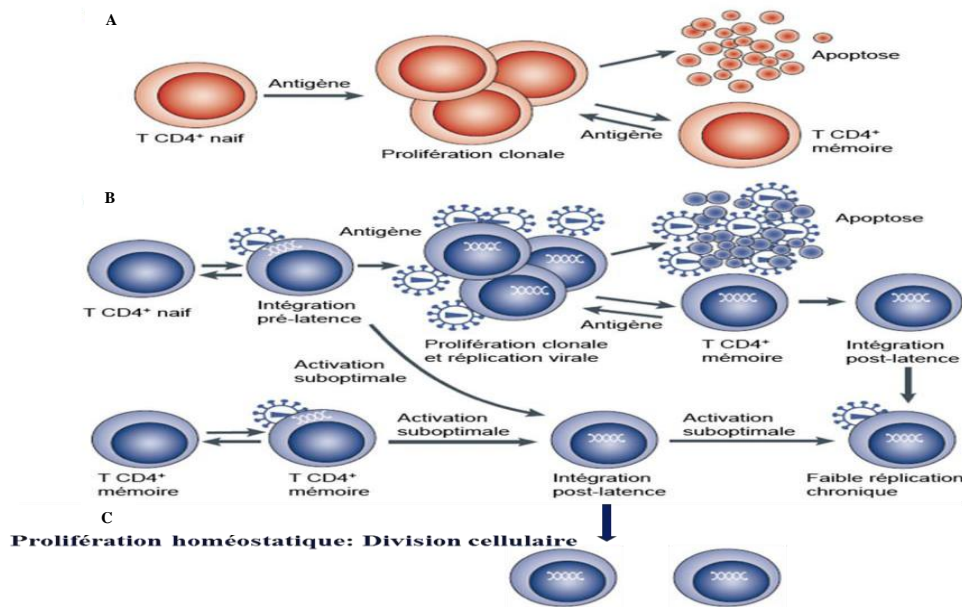


Figure 19. Établissement du réservoir du HIV et prolifération homéostatique lymphocytaire, d'après^{103, 104}.

Dans les lymphocytes T CD4⁺, il semble acquis que l'établissement de cette latence ne se fait pas dans les cellules naïves mais dans des cellules activées qui retournent à l'état de repos, rejoignant le groupe des cellules TCD4⁺ mémoires^{70,105}. Toutefois, il existe sans doute d'autres réservoirs viraux comme l'ont démontré des travaux récents¹⁰⁶, les monocytes et les cellules dendritiques pourraient en faire partie¹⁰⁷. Il faut aussi considérer les réservoirs dits anatomiques comme le système nerveux central ou le GALT. Des travaux démontrent que l'intégration se fait préférentiellement dans des régions transcriptionnellement actives¹⁰⁸. Ces auteurs ont montré, en utilisant la technique de PCR inverse, que sur 74 sites d'intégration analysés dans des cellules TCD4⁺ mémoires prélevées chez 16 patients, 93 % se trouvaient dans des introns de gènes transcriptionnellement actifs. Cette découverte, qui a été confirmée dans un modèle cellulaire de latence virale (cellules Jurkat ou J-LAT), pose un problème, dans la mesure où il est apparemment paradoxal qu'un génome intégré dans un gène transcriptionnellement très actif puisse être silencieux. Comment expliquer alors, l'établissement de la latence virale puisque le provirus, est localisé dans l'euchromatine ? Pour expliquer les mécanismes sous-jacents à l'établissement de la latence virale, on fait appel à l'interférence transcriptionnelle^{109,110}.

L'ADN proviral du HIV-1 est intégré de manière stable dans le génome des cellules, aucune protéine virale n'est produite, donc il ne présente pas de transcription active. Dans ces cellules ayant une longue durée de vie, le virus demeure invisible pour le système immunitaire et insensible aux thérapies antirétrovirales (Figure 20) ¹¹¹.

2.1.9. Maintien de la latence virale

Une fois l'ADN proviral intégré et la latence établie, des mécanismes assurant le maintien de celle-ci vont entrer en jeu, expliquant la persistance à long terme du virus. De tels mécanismes reposent essentiellement sur l'organisation chromatinienne. En effet, la structure de la chromatine, selon qu'elle soit plus ou moins condensée, intervient dans le statut plus ou moins actif de la transcription. Il a été démontré par ailleurs que l'organisation chromatinienne du génome du HIV-1, quel que soit le site d'intégration viral, était toujours la même, avec notamment une organisation nucléosomale particulière au niveau du promoteur ¹¹².

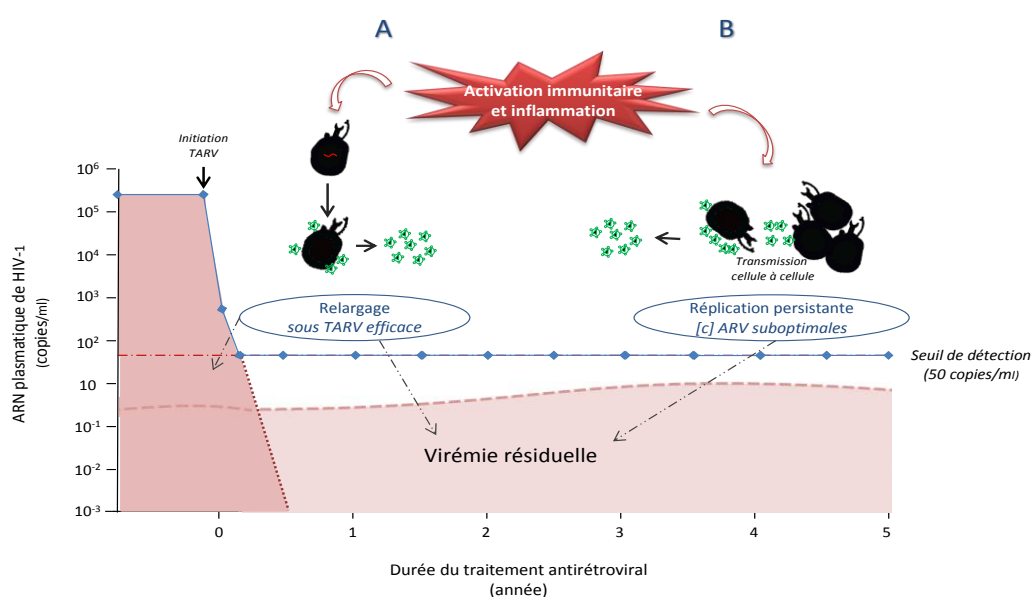


Figure 20. Hypothèses de persistance de production virale dans les réservoirs au cours d'un traitement antirétroviral. Relargage sans réplication par des cellules T infectées par HIV (A), Réplication persistante et transmission de cellule à cellule (B).

Cette organisation en nucléosomes permet la compaction de la chromatine et empêche la machinerie transcriptionnelle de base et les facteurs transcriptionnels

d'accéder facilement à l'ADN du promoteur afin d'y initier la transcription ¹¹³. L'état de compaction de la chromatine résulte d'une dynamique entre des facteurs favorisant la condensation et ceux qui la défavorisent. Ces modifications peuvent être de cinq types (acétylation, méthylation, phosphorylation, sumoylation et ubiquitinylation) et c'est la combinaison de ces modifications qui constitue un code histone qui sera traduit en un état inactif ou actif de la chromatine ^{114,115}.

Ce contrôle épigénétique de la structure de la chromatine est ainsi très important et constitue un moyen de régulation de l'expression des gènes en général, et de la latence virale en particulier. Les histones des nucléosomes *nuc0* et *nuc1* du promoteur de HIV-1 sont constitutivement dé-acétylées dans toutes les lignées cellulaires servant à modéliser la latence virale, suggérant fortement l'intervention d'enzymes douées d'activité déacétylase. Parmi les facteurs permettant le recrutement de ces dernières, nous pouvons citer l'homodimère p50-p50, LSF1, YY1 et le récepteur de l'hormone thyroïdienne. Ce recrutement se fait *via* des sites distincts sur le promoteur de HIV1 ¹¹⁶. Par ailleurs, des données récentes obtenues dans les lymphocytes T font état du recrutement d'un complexe de protéines ayant des activités déacétylase et méthyl-transférase au niveau du promoteur proximal de HIV-1 ¹¹⁷. Un recrutement des activités déacétylases a aussi été décrit dans les cellules micro-gliales qui constituent également un réservoir pour HIV-1.

2.1.10. Immunodépression par destruction des lymphocytes

L'infection par HIV-1 est associée à une déplétion rapide et partiellement irréversible des lymphocytes T CD4 du tissu lymphoïde intestinal. Ceci entraîne des séquelles, comme l'inflammation intestinale ou des problèmes de malabsorption apparente, observées lors d'infections chroniques. Le taux de déplétion des lymphocytes T CD4⁺ α4β7^{fort} dans le sang reflète celui de l'intestin. De même, l'inoculation du virus de l'immunodéficience simienne (SIV) chez des macaques entraîne une déplétion intestinale persistante des lymphocytes T CD4⁺ et des lymphocytes T CD4⁺ α4β7^{fort} due à une réplication virale toujours active, partiellement corrigée par le traitement ¹¹⁸.

L'immunodéficience de l'infection à HIV est caractérisée par une activation immunitaire, avec une fréquence accrue de lymphocytes circulants activés qui entrent dans le cycle cellulaire. Cette augmentation de l'entrée dans le cycle

cellulaire est souvent interrompue car les cellules activées ont tendance à mourir par des mécanismes de mort cellulaire programmée ¹¹⁹ et aussi par nécrose cellulaire^{120,121}. En revanche, bien que les lymphocytes TCD8⁺ dans l'infection par HIV meurent également après activation ¹²², les populations de lymphocytes TCD8⁺ dans l'infection par HIV tendent à avoir un raccourcissement de la longueur moyenne des télomères reflétant plusieurs cycles de réplication cellulaire réussie (au moins parmi les cellules survivantes) ¹²³. La même chose semble être vraie pour les lymphocytes TCD4⁺ ¹²⁴ bien que le test de réactivité des cellules CD4 ait été moins complet que celui des cellules CD8. La perte des lymphocytes T CD4⁺ et l'augmentation des lymphocytes T_{reg} intestinaux sont associées à une activation immune intense et une translocation microbienne, indiquant une perte d'intégrité de la barrière intestinale, et à un pronostic défavorable de l'infection (Figure 21). Par conséquent, l'activation cellulaire et la mort cellulaire dans l'infection par HIV semblent être entièrement déterminées soit par des effets cytopathiques directs du virus, soit par une activation immunitaire induite par une reconnaissance spécifique des peptides. D'autres explications, comme l'activation dérégulée des cellules T par des mécanismes autres que l'activation du récepteur des cellules T, sont encore non prouvées.

De toute évidence, la composition du système immunitaire avant contamination influence le déroulement de l'infection, puisque chez le macaque, un fort taux de CD4⁺ mémoires $\alpha\beta\gamma^{\text{fort}}$ dans le rectum confère une susceptibilité accrue à l'infection et à des taux de charge virale aiguë élevés ¹¹⁸.

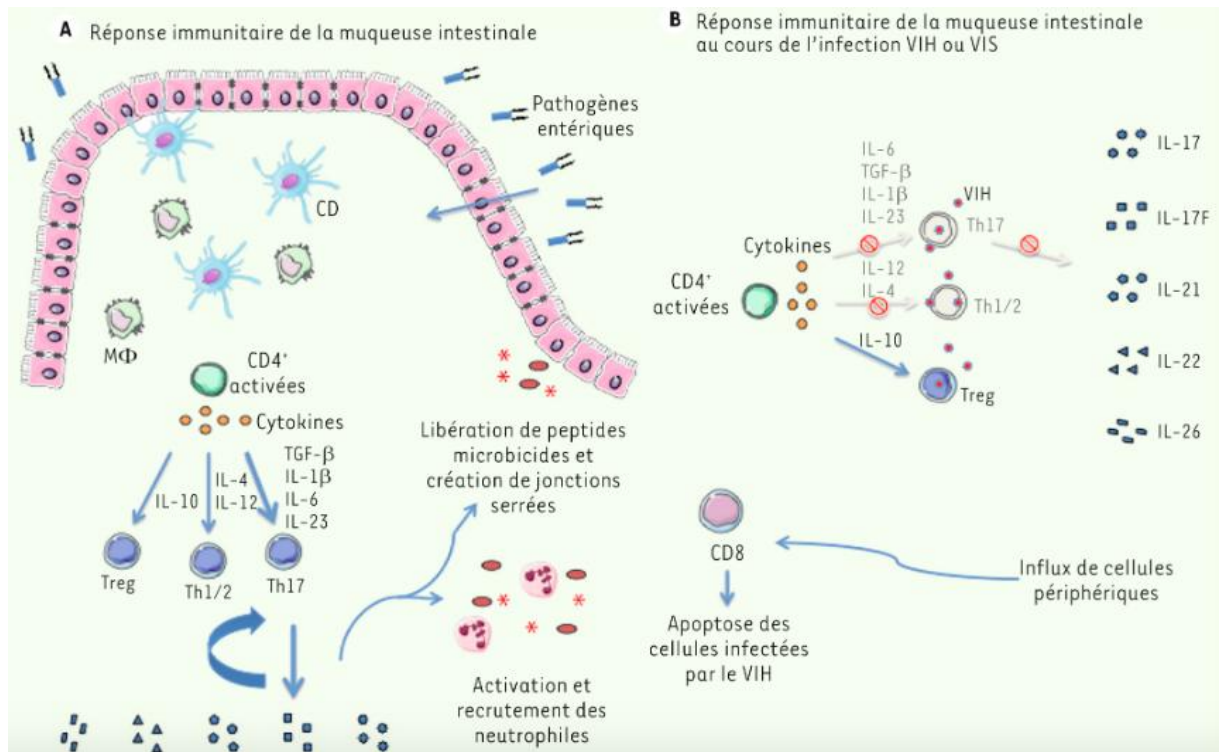


Figure 21. Réponse immunitaire du GALT en absence (A) ou en présence d'une infection par HIV (B), d'après ¹¹⁸.
A. Les pathogènes entériques infectant la muqueuse intestinale, induisent une activation des cellules T naïves qui se différencient préférentiellement en lymphocytes T CD4+Th17. L'activation et le recrutement des neutrophiles sont sous la dépendance de la production de cytokines par les cellules Th17. Ils induisent la libération de peptides microbicides et favorisent la création de jonctions serrées favorisant la clairance des pathogènes en limitant la dissémination bactérienne. **B.** La déplétion sévère des lymphocytes T CD4+ de la muqueuse intestinale pendant l'infection par HIV est majoritairement de profil Th1 et Th17. Ceci altère la réponse immunitaire vis-à-vis des bactéries pathogènes. En revanche, les lymphocytes T CD8+ deviennent fortement activés et induisent l'apoptose des cellules infectées. CD : cellule dendritique ; MΦ : macrophage ; TGF-β : transforming growth factor b ; Treg : cellules T régulatrices.

Une grande partie du dommage immunitaire qui est observé dans l'infection par HIV résulte probablement de la réplication virale et de ses conséquences dans le tissu lymphoïde. Dans les premiers stades de l'infection par HIV, de nombreuses personnes infectées ont un syndrome de lymphadénopathie généralisée ^{125,126}. Ce syndrome est caractérisé par l'accumulation de lymphocytes dans les ganglions lymphatiques inflammatoires et l'augmentation de la régulation de l'expression des molécules d'adhésion ¹²⁷. Les ganglions sont remplis de lymphocytes et la présence des lymphocytes TCD4⁺ et TCD8⁺ dans ces sites reflète généralement ce qui est observé dans la circulation sanguine ¹²⁸, c'est à dire qu'au fur et à mesure que la

maladie progresse, les lymphocytes TCD4⁺ naïfs et mémoires disparaissent de la circulation ¹²⁷.

En l'absence de traitement, les ganglions lymphatiques montrent une inflammation avec une expression accrue de cytokines telles que l'interféron-gamma, IL-1, IL-2 et IL-12 ¹²⁹⁻¹³¹. Ces ganglions lymphatiques inflammatoires sont caractérisés par une expression accrue de molécules telles que des molécules d'adhésion intercellulaire et des molécules d'adhésion vasculaire ¹²⁹. Cet état "collant" et inflammatoire provoque probablement la séquestration de lymphocytes circulants dans ces sites. L'état inflammatoire des tissus lymphoïdes est probablement une conséquence de la réplication de haut niveau de HIV dans ces sites ¹²⁹. Au fur et à mesure que la maladie progresse, il y a destruction progressive de l'architecture lymphoïde ¹³⁰ et finalement les tissus lymphoïdes sont, comme la circulation sanguine, dépourvus des lymphocytes.

2.2. Réservoirs tissulaires

2.2.1. Le tissu lymphoïde

Les principaux organes lymphoïdes secondaires où se concentrent 98% des lymphocytes T CD4⁺ sont les ganglions lymphatiques, la rate, le tissu lymphoïde digestif et secondairement les organes lymphoïdes primaires représentés par le thymus et la moelle osseuse ^{136,137}. Les ganglions, qui ont un rôle pivot dans la multiplication du virus, ont été caractérisés comme un des réservoirs majeurs du HIV par l'infection au long cours des cellules des follicules lymphoïdes, notamment les cellules dendritiques folliculaires qui captent à leur surface le HIV et perdurent plusieurs mois. Leur capacité à infecter de nouvelles cellules T CD4⁺ dans les ganglions est à l'origine de la réplication virale chronique ^{75,137,138}. Chez les singes de type Sooty mangabey, hôtes naturels de l'infection par le SIV, la clairance du virus dans les zones corticales des ganglions lymphatiques est rapide et associée à une moindre infection des centres germinatifs. Ceci est contraire aux observations faites chez les singes de type Rhésus macaques présentant une infection HIV évolutive ¹³⁹. Ainsi le microenvironnement dans les centres germinatifs semble jouer un rôle pivot dans la progression de l'infection par le HIV dès la primo-infection ¹⁴⁰.

Le tissu lymphoïde digestif (GALT), réservoir anatomique principal est composé de tissus organisés avec des structures lymphoïdes secondaires telles que les plaques de Peyer et de structure très hétérogène dans la *lamina propria* (Figure 22). Il contient des macrophages, des cellules dendritiques, des plasmocytes, et 40 à 60 % des lymphocytes γ serait concentré ¹⁴¹. La majorité des lymphocytes CD4⁺ intestinaux est de type effecteur ou effecteur mémoire activé et dans une moindre proportion des cellules CD4 naïves ¹⁴². Ces cellules CD4 intestinales sont donc des cibles particulières du HIV en étant activées de façon quasi permanente du fait de leur exposition à une multitude d'antigènes ¹⁴³. Lors d'un rapport sexuel, la contamination par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) requiert que les particules virales libres ou associées à des cellules infectées traversent l'épithélium muqueux. Le virus doit ensuite être véhiculé vers les nodules lymphoïdes au niveau des sites inducteurs de l'intestin. Des résultats récents montrent que le HIV-1 est capable de cibler les lymphocytes T CD4⁺ α 4 β 7⁺ de la muqueuse vaginale et d'utiliser la capacité de migration de ces cellules vers les nodules lymphoïdes mésentériques et les plaques de Peyer de l'intestin ¹¹⁸.

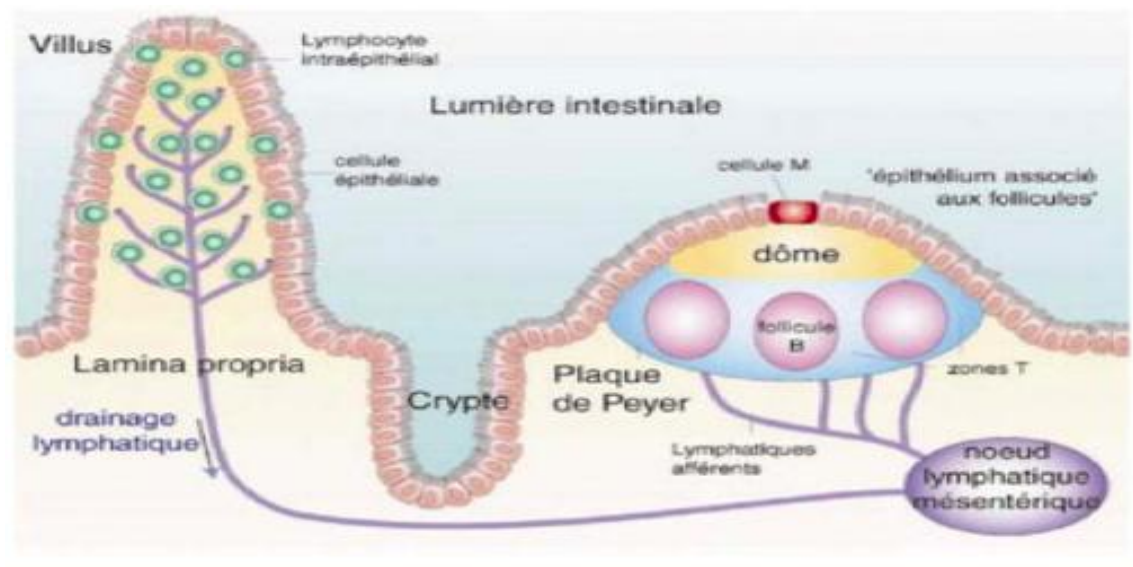


Figure 22. Schéma du tissu lymphoïde intestinal (GALT), d'après ¹⁴⁴.

Une plaque de Peyer est constituée d'un dôme surmonté d'un épithélium associé aux follicules comportant des cellules M, de follicules riches en plasmocytes sécrétant d'IgA et entourés d'une zone para-folliculaire riche en lymphocyte T ¹⁴⁴. Les ganglions mésentériques assurent le drainage de la muqueuse. De nombreux

lymphocytes circulants sont localisés dans la *lamina propria* où ils peuvent s'insérer entre les cellules épithéliales. La *lamina propria* est un site essentiellement effecteur de la réponse immunitaire muqueuse. Cependant l'analyse phénotypique des sous-populations T CD4⁺ dans des études montre qu'il y a un enrichissement en TMT et en TEM au niveau du rectum comparé au sang périphérique prouvant le renouvellement cellulaire au long cours de ces cellules infectées¹⁴⁵. La charge virale ARN-HIV dans ces organes lymphoïdes chez l'homme est généralement 10 fois supérieure à celle observée dans le sang périphérique en primo-infection¹⁴⁶. Les informations recueillies dans l'étude de biopsies du tube digestif chez des patients chroniques traités nous montrent des niveaux d'infection (ADN-HIV1 total) 3 fois plus important au niveau du duodénum et jusqu'à 10 fois plus important au niveau du rectum que ceux mesurés dans les PBMC¹⁴⁵. Il a d'ailleurs été démontré une compartimentalisation de clones viraux dans les cellules de biopsies rectales différents à la fois des clones liés à la réplication virale dans le GALT¹⁴⁷ et des clones viraux plasmatiques¹⁴⁸. La localisation majoritaire du réservoir dans le colon ou l'iléon est remise en cause car chez le macaque d'origine chinoise dont la dynamique d'infection est proche de celle observée chez l'homme, le réservoir serait plus important dans les ganglions mésentériques¹⁴⁹. Le GALT est toujours considéré à ce jour comme un réservoir majeur du HIV^{136,150}, mais la taille de ce réservoir par rapport aux autres organes lymphoïdes en primo-infection est discutée. Ce tissu reste néanmoins un réservoir important et facilement accessible aux prélèvements chez l'homme et il paraît probable que l'entretien de ce réservoir soit plus particulièrement lié à une faible réplication virale persistante.

2.2.2. Le compartiment génital

L'infection des organes du tractus génital a été mise en évidence dès la primo-infection et persiste dans les phases chroniques de l'infection chez l'homme^{151,152} et chez le singe¹⁴⁶.

La surface interne du prépuce et l'urètre sont les cibles privilégiées du HIV. S'y trouvent de nombreux lymphocytes T CD4⁺, monocytes/macrophages mais pas de DCs. L'infection intra urétrale est de 100% dans le modèle macaque. Le HIV est retrouvé sous forme de particules virales libres dans le liquide séminal et sous forme de particules virales intégrées dans des leucocytes infectés¹⁵¹. Le sperme dans

lequel est retrouvé du virus chez les patients non traités¹⁵³ est composé de plasma séminal contenant les cellules des testicules, de l'épididyme, de la prostate, des vésicules séminales et des glandes urétrales. Le compartiment cellulaire du sperme contient des spermatozoïdes, des cellules germinales, des cellules épithéliales et des cellules mononuclées non-séminales (NSMC). Les spermatozoïdes ne sont pas infectés par le virus¹⁵⁴. Les NSMC sont majoritairement composées de macrophages, notamment chez les patients infectés par HIV dont le sperme contient plus de leucocytes que le sperme de sujets sains¹⁵⁵. Diverses études ont montré la présence de provirus dans les NSMC chez plus de 50% des patients, indépendamment du stade d'infection¹⁵⁵. Lors d'une contamination hétérosexuelle de l'homme vers la femme, il semble que le virus associé aux cellules de type NSMC soit préférentiellement transmis par rapport au virus libre. Les NSMC sont capables d'établir des contacts cellule-cellule avec les cellules épithéliales génitales féminines et transmettre le virus aux cellules de la muqueuse, *via* une synapse virologique établie entre ces deux types cellulaires¹⁵⁶.

Les études phylogénétiques montrent une double origine de la production de virus dans le sperme traduisant une compartimentalisation du virus au niveau génital, à la fois produit par les organes séminaux et provenant de virus plasmatiques circulants¹⁵⁷. Par ailleurs, plusieurs études ont mis en évidence la persistance de particules virales et de cellules infectées dans le sperme d'environ 5 à 10 % des patients sous traitement antirétroviral efficace depuis au moins 6 mois^{158,159}.

Dans le tractus génital féminin, le HIV est également présent sous forme de virions libres ou intégrés, dans les macrophages, les lymphocytes et dans les lymphocytes mémoires, qui sont les premières cellules infectées au moment de la contamination^{160,161}. Comme c'est le cas pour les lymphocytes CD4⁺ α4β7⁺, la proportion de CD4⁺ Th17 est plus importante au niveau du col de l'utérus qu'en périphérie (7% vs 1,25%). Ces cellules co-expriment les récepteurs CCR5 et α4β7¹⁶². Les lymphocytes CD4⁺ Th17 de la muqueuse vaginale expriment deux récepteurs de recrutement lymphocytaire intestinal, CCR6 et l'intégrine α4β7. Les lymphocytes CD4⁺ CCR6⁺ β7⁺ semblent plus sensibles à l'infection que les cellules CD4⁺ CCR6⁻ β7⁺, conférant à ces cellules le pouvoir de disséminer le virus dans le GALT¹¹⁸.

2.2.3. Le système nerveux central

Les informations sur l'infection du système nerveux central (SNC) proviennent essentiellement des résultats anatomopathologiques des autopsies de patients en stade SIDA. Les principaux types cellulaires infectés dans le SNC sont les macrophages périvasculaires et les cellules microgliales ^{163,164}. Le cerveau étant dépourvu de lymphocytes, les principales cellules réceptrices exprimant le CCR5 et le CD4 sont les astrocytes, les macrophages périvasculaires et les cellules gliales activées. Des lymphocytes infectés peuvent être retrouvés dans des infiltrats périvasculaires ¹⁶⁵. Le rôle des macrophages et des cellules gliales comme réservoir pouvant produire des virus a été bien établi ^{166,167}. Des analyses phylogénétiques ont révélé une compartimentalisation dans les macrophages et les astrocytes du cerveau de clones différents de ceux circulants ¹⁶⁸. Les astrocytes font partie des cellules de l'organisme à la plus longue demi-vie, ce qui leur donne toutes les caractéristiques d'un réservoir ¹⁶⁹. Les virus produits sont protégés de l'action des antirétroviraux en raison de leur mauvaise pénétration dans le parenchyme cérébral ¹⁷⁰.

2.2.4. Tissu gingival et salive

Les glandes salivaires peuvent être atteintes par des pathologies immunologiques, qui se manifestent le plus souvent par une hypertrophie d'une ou de plusieurs glandes et par un déficit salivaire. Le maintien à un niveau satisfaisant de la cavité bucco-dentaire dépend de la préservation de l'équilibre entre l'hôte et les communautés microbiennes distinctes qui colonisent les divers microenvironnements anatomiques de la cavité buccale (microbiotes). Les patients infectés par HIV présentent une sensibilité accrue aux infections orales opportunistes qui sont vraisemblablement liées en partie à la perturbation de l'homéostasie hôte-microbiote (dysbiose) ¹⁷¹. Les études épidémiologiques ont montré chez les patients infectés par le HIV, comparés à des populations contrôle, un plus grand nombre de récessions gingivales particulièrement lorsque le taux des lymphocytes CD4 est faible ^{172,173}. L'appauvrissement des cellules T CD4⁺ de la muqueuse buccale des sujets infectés par HIV contribue à une altération de la croissance épithéliale et, par extension, à la dysbiose microbiote-hôte ¹⁷⁴.

Dans une étude menée en collaboration avec la Faculté d'Odontologie de Ribeiro Preto (Brésil) nous avons récemment suggéré l'existence d'un réservoir gingival de

HIV chez des patients atteints de maladies parodontales. Dans ce travail, nous avons détecté de l'ARN viral dans la salive de 3 patients sur 24 sous TAR, une surproduction d'IL2, IL-6 et IL-18 dans la salive de ces patients HIV+ présentant des parodontopathies, ainsi qu'une co-localisation de la p24 avec le CD32a décrit comme biomarqueur cellulaire de latence et la présence de l'intégrine $\alpha 4\beta 7$ (résultats non encore publiés).

Tout au long de l'infection par le virus HIV, des tuméfactions des loges salivaires peuvent se rencontrer. Il peut s'agir d'adénopathies contemporaines de la phase aiguë (primo-infection), d'adénopathies d'installation chronique (syndrome des adénopathies persistantes, ou ARC syndrome) ou de tuméfactions vraies des glandes salivaires, essentiellement parotidiennes. Au cours d'une infection par HIV, la parotide peut également être le siège d'un lymphome, d'une parotidite par infiltration lymphoïde. Plusieurs hypothèses ont été établies pour expliquer l'agressivité des lésions parodontales : la présence d'un biofilm d'origine microbienne, la réaction immunologique de l'hôte et les facteurs de risque.

Les sites des lésions parodontales chez les personnes vivant avec le HIV/Sida montrent une flore relativement similaire à celle retrouvée dans les parodontites non associées au HIV. Mais quelques microorganismes inhabituels de la parodontite sont aussi présents : *Bacteroides fragilis*, *Fusobacterium necrophorum*, *Eubacterium aerofadens*, *Pseudomonas aeruginosa*. La prévalence de ces microorganismes est 3 fois supérieure chez les personnes vivant avec le HIV/Sida¹⁷⁵.

Il a été montré que différents *stimuli* et notamment les infections bactériennes et virales jouent un rôle actif dans l'activation immunitaire locale et systémique et dans la réactivation du virus HIV-1 latent à partir de ces réservoirs, notamment via des molécules de signalisation impliquées dans l'activation cellulaire induite par les récepteurs Toll-like (TLRs)¹⁷⁶. On note l'absence totale ou relative de lymphocytes au niveau gingival ainsi qu'une altération du profil des cytokines salivaires et crévicales : IL-1 α ; INF gamma ; IL5 etc...¹⁷⁷. L'activation de ces récepteurs membranaires dans les cellules infectées par HIV-1 se déclenche sur les voies de signalisation en aval qui conduisent à l'activation des facteurs de transcription, avec la possibilité de réguler les gènes pro-inflammatoires¹⁷⁶. Les cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6, IL-2, IL-18, TNF α , IFN γ ...) ainsi que les cytokines provenant d'autres sources cellulaires (cellules NK, cellules T helper, cellules dendritiques...) induisent une production virale synergique. Certaines protéines telles

que Tat, Nef, Vpr ont également la capacité d'induire la réactivation du LTR proviral et la production de cytokines ¹⁷⁶.

A l'instar des cellules dendritiques, les kératinocytes oraux favorisent la transmission du virus aux cellules sensibles sans favoriser la réplication ¹⁷⁸. Cependant, rien ne prouve que ces cellules servent de réservoirs de HIV-1. Les cellules immunitaires de la cavité orale pourraient constituer une source importante de réactivation de HIV-1, bien que cette éventualité ait été peu étudiée au cours des dernières années.

2.2.5. Autres compartiments

Des rapports suggèrent une infection possible et la transmission d'infection par les cellules épithéliales de différents organes, même si elles n'expriment pas le CD4 et ont une expression indétectable ou faible des corécepteurs CCR5 et CXCR4 ^{179,180}.

- Les cellules épithéliales mammaires pourraient représenter un compartiment séparé du HIV-1: les analyses phylogénétiques de l'ADN du HIV-1 provenant d'échantillons de lait maternel et de sang périphérique issus de femmes infectées par le HIV-1 ont montré l'existence de compartiments génétiquement distincts ¹⁸¹.
- Les cellules épithéliales rénales seraient sensibles au HIV-1 *in vitro*. Les cultures de cellules épithéliales de tubule rénal ont été infectées de manière productive par le HIV-1 après coculture avec des cellules T infectées ¹⁸². La transmission de l'infection a été observée par la formation de synapses virologiques ¹⁸³. L'ARNm et l'ADN du HIV-1 ont également été détectés dans les cellules épithéliales tubulaires rénales sur des biopsies obtenues chez des individus atteints de néphropathie associée au HIV-1 ¹⁸⁴. Les analyses phylogénétiques des séquences obtenues à partir de cellules épithéliales rénales se sont avérées proche des séquences obtenues à partir de cellules mononuclées du sang périphérique ¹⁸⁵. Ces cellules pourraient jouer un rôle dans la persistance de l'infection par le HIV-1 chez les individus sous traitement antirétroviral (TAR) sur la base de preuves indirectes ¹⁸⁶.
- Des auteurs ont signalé la détection d'un ADN du HIV-1 intégré et la libération de virus infectieux dans l'épithélium du foie à la suite d'une infection *in vitro* de lignées cellulaires d'hépatocytes ¹⁸⁷. En outre, il a été démontré que les

cellules hépatiques étoilées libèrent le virus infectieux après une infection *in vitro* ¹⁸⁸.

- Des cas isolés d'autres cellules pouvant être infectées par le HIV-1 ont été signalés. Les fibrocytes, définis comme CD34 + CD45 + collagène I +, ont récemment été signalés comme ayant des caractéristiques de cellules pouvant être infectées de manière persistante. *In vitro*, les fibrocytes infectés ont résisté à la mort cellulaire induite par le HIV-1 et ont exprimé de manière stable de faibles taux d'ARNm du HIV-1 pendant plus 60 jours. Cependant, il n'existe aucune donnée indiquant si les fibrocytes sont infectés par le HIV-1 *in vivo* ¹⁸⁹.
- Parmi les autres types de cellules qui pourraient être explorées en tant que réservoirs de HIV-1 chez les individus sous ARV, on peut citer les cellules progénitrices hématopoïétiques (HPC) initialement associées au virus infectieux qui ne sont plus considérées comme répondant aux critères de réservoir après le développement de techniques améliorées de purification des CSH de la moelle osseuse ¹⁰¹.

3. Rôle du microbiote dans la pathologie HIV

3.1. Le rôle protecteur du microbiote vaginal normal

Le système immunitaire muqueux de l'appareil génital féminin est l'une des premières lignes de défense contre les agents pathogènes. Les hormones sexuelles féminines estradiol et progestérone ont une influence immunorégulatrice marquée, en coordonnant le phénotype et le fonctionnement des cellules immunitaires et en aidant à réguler la grossesse et le cycle menstruel ¹⁹⁰. Les changements hormonaux majeurs qui se produisent à la puberté et à la ménopause modifient de manière significative la composition du microbiome vaginal, principalement des bactéries anaérobies dominé par le genre *Lactobacillus* ¹⁹¹. Les événements aigus qui suivent une exposition au HIV-1 dans le tractus génital féminin ne sont pas clairs ¹⁹².

Plusieurs mécanismes ont été identifiés ou proposés, y compris les antagonismes entre les constituants du microbiote, l'action microbicide directe des substances d'origine bactérienne et les interactions bactéries-hôtes conduisant à des modifications de la fonction immunitaire de l'hôte ¹⁹³. Dans la couche superficielle, il

existe une relation symbiotique entre les cellules épithéliales du tractus vaginal et le microbiome, de l'hôte féminin. Le concept actuel de microbiome vaginal « sain » comprend un environnement riche en *Lactobacillus*, à faible diversité. Quatre espèces de lactobacilles (*L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* et *L. jensenii*) sont connues pour être dominantes dans le microbiome vaginal de 80 à 90% des femmes caucasiennes et asiatiques et 60% des femmes noires et hispaniques ¹⁹⁴.

Les lactobacilles produisent de l'acide lactique et du peroxyde d'hydrogène modulateurs du pH, des bactériocines antimicrobiennes et forment des colonies adhérentes sur les cellules épithéliales ou provoquent une coaggrégation entre les espèces bactériennes, constituant une barrière physique / neutralisante contre d'autres souches bactériennes et pathogènes nuisibles ¹⁹¹. Le manque de lactobacilles associé à la vaginose bactérienne est considéré comme un risque particulier d'acquisition et de transmission du HIV étant donné que H₂O₂, seule ou en association avec des peroxydases et des halogénures, est virucide sur HIV *in vitro*.

En plus de leurs propriétés microbicides directes, certains de ces facteurs produits par *Lactobacillus* stimulent les réponses immunitaires et de signalisation des cellules épithéliales cervicales et vaginales. Par exemple, la L-isomère de l'acide lactique, produit par un certain nombre de bactéries vaginales et les cellules épithéliales vaginales humaines, est en corrélation avec les taux de métalloprotéinases dans les sécrétions vaginales *in vivo*¹⁹³. La capacité de l'hôte à tolérer les lactobacilles mais à protéger contre les bactéries pathogènes dépend de la relation bidirectionnelle qui existe entre le système immunitaire muqueux et le microbiome¹⁹¹.

3.2. Rôle du microbiote vaginal dans l'infection par HIV

La vaginose bactérienne, caractérisée par le remplacement du microbiote à dominance lactobacillaire par des bactéries anaérobies et des bâtonnets Gram négatif facultatifs, a été associée à des effets néfastes sur la santé de la reproduction, y compris l'acquisition du HIV ¹⁹⁵. Le microbiome vaginal peut également influencer la sensibilité au HIV-1 *via* son interaction avec l'immunité muqueuse des voies vaginales. La vaginose bactérienne (VB) est un état clinique symptomatique diagnostiqué à l'aide du score de Nugent ou des critères d'Amsel, caractérisé par un microbiome vaginal polymicrobien et une prolifération des anaérobies ¹⁹¹.

Une revue de la littérature a révélé d'importantes différences de prévalence de la VB entre différentes populations, les taux de prévalence les plus élevés étant observés chez les populations noires ¹⁹³.

Dans une étude Sud-Africaine chez des adolescents HIV négatives, les auteurs ont défini quatre groupes de communautés bactériennes vaginales (cervico-types). Le cervico-type 1 (CT1) était caractérisé par une abondance relative élevée de *L. crispatus*, le cervico-type 2 (CT2) présentait une abondance relativement élevée de *Lactobacillus iners*, le cervico-type 3 (CT3) était dominé par *G. vaginalis* et le cervico-type 4 (CT4) était une communauté bactérienne diverse non dominée par *L. crispatus*, *L. iners* ou *G. vaginalis*. CT4 était associé à un risque significativement plus élevé d'acquisition du HIV par rapport à CT1. Ils ont également exploré les mécanismes potentiels par lesquels le microbiote vaginal pourrait avoir une incidence sur la sensibilité au HIV. Les femmes avec des communautés vaginales CT4 avaient 17 fois plus de cellules cibles activées CD4+ pour le HIV sur les cytobrosses cervicaux que les femmes de la communauté CT1 ¹⁹⁵.

McClelland et al., ont étudié 87 échantillons de microbiote vaginal provenant de femmes atteintes de HIV et 262 échantillons provenant de témoins séronégatifs pour le HIV. Les femmes qui ont contracté le HIV avaient une plus grande diversité de bactéries vaginales que les femmes restées séronégatives ¹⁹⁵.

Dans une autre étude comparative de 205 femmes non infectées par le HIV et 31 infectées, *Prevotella bivia*, *Prevotella melaninogenica*, *Veillonella montpellierensis*, *Mycoplasma spp.*, et *Sneathia sanguinegens* étaient significativement plus abondantes chez femmes ayant contracté le HIV. Les espèces de *Lactobacillus non-iners* ont été associées à la protection contre le HIV ¹⁹⁵.

3.3. Interactions entre microbiote vaginal et inflammation

Le profil transcriptionnel a été utilisé pour illustrer que les cellules épithéliales et les CPA détectent des bactéries vaginales à haute diversité associées à la vaginose bactérienne [80]. Ces CPA utilisent la signalisation du récepteur Toll-like pour répondre au LPS, qui active le facteur nucléaire activateur de la chaîne légère kappa des cellules B activées (NF-kB), conduisant à l'inflammation et au recrutement des lymphocytes. Les médiateurs immunitaires humoraux, y compris les chimiokines et les cytokines pro-inflammatoires, ont été étudiés comme mécanisme pour expliquer l'association entre la dysbiose vaginale et l'acquisition du HIV. Un microbiote vaginal

anormal (score Nugent 4 - 10) a toujours été associé à des taux plus élevés d'interleukine-1b (IL-1b), une cytokine pro-inflammatoire associée à une signalisation du récepteur TLR et à des lésions tissulaires. En utilisant les données de l'essai CAPRISA 004, des échantillons cervico-vaginaux provenant de 58 femmes avant la séropositivité du HIV ont été appariés à ceux de 58 femmes restées séronégatives. Cette étude a montré des concentrations plus élevées de protéine inductible par l'interféron gamma (IP-10), de protéine inflammatoire de macrophage 1alpha (MIP-1a), de protéine inflammatoire de macrophage-1beta (MIP-1b) et d'interleukine-8 (IL-8) chez les femmes ayant été infectées par rapport aux femmes non infectées par HIV. De plus, MIP-1a et MIP-1b étaient associés à des communautés bactériennes vaginales plus diverses. Ces deux chimiokines, ainsi que IP-10, sont chimiotactiques pour les cellules T, les monocytes, les macrophages et les cellules dendritiques, qui sont toutes des cellules cibles potentielles du HIV.

L'inflammation accrue de la muqueuse augmente le taux de transmission sexuelle du HIV-1 dans le tractus génital féminin ¹⁹⁵. Récemment, Masson et al. ont observé un risque trois fois plus élevé d'infection par HIV-1 chez des femmes sud-africaines présentant des taux élevés de cytokines pro-inflammatoires au niveau muqueux, principalement l'IL-8, l'IL-1 β , l'IL-1 α et le TNF- α ¹⁹¹.

3.4. Impact du microbiome vaginal sur l'efficacité de la prophylaxie

Dans l'essai CAPRISA, les femmes participantes ont été randomisées en 2 groupes, l'un bénéficiant du gel de ténofovir à 1% au niveau vaginal et l'autre un gel placebo. Dans le groupe des femmes infectées au cours de l'étude, les lavages cervico-vaginaux ont été analysés par rapport à leur microbiote avant l'acquisition du HIV, en comparaison avec des échantillons de femmes séronégatives sélectionnées au hasard. En utilisant une analyse méta-protéomique, 188 espèces bactériennes ont été identifiées. Les microbiotes vaginaux ont été classés en tant que lactobacilles dominants ou non lactobacillaires. Il n'y avait pas de différences en termes de caractéristiques démographiques, comportements sexuels, critères cliniques ou adhérence au protocole entre les femmes avec ces deux types de microbiome vaginal. Les femmes utilisatrices du gel de ténofovir présentant un microbiote vaginal à dominance lactobacillaire ont montré un risque significativement réduit d'acquisition du HIV par rapport à celles utilisant le placebo. En revanche, les femmes ayant un

microbiote à dominance non lactobacillaire et traitées par le gel de ténofovir ne présentaient aucune différence dans l'acquisition du HIV par rapport au placebo ¹⁹⁶. Le milieu hormonal, composé d'oestradiol et de progestérone, régule le microbiome vaginal et ces deux facteurs participent à la mise en du système immunitaire du FGT (bleu), déterminant le niveau d'inflammation innée dans le tissu génital. Des taux d'œstrogènes plus élevés correspondent à un microbiome vaginal dominé par *Lactobacillus spp.*, ce qui peut diminuer l'inflammation génitale et réduire la sensibilité au HIV-1 (en rose, Figure 23). Alternativement, l'utilisation de contraceptifs à base de progestatif ou la présence de vaginose bactérienne peut initier un microenvironnement inflammatoire de cytokines qui attire les cellules T et induit leur activation (en rouge, Figure 23). Des taux élevés de cellules TCD4+ activées CCR5+ dans les tissus suite à un profil génital inflammatoire augmentent le risque d'acquisition du HIV-1 chez les femmes (Figure 23)¹⁹¹.

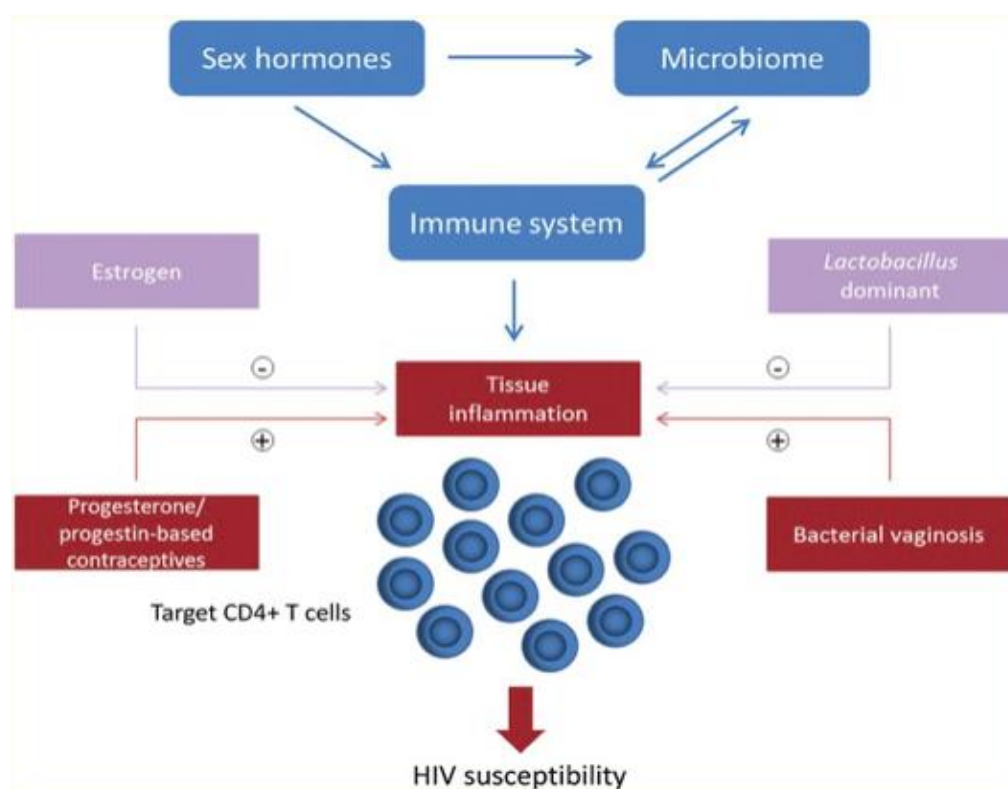


Figure 23. Interactions entre hormones sexuelles, le microbiome et système immunitaire dans le tractus génital féminin, d'après ¹⁹¹.

3.5. Impact du microbiome du GALT sur l'efficacité du TAR

Les bactéries de la flore intestinale jouent un rôle clé dans la progression de la pathologie HIV, puisque la translocation de produits bactériens tels que les lipopolysaccharides dans le sang peut provoquer une activation systémique des cellules T qui constituent la cible préférée du HIV.

Dans cinq études indépendantes, Il y avait une certaine similarité dans les types de bactéries détectés au stade chronique de l'infection par HIV. Par exemple, le genre le plus fréquemment retrouvé dans les fèces d'individus infectés chroniquement par le HIV non traités était *Prevotella*^{197,198}, le genre le plus moins fréquemment retrouvé étant *Bacteroides*¹⁹⁷⁻¹⁹⁹²⁰⁰. Dillon et al., ont détecté une augmentation significative des protéobactéries dans les échantillons de muqueuses intestinales de personnes infectées par HIV, associée à un état pro-inflammatoire. Les individus sous traitement antirétroviral à long terme conservent une composition de microbiote intestinal perturbée¹⁹⁸.

Dans une étude de cohorte, les compositions de microbiote de personnes sous TAR présentaient plus de similarité avec celles de personnes infectées par HIV et non traitées qu'avec celles de personnes séronégatives. En particulier, divers taxons qui diminuent de manière significative avec l'infection par le HIV, tels que les genres *Bacteroides*, *Odoribacter* et *Parabacteroides*, restent faiblement présent chez la majorité des patients sous TAR²⁰⁰.

3.6. Autres microbiotes

L'infection par HIV a été associée à une dysbiose du microbiome oral, avec des taux accrus de bactéries et de champignons pathogènes²⁰¹. Au niveau pulmonaire, Cai et al., ont montré que l'infection par le SIV entraîne une mort cellulaire massive des macrophages interstitiels (MI), contribuant ainsi à endommager les tissus pulmonaires, à l'inverse des macrophages alvéolaires (MA). Cela indique que le SIV produit des dommages aux tissus pulmonaires par destruction de MI alors que le MA de plus longue durée peut servir de réservoir de virus pour faciliter la persistance du HIV²⁰².

Chapitre III : Prise en charge de l'infection par HIV en Afrique subsaharienne

1. Rappel des objectifs de l'ONUSIDA

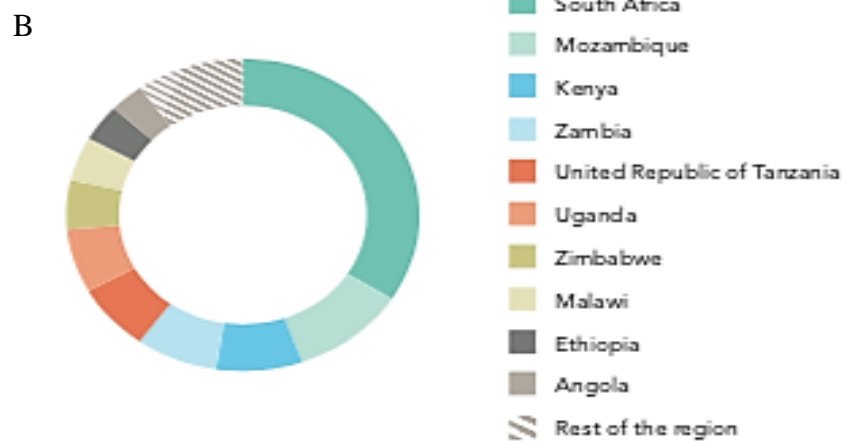
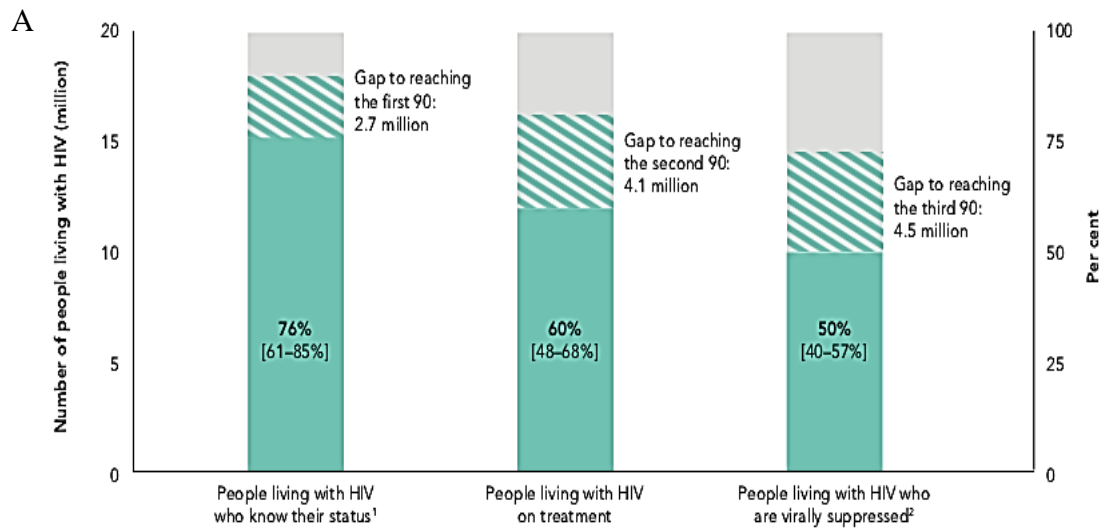
Lancés lors de la 20^e Conférence internationale sur le sida à Melbourne en 2014, les objectifs 90–90–90 sont devenus un pilier central de la quête mondiale pour mettre fin à l'épidémie de HIV ²⁰³ :

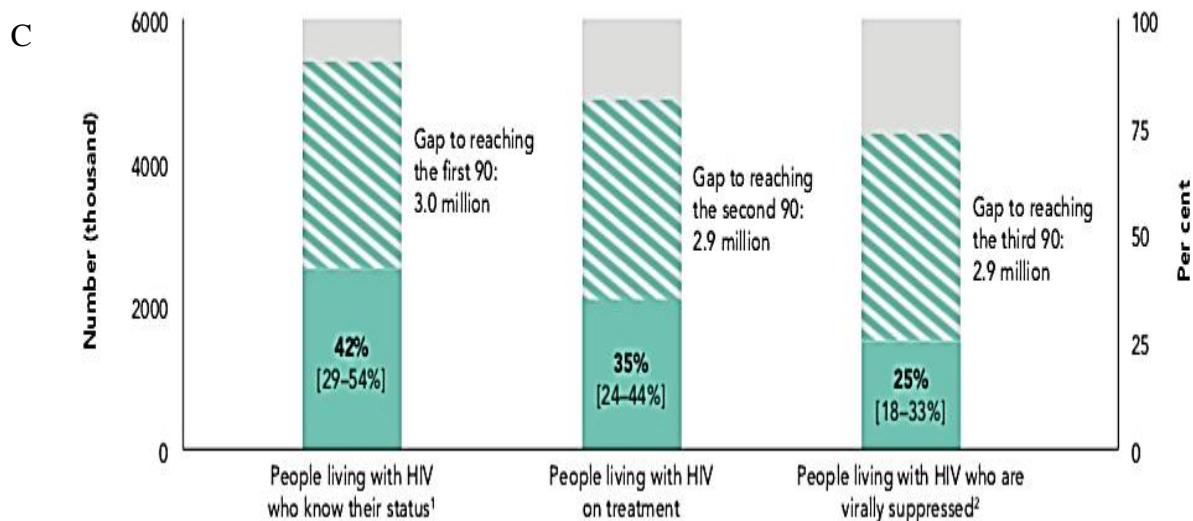
- à l'horizon 2020, 90% des personnes vivant avec HIV connaissent leur statut sérologique ;
- à l'horizon 2020, 90% de toutes les personnes infectées par HIV dépistées reçoivent un traitement anti rétroviral durable ;
- à l'horizon 2020, 90% des personnes recevant un traitement antirétroviral ont une charge virale durablement supprimée.

Ce plan s'accompagne d'une volonté de réduire le nombre de nouvelles infections dans le monde à 500 000 en 2020 et d'atteindre un objectif de « zéro discrimination ». Une nouvelle stratégie 95-95-95 et une réduction des nouvelles infections à 200 000 cas a été adoptée afin d'accélérer la riposte pour mettre fin à l'épidémie d'ici à 2030²⁰⁴.

Des progrès ont été accomplis dans le cadre des cibles 90-90-90. Il est estimé qu'environ 75 % des PVVIH connaissent maintenant leur statut sérologique ; en 2017, parmi celles connaissant leur statut, environ 79 % avaient accès à un traitement, et chez 81 % des personnes sous traitement, la charge virale était supprimée ²⁰⁵. La réduction du nombre des nouvelles infections par HIV a été la plus forte dans la région la plus touchée par le virus, l'Afrique orientale et australe, où les nouvelles infections ont diminué de 30 % depuis 2010 ²⁰⁵. Six pays (parmi lesquels 3 pays africains), le Botswana, le Cambodge, le Danemark, le Swaziland, la Namibie et les Pays-Bas, ont atteint les cibles 90-90-90 et sept autres pays sont en bonne voie de les atteindre. Le fossé le plus large est celui du premier 90 : en Afrique de l'Ouest et en Afrique centrale, par exemple, seulement environ 48 % des séropositifs connaissent leur statut sérologique (Figure 24) ²⁰⁵. L'Afrique de l'Ouest et l'Afrique centrale ont du retard : en 2017, seulement 26% des enfants et 41% des adultes ont eu accès au traitement contre 59% des enfants et 66% des adultes en Afrique de l'Est et en Afrique australe. Depuis 2010, le nombre de décès liés au sida a diminué

de 24% en Afrique de l’Ouest et en Afrique centrale, contre 42% en Afrique de l’Est et australe. Le Nigeria concentre plus de la moitié (51%) de la charge de morbidité²⁰⁵ et 59% des nouvelles infections du HIV dans la région (Figure 24D), peu de progrès ont été réalisés en matière de réduction des nouvelles infections ces dernières années²⁰⁵.





D

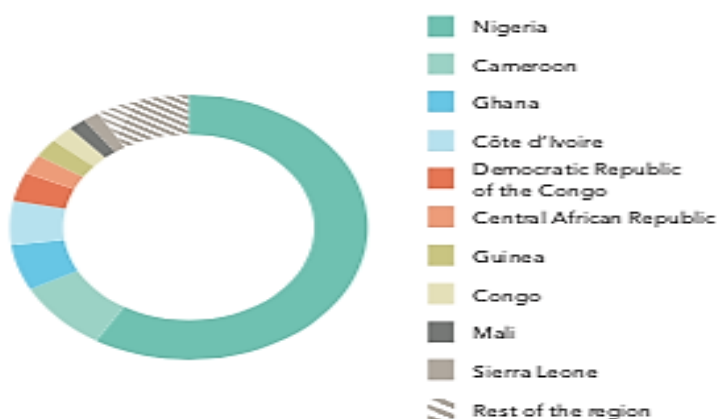


Figure 24. Connaissance du statut HIV, couverture et efficacité du traitement en Afrique de l'Est et du Sud (A), Centrale et de l'Ouest (C) et distribution des nouvelles infections (B et D) en 2016, d'après ⁴.

Seule une PVVIH sur trois était sous traitement en 2016 au Nigeria, même si la couverture du traitement antirétroviral a augmenté par rapport à 2015 où seulement 24% des PVVIH étaient sous traitement ²⁰⁵.

1.1. Objectif de dépistage de 90% des PVVIH

D'une manière générale, le diagnostic de l'infection par HIV est tardif, notamment chez les femmes (60.8%) et chez les hommes contaminés par voie hétérosexuelle (67.1%) ²⁰⁶. La stigmatisation et la discrimination liées au HIV et au changement de comportement sexuel peuvent augmenter le risque de diagnostic tardif ou d'infection du HIV ²⁰⁶.

1.2. Objectif de 90% de prise en charge thérapeutique de 90% des PVVIH dépistées

Une étape majeure a été atteinte en 2016, pour la première fois, plus de la moitié de toutes les PVVIH (53%) avaient accès à un TAR. Les données rapportées par 72 pays montraient que la rétention dans le traitement antirétroviral après 12 mois variait de 72% en Afrique de l'Ouest et du Centre à 89% au Moyen-Orient et en Afrique du Nord²⁰³. Cinquante-neuf pour cent des adultes de 15 ans et plus et 52% des enfants de 0 à 14 ans vivant avec le HIV ont reçu un traitement en 2017 à vie. Le taux de couverture mondiale par le TAR des femmes enceintes vivant avec HIV s'élevait à 80%²⁰⁷. Au Botswana et en Colombie plus de 70% des PVVIH dépistés étaient sous traitement et au Brésil 60% recevaient un traitement en 2015. Au Nigeria, au Tchad, en République démocratique du Congo et au Soudan du Sud la couverture du traitement des adultes n'était que de 21%, 24%, 20% et 5%, respectivement en 2013²⁰³.

2. Stratégie de dépistage recommandée par l'OMS

Le dépistage du HIV fait partie des stratégies de prévention et est la porte d'entrée, en cas de découverte de séropositivité, vers le traitement, les soins et d'autres services de soutien (Figure 25). Le dépistage du HIV est une étape clé pour la réussite de la stratégie d'éradication.

La qualité de l'interaction entre le patient et le médecin au moment du conseil et du dépistage est primordiale. Ce qui se passe derrière une porte close peut avoir des conséquences importantes sur l'utilisation de ces services, la réduction des risques et la réussite de l'orientation vers une prise en charge et un traitement, en particulier dans le cas de populations vulnérables²⁰⁸.

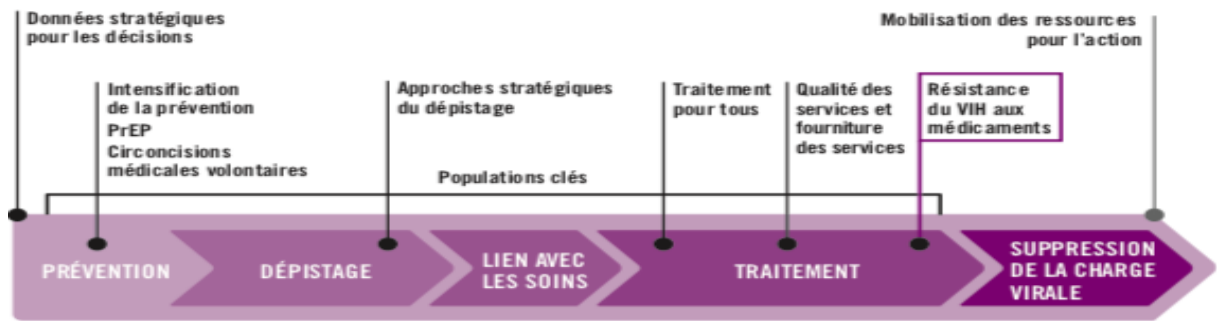


Figure 25. Continuum du dépistage, de la prévention, du traitement et des soins, d'après le plan d'action mondial contre la résistance du VIH aux médicaments (2016-2021) de l'OMS en avril 2016.

2.1. Les stratégies et algorithmes de dépistage

Les stratégies de dépistage standardisées proposées par l'OMS (Figure 26) sont simples et peu onéreuses et permettent d'obtenir un diagnostic fiable ²⁰⁹. Elles diffèrent selon que la prévalence de HIV soit faible ou forte dans les populations. Une série de trois tests différents est nécessaire pour poser le diagnostic : tests diagnostiques rapides (TDR), test immuno-enzymatiques (EIA) ou tests supplémentaires. Lorsqu'on utilise dans ces stratégies de dépistage, des tests sérologiques offrant une sensibilité de 99 % au moins et une spécificité de 98 % au moins, on obtient des résultats exacts et fiables. Une combinaison correctement choisie de TDR et/ou d'EIA utilisée dans un algorithme de dépistage national validé peut fournir des résultats aussi fiables, voire plus, que ceux de combinaisons EIA/Western blot classiques et pour un coût beaucoup plus faible. En outre, avec un algorithme utilisant des TDR, une personne testée peut prendre connaissance de son statut vis-à-vis de HIV le jour même du dépistage ²⁰⁹.

2.2. Les situations particulières

L'OMS recommande de répéter le dépistage pour garantir l'exactitude du diagnostic dans trois situations ²⁰⁹ :

1. chez les personnes avec un résultat négatif mais qui restent exposées à un risque d'infection par ce virus (populations clés, par exemple) ;
2. chez les personnes dont le test n'est pas concluant au bout de 14 jours ;
3. dans le but de vérifier un diagnostic de positivité vis à vis de HIV avant de recruter une personne dans un programme de soins et/ou de débiter un TAR.

L'OMS préconise également de ré-tester périodiquement les personnes utilisant le TAR à titre préventif, tout comme celles se servant de ce traitement comme prophylaxie de préexposition ou de post exposition.

Lorsque le test HIV initial ne permet pas de faire un diagnostic, des tests supplémentaires peuvent être utilisés, tels que des tests qui détectent uniquement l'antigène p24 ou des types spécifiques d'anticorps anti-HIV-1/2. La Figure 27, illustre les types de tests pouvant être utilisés à différents moments de l'histoire naturelle de l'infection par HIV. Les différentes catégories de tests sérologiques sont résumées dans le Tableau 2.

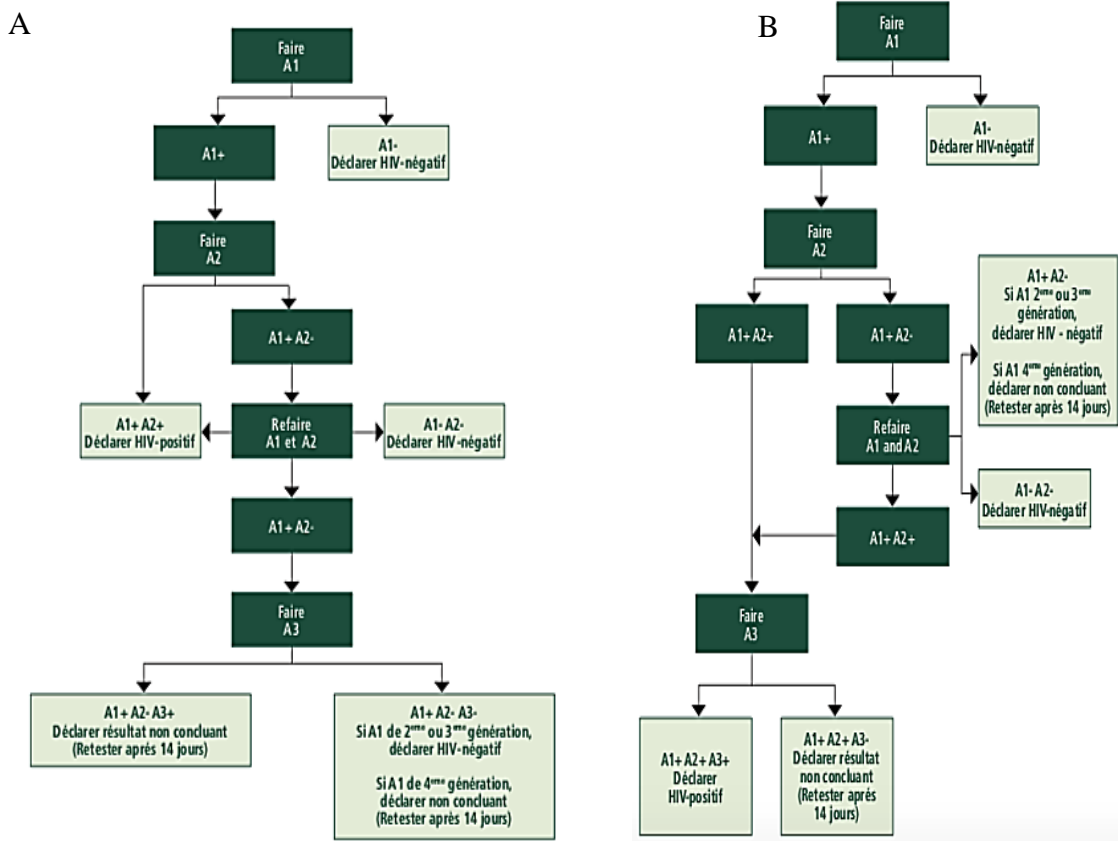


Figure 26. Stratégie de dépistage recommandée par l'OMS. A : en zone de prévalence élevée (≥5%) B : Prévalence élevée (<5%). Le test choisi pour être utilisé en premier (première intention ou A1) devra présenter la sensibilité la plus élevée, alors que les tests de deuxième (A2) et de troisième (A3) intentions devront posséder la spécificité la plus élevée²⁰⁹.

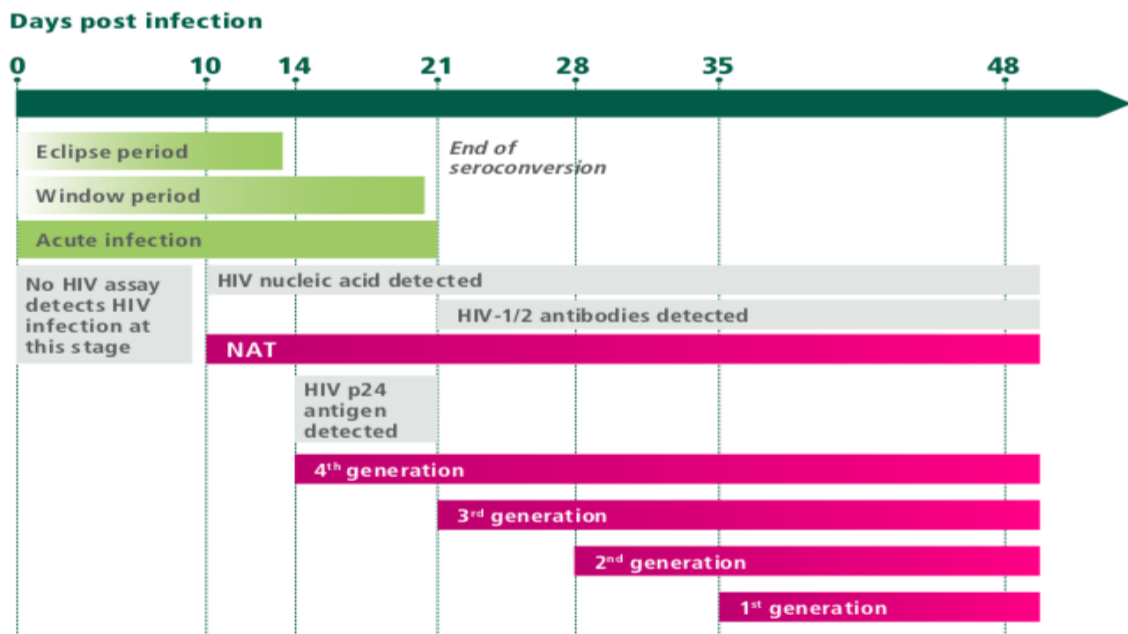


Figure 27. Détection de l'infection à HIV avec divers générations de test de diagnostics *in vitro* en fonction de l'histoire naturelle de l'infection, d'après ²⁰⁹.

Tableau 2 : les tests de diagnostic sérologiques du HIV

Génération	Source d'antigène et caractéristiques des tests
Première	Lysat viral brut en tant qu'antigène. Relativement sensible mais peu spécifique. Détection des anticorps immunoglobulines G (IgG) uniquement.
Deuxième	Protéines recombinantes et peptides synthétiques comme antigène. Spécificité et sensibilité améliorées. Détection des IgG uniquement.
Troisième	Protéines recombinantes en tant qu'antigène, avec le même antigène conjugué à une enzyme (sandwich à l'antigène). La sensibilité et la spécificité affinées. Détection des anticorps IgG et immunoglobuline M (IgM).
Quatrième	Protéines recombinantes en tant qu'antigène et anticorps monoclonaux. Détection des anticorps IgM et IgG et l'antigène p24 du HIV ; par conséquent, une sensibilité accrue lors d'une infection précoce, c'est-à-dire pendant la séroconversion.

Source OMS ²⁰⁹

3. Suivi de l'infection

Le suivi des patients infectés par HIV est une étape clé pour la réussite des 2 derniers objectifs « 90 » et a pour but principal de retenir dans les soins toutes les personnes dont le diagnostic d'infection est confirmé, puis suivre leur évolution tout au long de la cascade de services de soins de l'infection, depuis l'inscription dans les soins, la mise en route du TAR jusqu'à la suppression durable de la charge virale ²¹⁰.

Les nouvelles recommandations cliniques et de prestation des services, entre autres : (i) un traitement de toutes les personnes dont l'infection par HIV est confirmée indépendamment de la numération des CD4 ou du stade clinique ; (ii) la mise en route précoce du TAR pour toutes les populations ; (iii) le suivi du TAR à vie ; (iv) un schéma thérapeutique privilégié de première intention ; (v) des schémas de deuxième intention pour les adultes, les adolescents et les enfants en cas d'échec du schéma de première intention ²¹⁰.

La numération des lymphocytes CD4+ de départ est utilisée (Figure 28) uniquement pour identifier les patients atteints d'une infection sévère ou avancée (à prendre en charge rapidement, à dépister pour rechercher d'autres infections opportunistes). Elle n'est donc pas utilisée à des fins de suivi ; cette numération est remplacée par un suivi de routine de la charge virale à 6, 12, 24, mois, etc..., ainsi que pour diagnostiquer et confirmer un échec thérapeutique le cas échéant ²¹⁰.

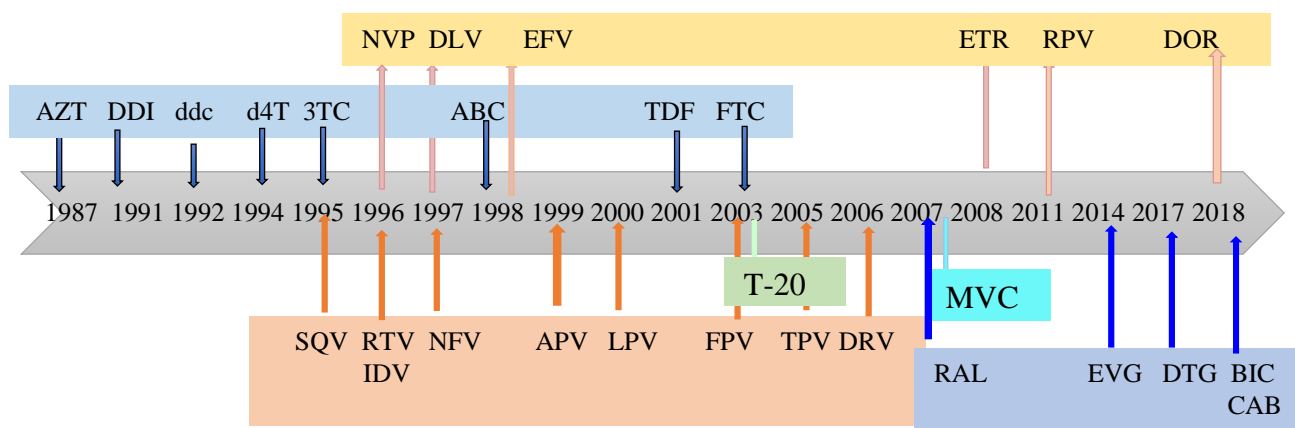


Figure 28. Les 6 événements sentinelles de la prise en charge des cas de HIV, d'après ²¹⁰.

4. Traitement antirétroviral

4.1. Molécules antirétrovirales disponibles

Les ARV sont regroupés en six classes de médicaments en fonction de la façon dont chaque médicament interfère avec le cycle de vie du HIV (Figure 29). Au sein d'une même classe, les caractéristiques pharmacodynamiques (mécanisme d'action sur la cible virale) et pharmacocinétiques (en particulier la pénétration et la diffusion tissulaire ainsi que les voies d'élimination) sont souvent proches et conditionnent le niveau d'exposition dans l'organisme. Elles incluent les inhibiteurs nucléosidiques /nucléotidiques de la transcriptase inverse (INTI), les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI), les inhibiteurs de la protéase (IP), les inhibiteurs de transfert de brin intégrase (INSTI), les inhibiteurs de la fusion (IF) et de l'entrée (IE).



INTI **INNTI** **IP** **IN** **IF** **IEC**

ABC : Abacavir, **AZT** : Zidovudine, **DDI** : Didanosine, **ddc** : Zalcitabine, **d4T** : Stavudine, **3TC** : Lamivudine, **TDF** : Ténofovir, **FTC** : Emtricitabine, **NVP** : Nevirapine, **DLV** : delaviridine, **EFV** : Efavirenz, **ETR** : Etravirine, **DOR** : Doravirine, **RPV** : Rilpivirine, **SQV** : Saquinavir, **RTV** : ritonavir, **NFV** : Nelfinavir, **APV** : Amprenavir, **LPV** : Lopinavir, **FPV** : Fosamprenavir, **TPV** : Tipranavir, **DRV** : Darunavir, **IDV** : Indinavir, **MVC** : Maraviroc, **T20** : Enfuvirtide, **RAL** : Raltegravir, **EVG** : Elvitegravir, **DTG** : Dolutegravir, **BIC** : Bictégravir, **CAB** : Cabotégravir

Figure 29. Liste des antirétroviraux disponibles avec leur année d'autorisation de la FDA.

4.2. Schéma(s) thérapeutique(s) préconisé(s)

4.2.1. En première ligne

Les nouvelles orientations sur les schémas de TAR privilégiés pour les adultes et les adolescents engagent à réduire la dose d'efavirenz en vue d'améliorer la tolérance, de réduire les coûts et d'opter pour la classe des inhibiteurs de l'intégrase dans les TAR de première intention. L'OMS recommande l'élimination de l'utilisation de la stavudine (d4T) dans les schémas de TAR de première intention et encourage l'association d'ARV en doses fixes en prise unique quotidienne. Les données pour les schémas de TAR de première intention privilégiés pour les enfants jusqu'à 3 ans et âgés de 3 ans à 10 ans ont été examinées et la qualité des données a été qualifiée de forte. Le tableau ci-dessous (Tableau 3) présente les schémas de TAR de première intention privilégiés et les autres options conseillées pour tous les groupes d'âge²¹¹.

Tableau 3 : schémas de TAR de première intention privilégiés et autres options conseillées.

TAR de première intention	Schémas de première intention privilégiés	Schémas de première intention alternatifs ^{1,2}
Adultes	TDF + 3TC (ou FTC) + EFV	AZT + 3TC + EFV (ou NVP) - TDF + 3TC (ou FTC) + DTG - TDF + 3TC (ou FTC) + EFV ⁴⁰⁰ -TDF + 3TC (ou FTC) + NVP
Femmes enceintes/allaitant au sein	TDF + 3TC (ou FTC) + EFV	AZT + 3TC + EFV (ou NVP)- TDF + 3TC (ou FTC) + NVP
Adolescents	TDF + 3TC (ou FTC) + EFV	AZT + 3TC + EFV (ou NVP) TDF (ou ABC) + 3TC (ou FTC) + DTG TDF (ou ABC) + 3TC (ou FTC) + EFV ⁴⁰⁰ ^{3,4,5} TDF (ou ABC) + 3TC (ou FTC) + NVP
Enfants à partir de 3 ans et de moins de 10 ans	ABC + 3TC + EFV	ABC + 3TC + NVP AZT + 3TC + EFV (ou NVP) TDF + 3TC (ou FTC) + EFV (ou NVP)
Enfants de moins de 3 ans	ABC (ou AZT) + 3TC + LPV/r	ABC (ou AZT) + 3TC + NVP

Source d'après OMS²¹¹.

¹ L'utilisation de la d4T devrait être éliminée des options de traitement de première intention pour les adultes et les adolescents.

² ABC ou les inhibiteurs de la protéase rehaussés (IP) (ATV/r, DRV/r, LPV/r) peuvent être utilisés dans certaines circonstances.

4.2.2. Schémas de TAR de 2^{ème} et 3^{ème} ligne

L'OMS insiste sur une approche de santé publique pour les TAR de deuxième et troisième intention. Les schémas thérapeutiques de deuxième intention privilégiés ainsi que d'autres options sont proposés, conformément aux principes d'optimisation des TAR, à la disponibilité des associations d'ARV en doses fixes, à la tolérance et au risque de mutations de résistance. Les nouvelles recommandations visent l'utilisation de DRV/r ou RAL avec LPV/r comme schéma TAR alternatif pour les adultes et les adolescents.

Un schéma thérapeutique de deuxième intention basé sur le RAL est recommandé pour les enfants après échec d'un schéma thérapeutique de première intention basé sur de la LPV/r. Les schémas thérapeutiques de troisième intention doivent comprendre de nouveaux médicaments, qui présentent le minimum de risque de résistance croisée avec les schémas thérapeutiques utilisés précédemment. Un patient en échec thérapeutique sous TAR de deuxième intention pour lequel on ne dispose pas de nouvelle option d'ARV doit continuer à recevoir un schéma thérapeutique bien toléré²¹¹.

Tableau 4 : options de deuxième et troisième lignes proposées par l’OMS, d’après ²¹¹.

POPULATION	1 ^{ère} INTENTION	2 ^{ème} INTENTION	3 ^{ème} INTENTION
Adultes et adolescents	2 INTI + EFV	2 INTI + ATV/r ou LPV/r 2 INTI + DRV/r	DRV/r ¹ + DTG (ou RAL) ± 1–2 INTI
	2 INTI + DTG	2 INTI + ATV/r ou LPV/r	DRV/r + 2 INTI ± INNTI
Femmes enceintes/allaitant au sein		2 INTI + DTG	2 INTI + DRV/r
	2 INTI + EFV	2 INTI + ATV/r ou LPV/r 2 NRTI + DRV/r	DRV/r + DTG (ou RAL) ± 1–2 INTI
Enfants	2 INTI + LPV/r	Si âgés de moins de 3 ans: 2 INTI + RAL ² Si âgés de plus de 3 ans : 2 INTI + EFV or RAL	DTG + 2 INTI DRV/r ³ + 2 INTI DRV/r + DTG ⁴ ± 1–2 INTI
	2 INTI + EFV	2 INTI + ATV/r ³ ou LPV/r	

INTI = inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse ; INNTI = inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse

Alors que les principes de la pharmaco-résistance sont les mêmes dans toutes les populations, les approches des tests de résistance aux médicaments et du changement de régime peuvent différer entre les pays à revenu faible, intermédiaire et élevé en raison de la disponibilité variable des tests de diagnostic et des ARV (voir chapitre « obstacles à surmonter » ci-dessous).

4.3. Efficacité des ARVs sur les réservoirs

La faible diffusion de certains antirétroviraux dans les tissus, peut contribuer à la constitution de réservoirs distincts pouvant abriter des formes latentes de HIV-1 chez des personnes sous TAR prolongé (Figure 30) ²¹².

4.3.1. Tractus génital féminin

Le HIV est détectable dans les cellules cervicales féminines et les sécrétions génitales de la plupart des patients non traités mais également être détecté chez 8 à 87,5% des femmes sous ARV efficace au niveau sanguin ²¹³, suggérant que certaines femmes pourraient avoir un réservoir de HIV séparé dans le tractus génital, peut-être en raison de la pénétration réduite de certains antirétroviraux ^{214,215}.

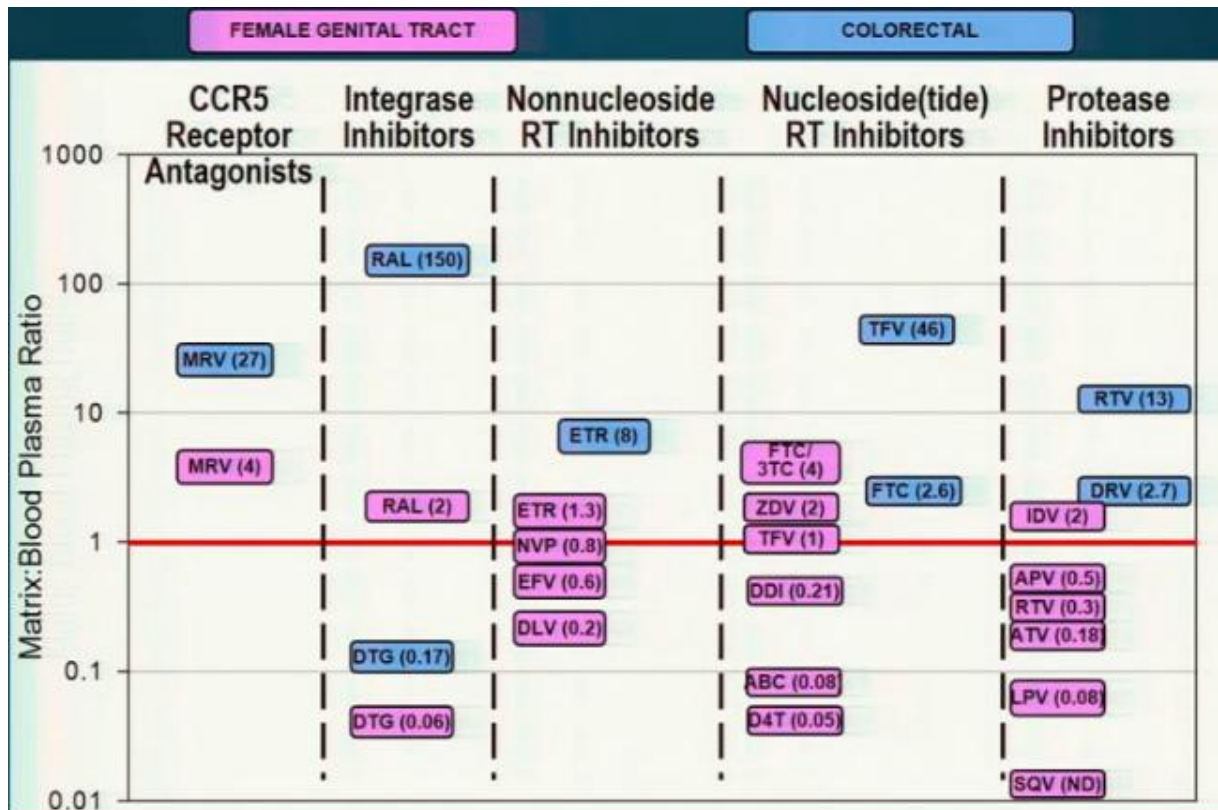


Figure 30. Données pharmacologiques des ARVs dans les tissus muqueux, d'après Kashuba et al. R4P meeting 2016 (SY03).

Dans l'étude prospective EP24 GYNODYN de l'ANRS, il est ressorti que l'ARN cervico-vaginal du HIV-1 était devenu indétectable chez plus de 90% des femmes à 6 mois sous multithérapie mais l'ADN génital du HIV-1 restait souvent détectable (27-50%). Près de 40% des femmes présentant un ARN plasmatique HIV-1 indétectable soutenu après 6 à 18 mois de traitement TAR, présentaient des ARN intermittent du HIV-1 (15% des femmes) ou de l'ADN de HIV-1 (31% des femmes) dans leurs sécrétions génitales ²¹⁶.

4.3.2. Rectum

L'existence d'un réservoir viral au niveau rectal a été mis en évidence chez des macaques infectés par RT-SHIV et sous TAR suppressif au niveau sanguin ²¹³. Les niveaux d'ARN et d'ADN du HIV dans les biopsies rectales semblaient stables pendant un an de traitement antirétroviral avec des cellules intestinales HIV+ en ADN deux fois supérieures à celles du sang ²¹³.

Une autre étude portant sur l'intensification du traitement antirétroviral à 1-2 ARV a suggéré que l'iléon ou d'autres sites intestinaux, pourrait être un site de répllication continue chez certains patients sous TARV ²¹⁷. Ceci est probablement lié à une faible

pénétration des ARV dans certains sites de l'intestin, ce qui pourrait entraîner une réplication virale localisée à faible concentration.

Dans une étude menée chez 10 patients chroniquement infectés par le HIV, sous TAR suppressif depuis plus de 1 an mais moins de 5 ans ont bénéficié de biopsie alors que le prélèvement sanguin a été effectué avant l'initiation du TAR. Des mutations conférant une résistance potentielle aux inhibiteurs de la protéase saquinavir / ritonavir et tipranavir (K20M, M36I, I62V, H69Q) et à l'étravirine (V106I, V179I) ont été détectées chez un patient. Les mutations aux analogues de la thymidine (TAM) D67N, L210W, T215A et T69D conférant une résistance aux inhibiteurs nucléosidiques de la zidovudine, du didanoside, de la stavudine, de l'abacavir et du ténofovir ont été détectés chez un autre patient. La mutation K103N a été obtenue dans le plasma sanguin et la biopsie rectale du même patient (avant et après initiation au TAR), conférant un niveau élevé de résistance à l'éfavirenz et à la névirapine. De légères différences ont été observées entre les profils de résistance chez quelques patients sur le gène de la protéase : L10I, K20I et / ou M36I, I62V, Q58E, A71T et A71V ²¹⁸.

La mutation T215D a été détectée dans le tissu rectal (après mise sous traitement) alors que T215W était présente dans l'échantillon de plasma sanguin (avant initiation du TAR) chez un patient. La mutation T210W a été observée dans la biopsie mais pas dans l'échantillon sanguin initial du patient. Il convient de noter la présence de la mutation M230I liée à la résistance à la rilpivirine dans la fraction de PBMC de ce patient. Cet homme avait reçu 2 schémas thérapeutiques successifs, le schéma en cours était l'emtricitabine, le ténofovir et la rilpivirine ²¹⁸. La muqueuse rectale peut intégrer des souches de HIV-1 résistantes à un traitement antirétroviral sélectionné pendant le traitement et participe à la non-atteinte des concentrations locales optimales de médicaments ²¹⁸.

5. Résistance aux antirétroviraux

La résistance est due à la présence de mutations sur le génome viral qui réduisent la sensibilité du virus par rapport à celle observée chez un virus sauvage. Il existe des modifications au niveau soit de la cible moléculaire de l'ARV (Ex : RT, protéase, intégrase) ou soit d'autres protéines virales qui interfèrent indirectement avec l'activité de la molécule antirétrovirale (ex : gène gag et résistance aux IP). La

probabilité de sélectionner une mutation associée à la résistance à un antirétroviral dépend de trois facteurs :

- le niveau de réplication du virus ;
- le taux d'erreur de la transcriptase inverse ;
- la présence d'un agent de sélection, l'antirétroviral à concentration suboptimale. Cette dernière peut être due à une mauvaise observance, à des interactions médicamenteuses, une posologie sous-dosée ou une mauvaise diffusion dans les tissus profonds par exemple.

5.1. Notion de barrière génétique

La barrière génétique d'un antirétroviral décrit la capacité à sélectionner des virus résistants à cet antirétroviral lorsque la réplication virale n'est pas contrôlée (Figure 31A). Cela comprend plusieurs notions combinant : (1) le nombre de changements nucléotidiques nécessaires pour obtenir une mutation de résistance, (2) l'impact de cette mutation sur le niveau de sensibilité à l'antirétroviral, (3) l'impact de cette mutation sur la capacité répliquative virale ; l'ensemble conditionnant la vitesse de sélection des variants résistants. La concentration plasmatique ou intracellulaire de l'antirétroviral influence de même l'émergence de résistance ²¹⁹.

Une molécule à barrière génétique faible nécessite une seule mutation pour augmenter le niveau de résistance phénotypique. À l'inverse, une molécule à barrière génétique élevée nécessite la sélection de plusieurs mutations pour atteindre un niveau de résistance phénotypique élevée.

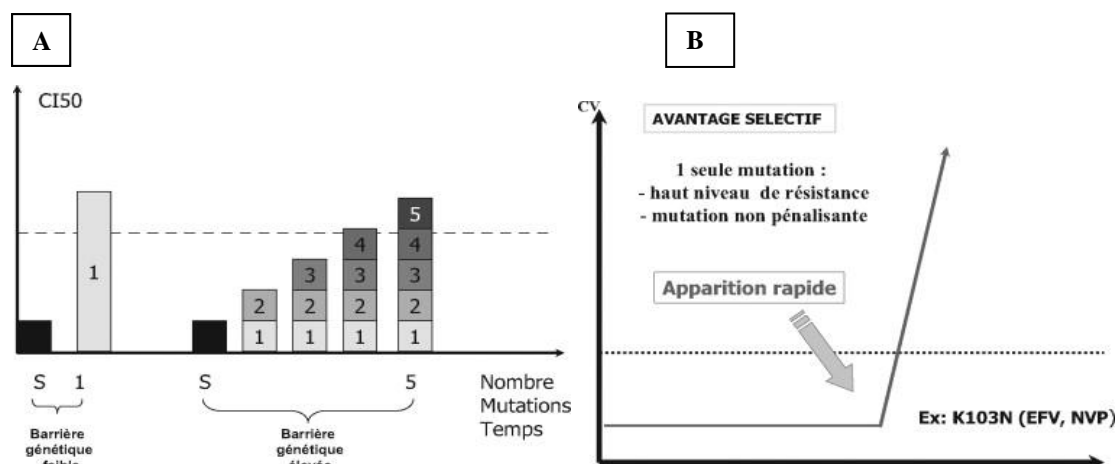


Figure 31. Notion de barrière génétique d'un ARV et impact du nombre de mutations sur la résistance phénotypique (A) et effet sur la CV d'une mutation conférant un haut niveau de résistance (B), d'après ²¹⁹.

Il est admis que la barrière génétique est faible pour la lamivudine/emtricitabine, l'éfavirenz et la névirapine ; elle est intermédiaire pour les INTI tels que la zidovudine et le ténofovir et les IIN de première génération ; elle est élevée pour les IP et les INN de deuxième génération ²¹⁹. Les mutations les plus courantes pour les INTI comprennent M184V / I, K65R, K70E / G, L74V, Y115F et Q151M et provoquent une résistance phénotypique de haut niveau à la lamivudine et à l'emtricitabine. Elles provoquent également une résistance croisée phénotypique de faible niveau à l'abacavir et, dans une moindre mesure, à la didanosine. Elles augmentent la sensibilité au ténofovir et à la zidovudine ²²⁰. La M184V est principalement sélectionnée par le ténofovir et, dans une moindre mesure, par la stavudine, l'abacavir et la didanosine. La K65R entraîne une résistance intermédiaire au ténofovir, à l'abacavir, à la didanosine, à la lamivudine et à l'emtricitabine, une faible résistance à la stavudine et une sensibilité accrue à la zidovudine ²²⁰.

Les mutations les plus communes des INNTI sont L100I, K101E/P, K103N/S, V106A/M, Y181CIV, Y188L, G190A/S/E et M230L. Une seule mutation est suffisante pour conférer une résistance croisée à l'éfavirenz et la névirapine sans altérer la capacité répliquative du virus : il s'agit de la K103N (Figure 36B) ²¹⁹. A l'exception de K103N/S et V106A/M, les mutations les plus courantes liées aux INNTI sont

également associées à une sensibilité réduite à l'étravirine et / ou à la rilpivirine.²²⁰ La mutation E138K a été observée chez environ la moitié des patients développant un échec virologique recevant de la rilpivirine²²⁰.

Les inhibiteurs de protéase dont la concentration plasmatique est augmentée par l'association au ritonavir ont une barrière génétique élevée avec peu de sélection de résistance. Plusieurs mutations sont nécessaires pour restaurer la réplication virale car certaines mutations impactent la capacité répliquative et d'autres la restaurent (exemple de la sélection de mutation majeure et mineure aux IP pour conférer une résistance en présence du ritonavir)²¹⁹.

La préexistence de certaines substitutions d'acides aminés telles que V32I, I54M, A71V et I84V dans la protéase du HIV-1 facilite le développement d'une résistance au DRV de haut niveau. Il convient de prêter attention à l'instauration ou à la poursuite de schémas thérapeutiques contenant du DRV chez les personnes atteintes du HIV-1 contenant la substitution V32I²²¹.

5.2. Polymorphisme et résistance naturelle de certains sous-types non-B aux ARV

Des résistances naturelles à certains antirétroviraux ont été décrites ; ainsi, les virus du groupe O HIV-1 sont résistants aux INNTI du fait de la présence polymorphique des mutations A98G, K103R et V179E, associées ou non à la mutation Y181C sur la transcriptase inverse⁵⁰. En outre, la diversité génétique des gènes du HIV-1 se traduit par un changement de séquence d'acides aminés de la protéase ou de la transcriptase reverse, qui peut modifier le niveau de résistance aux médicaments. Il est maintenant bien connu que de nombreuses mutations présentes sur le gène de la protéase de souches de sous-type non B en absence de TAR proviennent d'un polymorphisme naturel²²². Un impact délétère sur le succès thérapeutique n'a toutefois pas été clairement établi²²³. D'autre part des études récentes suggèrent la présence de la mutation E138A sur un grand nombre de sous-types non-B et en absence de traitement par rilpivirine, ce qui pourrait impacter à terme l'utilisation de cette molécule comme recours de 2^{ème} ou 3^{ème} ligne⁴⁸.

Au total, ce polymorphisme naturel est à prendre en compte dans les stratégies de traitement en Afrique Subsaharienne, ainsi que l'utilisation très fréquente des INNTI de première génération (efavirenz et névirapine), molécules à faible barrière génétique.

5.3. Tests génotypiques de résistance aux antirétroviraux

Les tests génotypiques permettent d'identifier les mutations présentes dans les gènes de la transcriptase inverse, de la protéase, de l'intégrase, de la boucle V3 et de la gp41. Après PCR, le séquençage des gènes par technique Sanger est la référence. Les protocoles les plus utilisés sont celui du groupe Résistance AC11 de l'ANRS décrit sur le site <http://www.hivfrenchresistance.org>, et celui d'une trousse commerciale (ViroSeq Genotyping, Abbott Molecular, <https://www.molecular.abbott/int/fr/products/infectious-disease/viroseq-hiv-1-genotyping-system>). Ce séquençage de type Sanger ne permet d'analyser que la population virale majoritaire, représentant au moins 20% de la population virale totale circulante dans le plasma. Les algorithmes d'interprétation des mutations doivent être «cliniquement validés» pour être pertinents. Il existe différents algorithmes d'interprétation qui reposent sur des études de corrélation entre le profil de mutations et la réponse virologique vis -à-vis de l'antirétroviral analysé. Les algorithmes du groupe Résistance évoluent en fonction des données disponibles réactualisées tous les 6 à 12 mois et sont disponibles sur les sites web: <http://www.hivfrenchresistance.org> et <http://hivdb.stanford.edu>.²²⁴

Les techniques de détection des populations virales minoritaires par séquençage haut-débit (NGS) sortent actuellement du cadre de la pratique clinique et sont réservées aux protocoles de recherche. Leur intérêt dans la prise en charge des patients reste à définir, bien que certaines trusses commencent à être disponibles sur le marché. Les approches phénotypiques sont quant à elles réservées à des laboratoires spécialisés et sont surtout utilisées dans le cadre de protocoles²²⁵.

Aucune interprétation consensuelle n'existe à ce jour et les experts ont parfois des opinions différentes. En conséquence, plusieurs algorithmes pour l'interprétation des informations sur la résistance génotypique du HIV-1 ont été conçus. L'évaluation de leur impact sur l'évolution clinique n'est pas toujours simple²²⁶. Les algorithmes d'interprétation génotypique les plus répandus sont : HIVdb (Stanford University Medical Center, CA, États-Unis) ; RetroGram (Virology Networks BV, Utrecht, Pays-Bas); Regalnst (Institut Rega de recherche médicale et d'hôpitaux universitaires de Louvain, Katholieke Universiteit Leuven, Belgique) ; ANRS AC11 (Agence Nationale

de Recherches sur le SIDA); et HIV-GRADe (développé par une initiative allemande de normalisation). Les 2 plus utilisés sont ceux de Stanford et de l'ANRS.

Celui de Stanford permet de comparer la séquence d'intérêt à celle de référence d'un sous-type B consensus, et les différences sont utilisées comme paramètres pour interroger la base de données sur la résistance aux médicaments anti-HIV. L'algorithme HIVdb attribue un score de pénalité pour chaque mutation de résistance²²⁷. Le programme utilise le score total du médicament²²⁷ et classe la résistance aux médicaments anti-HIV selon cinq niveaux : sensible, faible niveau de résistance potentielle, faible niveau de résistance, résistance intermédiaire et résistance de haut niveau²²⁸.

En ce qui concerne l'algorithme de l'ANRS, les règles sont présentées sous forme de tableaux énumérant les mutations conférant une résistance génotypique ou une éventuelle résistance génotypique aux médicaments anti- HIV et seront régulièrement mises à jour. On peut y accéder via le site Web <http://www.hivfrenchresistance.org> sur lequel des séquences complètes ou des mutations individuelles peuvent être saisies. Les règles des versions actuelles reposent presque exclusivement sur des données de corrélation entre les mutations de pharmacorésistance et les résultats virologiques provenant d'une vaste base de données sur les patients sous traitement antirétroviral²²⁷.

5.4. Données de résistance primaire

La résistance primaire aux ARV est définie comme étant liée à des mutations de résistance retrouvées en absence de TAR, à la découverte de la séropositivité ou au moment de l'initiation du traitement. Elle peut être liée à une contamination par une souche préalablement porteuse de mutations de type polymorphique ou issue d'une personne «source» en échec thérapeutique d'un ou plusieurs ARV.

Plusieurs études de résistance ont trouvé des taux variables selon les pays et selon les sous-types. Actuellement en Europe et en Amérique du Nord le taux de résistance primaire est estimé à environ 10%²²⁹.

En ce qui concerne la résistance aux INTI, une étude menée en Italie a rapporté un taux global de 11% (13,1% chez les porteurs du sous type B et 4,2% pour les non-B)²³⁰. En Angleterre la T215_{rev} était présente seule dans 47% des séquences²³¹. Au

Canada, elle était de 5% avec comme principales mutations : T215Y/F et M184V ²³². En Chine, une étude a retrouvé un taux de 1,5% avec comme mutations M184V et T215FY ²³³. Aux USA, une étude réalisée entre 1995 et 2010 montrait une diminution de la résistance de 15,5% à 2,7% avec comme principales mutations : M41L (3,7%), T215Y (4%) ²³⁰. Les principales mutations de résistance aux INTI trouvées en Afrique sont M184V/I, T215F/D et K219Q ²³⁴⁻²³⁸.

Au Canada la mutation K103N était présente chez 3,8%²³² de la cohorte. En Europe la K103N était la plus fréquemment retrouvée avec 2,9% de cas de mutations ²³⁹. La résistance aux INNTI a été observée en Italie chez 6% des patients²³⁵ (6,7% chez les porteurs du sous-type B et de 2,2% chez les porteurs du sous-type non B). Une autre étude italienne trouvait que 100% de HIV1 sous type C portaient la mutation K103Q, et 100% des CRF17_BF avaient des mutations K101E et E138K ²³⁶. En Chine, il y avait 2,3% de cas de résistance avec comme principales mutations Y181C, K103N et M230L²³³. La mutation la plus courante aux USA était K103N/S (4,7%). Cette prévalence a augmenté de 1,9% à 8,0% entre 1995 et 2010²³⁰. En Angleterre la K103N était présent dans 31%²³¹. En Afrique les mutations K103N, Y181C et Y188C/L sont les plus fréquemment retrouvées ^{234,236-238,240-248}.

Le taux de résistance aux IP est d'environ 2,0% en Europe²³⁹. Au Canada les mutations primaires V82A et L90M étaient respectivement de 2,5% et 3,8% présents chez les patients²³². En Chine, elle était de 2,3% avec la mutation I54T et des résistances de niveau intermédiaire et bas observées pour six IP (atazanavir (ATV), indinavir (IDV), lopinavir (LPV), nelfinavir (NFV), saquinavir (SQV) et tipranavir (TPV)²³³. En Angleterre, il y a la L90M dans 10 % ²³¹. Il y a eu très peu de mutation rapporté en Afrique, mais la I54L a été trouvée au Mali et au Cameroun ^{247,249} la M46I/L en Guinée équatoriale et au Kenya ^{243,246}.

Malgré la puissance, la tolérance et la durabilité des INSTIs de première génération, des mutations de résistance sont détectées jusqu'à 8% dans les essais cliniques étudiant des patients dans une étude de résistance primaire²⁵⁰. Eron J. et al., ont confirmé que les voies de mutation pour la résistance au raltégravir pourraient être différentes entre les deux sous-types CRF02_AG et B avec une utilisation préférentielle de la mutation 155 dans des sous-types non B ²⁵¹.

5.5. Émergence des souches résistantes dans les réservoirs

Il s'agit d'une question importante qui a une implication sur la morbidité/mortalité individuelle mais aussi au niveau collectif sur le risque potentiel de transmission. Quelques études ont évalué cet aspect dans les compartiments (Tableau 5). Dans une étude, portant sur 162 échantillons de spermes issus de patients naïfs de traitement, 13.6% de mutation ont été observées sur la protéase et la transcriptase inverse. Les principales mutations trouvées concernent les INNTI : K101P, K103N, Y181C, P225H; les INTI : M41L, D67N/G, insertion-T69, K70R, L74V, M184V, L210W, T215S/Y, K219E/Q ; et les IP : M46I, I54V, V82A, I84V, L90M²⁵².

Dans un autre travail, trois patients sur quarante un ayant une charge virale indétectable dans le plasma sanguin, avaient des mutations de résistance sur les souches séminales. La mutation A71V (sur le gène de la protéase) est trouvée chez un patient traité avec NFV-DDI-D4T. Des mutations ont été trouvées à la fois sur la reverse transcriptase et la protéase chez deux patients : un recevant NFV-3TC-D4T (avec comme mutations : M184I et M36I et L63P) et l'autre LPV/r-ABC-DDI-D4T (les mutations étaient : M41L T215Y, L10I, L63P, A71V, V82A, et L90M). Il y avait un patient qui avait les mêmes mutations dans le sang que dans le sperme ²⁵³. Des mutations ont été identifiées dans le sperme de 66,7% des patients traités et 50 % des patients non traités. Les profils de mutation différents entre les compartiments sanguin et sérial ont été trouvés chez 46,2 % des patients. Les molécules utilisées étaient : d4T, ddC, AZT, ddi, 3TC et les principales mutations trouvées sont : K70R, M184V. En outre, 30,8% des patients avaient deux mutations ou plus dans le plasma des sujets, mais aucun des patients n'avait plus d'une mutation dans le sperme ²⁵⁴.

Au niveau de la salive, une étude phylogénétique a montré à partir de 20 patients une forte homologie entre les séquences plasmatiques et salivaires (concordance génotypique moyenne > 99% au niveau des nucléotides et des AA). Dans le gène de la protéase (PR), neuf patients présentaient des mutations de résistance mineures (L10I, A71A V et A71V) sans mutations de résistance majeures. Une discordance de mutations dans la protéase entre le plasma et la salive a été observée chez cinq sujets ; dans chaque cas, une mutation mineure de PR a été trouvée dans le plasma qui n'était pas présent dans la salive. Dans la région de la transcriptase inverse (RT), six patients présentaient des mutations de résistance (D67N, K103N, V108I, V118I, E138A, G190A et T215S). Des différences dans les mutations de résistance à la RT

ont été observées entre les génotypes plasmatique et salivaire chez quatre sujets sur six²⁵⁹.

Tableau 5 : comparaison des profils de résistance observés entre le compartiment sanguin et génitale.

Auteurs	Année	Plasma Sanguin	Sécrétion génitale
<i>Soulie C et al</i> ²⁵⁵	2015	Pas de résistance observée	
<i>Béguelin C et al</i> ²⁵⁶	2014	Pas de résistance observée	
<i>Osborne et al</i> ²⁵⁷	2013	Le même profil dans les 2 compartiments	
<i>Gianella et al</i> ²⁵²	2013	Pas de mutation	K103N M41L D67N/G M184V I54V K219Q T215S/Y L90M
<i>Kemal et al</i> ²⁵⁸	2012	K103N, M184V, G190S	K103N, G190S A98V
<i>Liuzzi et al</i> ²⁵⁴	2004	K70R, 184V, L74V, T69D, M41L	K70R, M184V
<i>Solas et al</i> ²⁵³	2003	Charge virale indétectable	NFV DDI D4T (A71V) NFV, 3TC D4T (M184I M36I L63P) et LPV/r ABC DDI D4T (M41L T215Y L10I, L63P, A71V, V82A, L90M)

6. Les moyens de prévention

Les moyens de prévention couramment utilisés sont un élément important dans la perspective d'éradication de l'épidémie à HIV d'ici 2030 (Figure 32). Nous pouvons citer entre autres le dépistage élargi, la prophylaxie pré-exposition (PrEP), le traitement systématique des PVVIH (TasP pour *treatment as prevention*), le préservatif et la circoncision masculine.

6.1. La prophylaxie pré-exposition (PrEP)

La PrEP consiste en un traitement antirétroviral préventif qui peut être administré par voie orale ou par voie topique (on parle alors de microbicides).

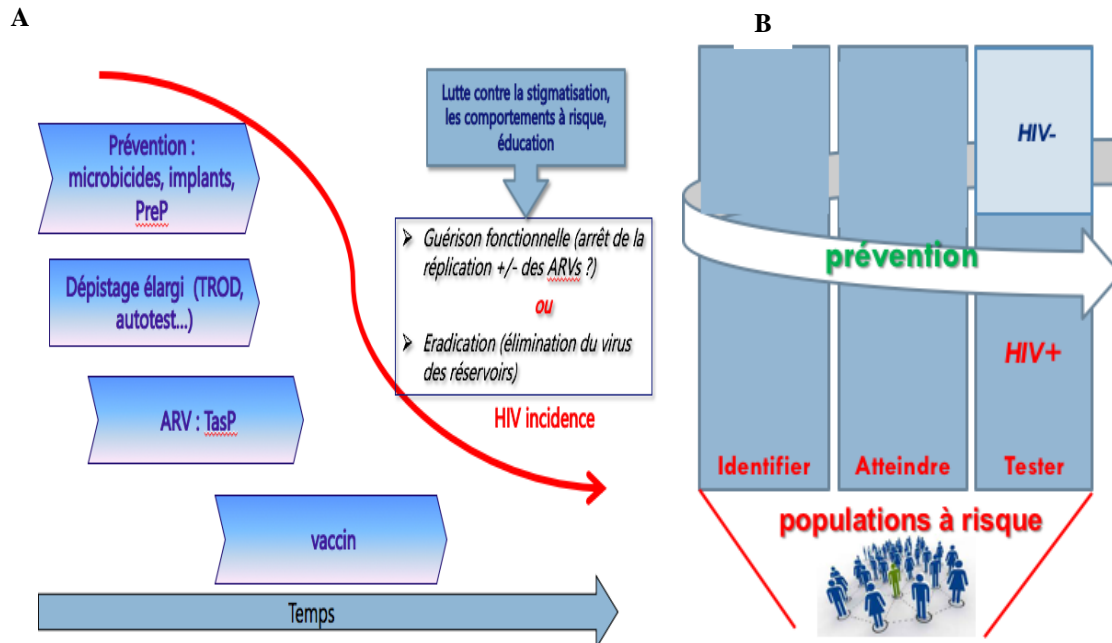


Figure 32. Prévention de l'infection par HIV : stratégie de réduction (d'éradication) de l'épidémie à l'horizon 2030 (A), moyens de lutte contre les facteurs à risque (B).

6.1.1. PreP par voie orale

La PrEP est une stratégie efficace de prévention du HIV ²⁶⁰. En 2012, la Food and Drug Administration des États-Unis a approuvé le Truvada (tenofovir + emtricitabine) pour la PrEP orale en une prise par jour. Dans ses lignes directrices, le CDC recommande que la PrEP soit considérée comme une stratégie de prévention pour les patients séronégatifs à « risque substantiel » d'infection par HIV dans trois groupes : HSH, adultes hétérosexuels et utilisateurs de drogues injectables. L'essentiel de l'attention et de la recherche sur la PrEP (efficacité, efficience, faisabilité et acceptabilité) a été axé sur les HSH ²⁶¹. Des études ont montré que lorsque la PrEP est respectée tel que prescrit, elle réduit les risques d'infection par

HIV à près de zéro ²⁶². L'adhésion, la surveillance et le coût du traitement ont été identifiés comme des facteurs importants ²⁶¹.

Cependant, de nombreux professionnels de la santé craignent une augmentation de rapports sexuels sans préservatif et des comportements à risque avec la prescription de la PrEP ²⁶¹. Dans le scénario du «test and treat » sans PrEP, la proportion de nouvelles infections évitées passerait de 6% en 2017 à 41% en 2021 ²⁶³.

Auerbach et al. ont constaté que moins de 10% des femmes participant à une étude qualitative étaient familiarisées avec la PrEP avant l'inscription à l'étude. D'autres croyaient que la PrEP était réservée aux hommes. Après avoir appris le schéma thérapeutique, les femmes ont manifesté un intérêt pour la PrEP ²⁶⁴.

Au total, il semble important que la PrEP soit proposée dans le cadre d'une combinaison d'initiatives de prévention basées sur des prescriptions personnalisées ²⁶⁵. De plus, les programmes complets de prévention devraient inclure la disponibilité sans entraves des préservatifs et des lubrifiants, le dépistage systématique, les conseils pour la réduction des risques et l'encadrement pour l'observance thérapeutique si la PrEP est proposée.

6.1.2. PrEP par voie topique

Les microbicides sont des composés antirétroviraux qui s'appliquent ou diffusent à l'aide de dispositifs dédiés au niveau vaginal ou rectal pour prévenir l'infection par HIV. Ils s'adressent donc principalement aux femmes. L'essai CAPRISA 004 en Afrique du Sud, a observé 39% d'infections en moins en général et 54% chez les femmes très adhérentes. L'analyse a porté sur 889 femmes, une partie a reçu du ténofovir et l'autre le placebo. Le gel de ténofovir était composé de 40 mg de 9-[(R)-2-phosphonomethoxy) propyl] d'adénine monohydrate (PMPA) dans une solution d'eau purifiée avec de l'édétate disodique, de l'acide citrique, de la glycérine, du méthylparaben, du propylparaben et de l'hydroxyéthylcellulose (HEC). Le gel placebo était le gel placebo HEC «universe », qui s'est avéré avoir une activité anti-HIV minimale. Le ténofovir et les gels placebo sont apparus identiques et ont été distribués dans les mêmes applicateurs vaginaux pré-remplis avec un emballage identique. Les femmes ont été invitées à insérer une dose de gel dans les 12 heures précédant le rapport sexuel et une seconde dose de gel dès que possible dans les 12 heures suivant le rapport sexuel et au maximum deux doses de gel sur une

période de 24 heures²⁶⁶. Ces résultats n'ont pas été retrouvés dans d'autres essais (étude VOICE par exemple), mais un certain nombre de facteurs ont été décrits comme associés à l'échec de prévention : un état inflammatoire local, une dysbiose au niveau vaginal et le manque d'adhérence au programme sont les principales explications à ces échecs²⁶⁷.

Le principal défi avec les microbicides est l'adhésion en d'autres termes, la création d'un produit que les femmes à haut risque d'infection peuvent utiliser régulièrement. Pour pallier une utilisation à base d'applications unitaires lors des rapports sexuels, il a été développé un certain nombre de dispositifs de diffusion à plus long terme (Figure 33), dont le principal est l'anneau vaginal²⁶⁸.

En 2016, deux grands essais cliniques - The Ring Study, qui a eu lieu en Afrique du Sud et en Ouganda et ASPIRE au Malawi, en Afrique du Sud, en Ouganda et au Zimbabwe ont montré que l'utilisation d'un anneau vaginal contenant la dapivirine réduisait les taux d'acquisition de HIV d'un tiers environ. Dans les deux études, les femmes âgées de plus de 21 ans utilisaient l'anneau de manière plus constante et, par conséquent, davantage de femmes de ce groupe d'âge étaient protégées. A contrario, l'incidence de l'infection par HIV chez les femmes âgées de 18 à 21 ans était plus élevée, car ce groupe d'âge était moins adhérent à l'anneau²⁶⁹.

6.1.3. Nouvelles approches

Il existe des approches en cours d'expertise à base d'implants sous-cutanés diffusant à long terme du TAF (forme de libération prolongée du ténofovir).

6.2. La prophylaxie post -exposition (PPE)

La prophylaxie post-exposition (PPE) est un traitement antirétroviral à court terme pris après une exposition possible au HIV. Depuis 1998, il est utilisé par des travailleurs de la santé susceptibles d'avoir été exposés à des liquides infectés par le HIV-1. Plus récemment, il a été utilisé en tant que prophylaxie d'urgence pour les personnes susceptibles d'avoir été exposées lors d'un seul événement (par exemple, agression sexuelle, rapports sexuels non protégés ou partage de matériel d'injection de drogue)²⁷¹.

Des recherches supplémentaires sont nécessaires sur l'efficacité de la PPE en tant que stratégie de prévention du HIV. Un essai du milieu des années 1990, qui donnait de la zidovudine aux travailleurs de la santé exposés au HIV, a empêché la transmission dans 81% des cas ²⁷².

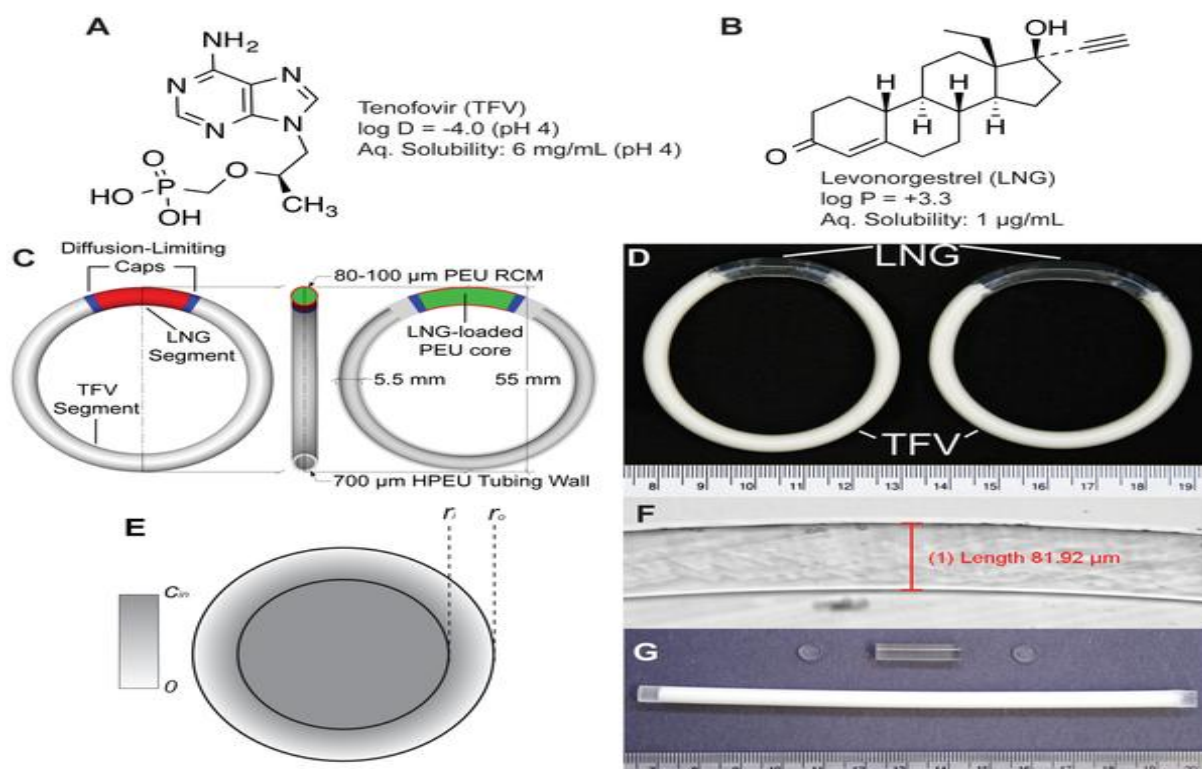


Figure 33. Présentation de la conception de l'anneau vaginal en polyuréthane segmenté à double réservoir pour la prévention simultanée de la transmission de HIV et de la grossesse non désirée, d'après ²⁷⁰. Formules structurales de (A) le ténofovir (TFV), inhibiteur nucléotidique de la transcriptase inverse du HIV-1, et (B) le lévonorgestrel (LNG), un contraceptif progestatif. (C) Un schéma de conception du TFV / LNG IVR complet, représenté dans la configuration du segment LNG de 20 mm illustrant le cœur chargé en LNG (vert), la membrane régulant la vitesse (RCM, rouge), les bouchons d'extrémité limitant la diffusion (bleu) et le tube HPEU creux contenant une pâte chargée de TFV (gris). (D) Photographies de TFV / LNG IVR dans les configurations de segments de LNG de 10 mm (à gauche) et 20 mm (à droite). (E) Illustration d'une coupe transversale du réservoir avec les rayons externe (r_o) et interne (r_i) et la concentration centrale de médicament (C_{in}) (F) Photomicrographie de la section transversale du segment de LNG montrant la mesure microscopique de l'épaisseur de RCM. (G) Éléments constitutifs du TFV / LNG IVR: un tube HPEU chargé de pâte en TFV (en bas), un segment de réservoir chargé de LNG extrudé coaxialement (en haut) et deux bouchons d'extrémité limitant la diffusion (gauche et droite).

6.3. Le traitement comme prévention (TasP)

Le TasP concerne des personnes séropositives et suivies. Il s'inscrit dans la stratégie « test and treat », qui vise à associer le dépistage étendu et le traitement pour combiner le bénéfice individuel (amélioration de la santé) avec le bénéfice collectif apporté par la diminution des risques de transmission ²⁰⁶.

L'efficacité du TasP a été tout d'abord bien établie dans le domaine de la prévention de la transmission materno-foetale (PTME) au cours de la grossesse ou en traitement post-exposition (TPE) ce qui a conduit à envisager une place nouvelle pour les traitements dans la prévention ²⁰⁶. Un essai clinique a été mené auprès de couples sérodiscordants (étude HPTN 052). Les résultats de cette étude ont confirmé les recommandations mondiales concernant l'utilisation du traitement comme moyen de prévention chez les couples sérodiscordants. Les résultats d'une étude portant sur l'utilisation du traitement antirétroviral parallèlement à la PrEP pour les couples hétérosexuels à statut mixte du Kenya et d'Ouganda ont révélé que la combinaison de ces deux outils avait un fort impact préventif sur le HIV. Environ 1 000 couples ont participé à l'essai, dont 65% ont eu des relations sexuelles non protégées au cours du mois écoulé. À la fin de l'étude, quatre nouvelles infections par le HIV étaient survenues, contre 83 dans le lot qui était sans traitement antirétroviral ou sans PrEP. Cela équivaut à une réduction de 95% de la transmission du HIV ²⁷³. Un TasP efficace combiné à d'autres interventions pourrait contribuer à réduire davantage les transmissions ²⁶³.

Il existe néanmoins quelques obstacles à cette stratégie. Par exemple, l'étude PARTNER a montré que la stigmatisation, la discrimination et d'autres violations des droits de l'homme dissuadent les personnes de demander des tests et des traitements et compromettent également leur capacité à adhérer au traitement antirétroviral.²⁷⁴ Une autre étude menée aux États-Unis a indiqué que 15 ans après le début du traitement antirétroviral hautement actif et quatre ans après l'introduction de la prévention combinée, seulement 19% des 1,1 millions de PVVIH en 2011 dans le pays avait une charge virale indétectable ²⁷⁵.

On craint également que l'utilisation généralisée de TAR au niveau de la population pour réduire le nombre de nouvelles infections par HIV puisse conduire à une augmentation significative des niveaux de résistance aux antirétroviraux, en raison notamment des interruptions du traitement et des difficultés d'observance ²⁷⁶. Le

succès du traitement en tant que prévention dépend donc fortement de l'adhésion des personnes à leur traitement.

6.4. La circoncision masculine

Plusieurs suggestions ont été faites pour expliquer la vulnérabilité du prépuce à l'infection par le HIV. L'épithélium interne du prépuce est muqueux, il a été constaté qu'il est dépourvu de kératine protectrice et qu'il contient des cellules de Langerhans et des cellules T qui expriment le récepteur du HIV, CD4 (Figure 34) ²⁷⁷.

Les essais contrôlés randomisés hautement souhaités ^{278,279} n'auraient pas eu lieu s'il n'y avait pas déjà eu de nombreuses preuves d'observation attestant de la capacité de la circoncision masculine à prévenir la transmission du HIV.

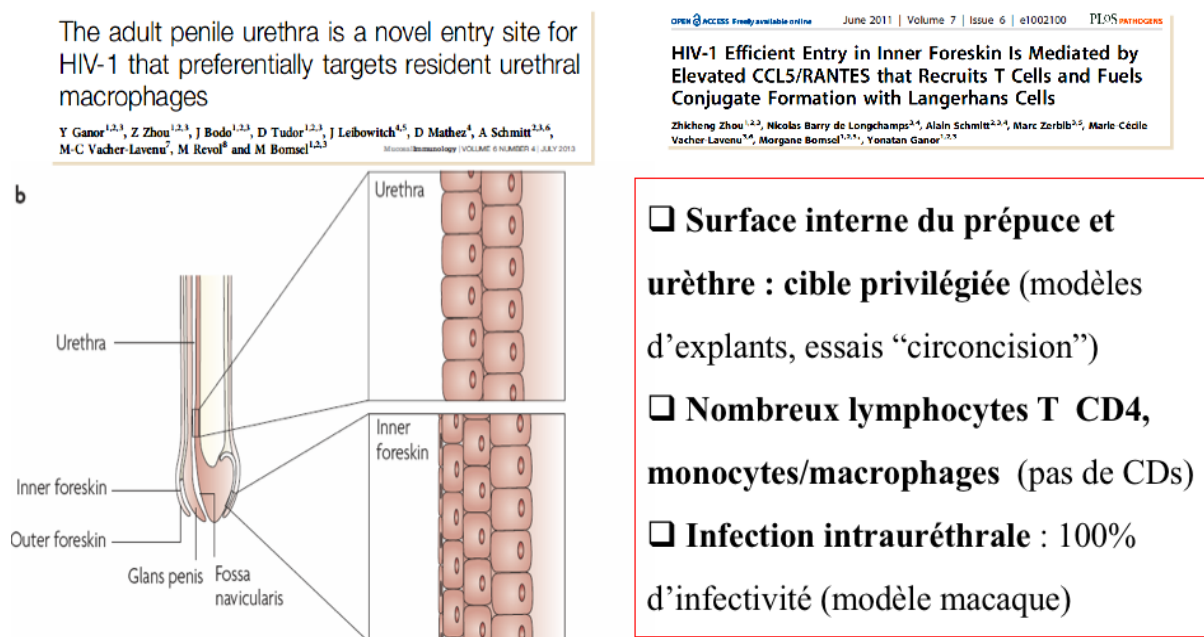


Figure 34. Sensibilité du prépuce à l'infection par HIV, d'après ^{280, 281}.

Dans 15 études corrigées pour tenir compte des facteurs confondants, la réduction du risque relatif ajusté était de 0,42 (IC à 95%: 0,34-0,54) ²⁸². Une revue systématique Cochrane en 2005 a évalué la qualité de 37 études sur la circoncision masculine et HIV. Bien que les différentes méthodologies aient montré des résultats variables, l'effet protecteur de la circoncision était soutenu de manière cohérente ²⁷⁷. En 2005 et 2007, l'efficacité de la circoncision dans la prévention du HIV a été vérifiée au-delà de tout doute raisonnable par les résultats de trois grands études de

référence en matière de recherche épidémiologique en Afrique du Sud, au Kenya et en Ouganda^{278,279}. La prévalence du HIV dans les pays d'Asie du Sud et du Sud-Est, où pratiquement tous les hommes sont circoncis (Bangladesh, Indonésie, Pakistan, Philippines) reste extrêmement faible bien que, dans les grandes lignes, les facteurs de risque pour le HIV et les IST soient les mêmes qu'ailleurs dans la région. En Afrique subsaharienne, les pays dans lesquels la proportion d'hommes circoncis est relativement faible (<20%), la prévalence du HIV est plus élevée que dans ceux où il y a une forte proportion d'hommes circoncis (> 80 %). Dans les pays d'Afrique de l'Ouest, où la circoncision est courante, les taux de prévalence du HIV sont bien inférieurs à ceux observés dans les pays d'Afrique orientale et australe, malgré d'autres facteurs de risque²⁸³.

Cependant, en disant que la circoncision est susceptible de les protéger du sida, beaucoup d'homme vivant en Afrique de l'ouest surtout, pourraient se sentir protégés, et croire qu'ils peuvent se passer des moyens de protections car la quasi-totalité est circoncis, compte tenu des croyances culturelles.

7. Obstacles à surmonter

Par rapport aux objectifs cibles 90-90-90 et 95-95-95 il existe un certain nombre d'obstacles à surmonter dans les domaines de la prise en charge des PVVIH, notamment les populations vulnérables, l'adhérence à la prise en charge ainsi que la disponibilité des tests virologiques de dépistage et de suivi.

7.1. Défaut de prise en charge de certaines populations-clés

Parmi les populations-clés, certains obstacles à l'accès aux services de santé pour des raisons liées au genre sont souvent négligés :

- Un pourcentage croissant de consommateurs de drogues injectables sont des femmes. Or, de nombreux programmes liés à la consommation de drogues sont conçus à l'intention des hommes uniquement. Ainsi, dans certains pays, les services de réduction des méfaits et les traitements antirétroviraux sont disponibles dans les prisons pour hommes uniquement, pas dans les prisons pour femmes. De même, les consommatrices de drogues sont exclues des

programmes de prévention de la transmission (du HIV) de la mère à l'enfant dans certains endroits ²⁸⁴.

- Les transgenres, en particulier les femmes transgenres, sont victimes de violences et de dénis de services de santé dans des proportions alarmantes. Même quand elles ont accès à ces services, le rejet social et la discrimination que leur opposent les professionnels de santé nuisent aux efforts des programmes nationaux de santé qui cherchent à aider les patients à suivre leur traitement jusqu'à son terme.

Les mauvais traitements infligés aux populations-clés et leur abandon ont fait que les ressources qui leur sont allouées sont insuffisantes et que la conception de programmes ne s'appuie ni sur des éléments probants, ni sur des droits. Le rejet social, la discrimination, la privation des droits élémentaires et la pénalisation des populations-clés nuisent à la réalisation des objectifs des programmes nationaux. Des données provenant de sources variées montrent que les lacunes dans la cascade 90–90–90 sont plus importantes chez les hommes, les jeunes et les populations clés ²⁰³. Des normes sexo-spécifiques néfastes contribuent à une prise de risque plus importante et à une prise en charge sanitaire plus faible chez les hommes. Les lois sur le consentement et l'accès insuffisant à une éducation sexuelle complète privent les jeunes des services et des connaissances dont ils ont besoin pour se protéger de HIV et des IST. Les populations clés sont souvent confrontées à une criminalisation et à des niveaux élevés de stigmatisation et de discrimination.

Le comblement des lacunes dans la couverture des services nécessite des efforts pour que les hommes rejettent les normes néfastes de la masculinité, et que les femmes et les filles, les jeunes et les populations clés soient autonomisés afin de renforcer leurs droits humains.

La pénalisation des personnes séropositives est en hausse. Au moins 63 pays ont adopté des lois spécifiques à la séropositivité et 17 d'entre eux ont poursuivi des individus au titre de ces lois. En 2000, aucun pays d'Afrique n'avait de loi pénale spécifique au HIV. Aujourd'hui, l'Afrique est le continent qui compte le plus de pays ayant adopté des lois pénales spécifiques au HIV (27), suivi de l'Asie (13), de l'Amérique latine (11) et de l'Europe (9) ²⁸⁵.

7.2. Problèmes d'adhérence à la prise en charge

Des auteurs décrivent un programme rwandais de TAR dans lequel 92% des patients ont été mis sous traitement et suivi pendant deux ans, et seulement 3% ont été perdus de vue ²⁸⁶. Leur programme traitait des étapes spécifiques de la cascade de soins, y compris l'allocation de transport et les visites des agents de santé communautaire (ASC) pour augmenter la rétention, et la prestation de TAR assistée directement par les ASC. Tous les perdus de vue, n'abandonnent pas forcément le traitement comme le stipule, Geng et al. ²⁸⁷ qui ont suivi une cohorte à Mbarara, en Ouganda, dans laquelle 39% des patients sous TAR ont été perdus de vue en trois ans. Ils ont constaté que parmi les patients dont les résultats ont été recueillis, 36% étaient décédés dans l'année et 83% des patients restants avaient visité un établissement de santé différent au cours des trois mois précédents.

Une analyse des résultats de 33 cohortes de patients sous TAR dans 13 pays de l'Afrique subsaharienne a estimé la proportion de personnes continuant le traitement à 80 % à six mois, 75 % à douze mois et 62 % à vingt-quatre mois ²⁸⁸. Ce qui signifie que deux ans après avoir débuté un traitement 38% des personnes ne le prennent plus. Après analyse de l'ensemble de ces abandons, environ 40 % correspondent à des décès, ce qui laisse un nombre non négligeable de patients en vie et ayant cessé leur traitement. Un constat repris par l'OMS, qui précise que « même lorsque les médicaments sont distribués gratuitement, les honoraires pour les services et le coût des examens biologiques et autres prestations supportés par les usagers sont liés à une moindre rétention ». Dans l'étude ANRS 1215 menée au Sénégal, il y a eu 30 perdus de vue seulement (pour un total de 400) sur plus de dix ans de suivi, ce qui est exceptionnel. Treize sont des abandons, 13 sont partis en voyage et 4 sont de vrais perdus de vue. Le premier facteur de survie des patients était leur intégration au sein d'un tissu associatif, car cela crée une sorte de filet de protection autour de l'individu, qui lui permet de ne pas « échapper » à la prise en charge ²⁸⁹.

7.3. Dépistage et suivi de la charge virale

Bien que les lacunes de la cascade du dépistage et de la prise en charge thérapeutique se soient réduites, plus de la moitié des PVVIH n'ont pas un taux de charge virale supprimé, et le pourcentage de patients atteints de la maladie au stade

avancé lors de l'initiation du TAR (nombre de cellules T CD4+ inférieur à 200 cellules/ mm³) reste alarmant dans de nombreux pays ²⁰³.

Le dépistage de 90 % de toutes les PVVIH d'ici 2020 est le premier objectif de l'initiative « 90-90-90 ». A l'échelle mondiale, les progrès réalisés dans l'amélioration de la connaissance du statut sérologique en 2016 étaient faibles comparées aux progrès réalisés dans les 2 autres « 90 » de la cascade. Le défaut de dépistage concerne principalement les personnes jeunes et les hommes ²⁰³. On estime qu'en Afrique subsaharienne, 10% seulement des jeunes hommes et 15% des jeunes femmes (15-24 ans) connaissent leur statut ²⁹⁰. Quand le dépistage est faible, les efforts successifs pour assurer le lien avec les services de prise en charge, de soins et d'observance seront touchés.

En ce qui concerne le suivi virologique de l'infection, en 2016, quarante-cinq pays rapportaient que le nombre total de personnes sous TAR ayant accès au test de CV s'est accru de 4,4 à 8,1 millions entre 2015 et 2016. Malgré ces progrès, dans le monde, moins de la moitié des PVVIH sous traitement bénéficient de contrôles périodiques de la CV. La couverture de la CV est beaucoup plus élevée en Amérique latine, en Europe de l'Est et en Asie centrale et les progrès récents en Afrique orientale et australe sont encourageants. Mais au total, moins d'un patient sur cinq en a bénéficié en Afrique de l'Ouest et du Centre ainsi qu'en Asie et dans le Pacifique ²⁰³.

Le coût, les problèmes de maintenance, la rupture de la chaîne froid (pannes électriques), les ruptures de stock des réactifs, le manque de formation du personnel de laboratoire sont les principales raisons au défaut d'implantation des tests de charge virale en routine.

Au total, une action spécifiquement ciblée sera nécessaire pour surmonter les obstacles au passage à échelle du traitement (population cible) du dépistage (diagnostic précoce et population clé) et de réalisation de la charge virale (dans les pays à ressource limités). L'occasion s'offre aux pays de franchir une étape décisive dans leur lutte contre l'épidémie de sida, s'ils agissent rapidement et avec détermination pour atteindre les cibles ambitieuses fixées pour 2020. Il faudra tenir compte de toute la population, mais surtout les groupes clés. Les défis de l'augmentation de la charge virale ont été identifiés, y compris les faiblesses du

transport d'échantillons et le flux de travail de laboratoire ; les moyens financier soutenant l'approvisionnement ; la pénurie de ressources humaines ; la maintenance du matériel de laboratoire ²⁹¹.

8. Moyens à mettre en œuvre

Les stratégies et les objectifs à atteindre d'ici 2020 sont politiquement entérinés par les pays, mais il n'y a pas une réelle appropriation et une contextualisation au niveau national. Sinon il y aurait moins de rupture en médicaments, en tests de diagnostic et consommables. L'adoption du plan de rattrapage pour l'Afrique de l'Ouest et du Centre par les Chefs d'État de l'Union africaine est une étape essentielle vers la mobilisation et l'appropriation par les pays de la région ²⁹². L'établissement de repères annuels pour la connaissance du statut sérologique, l'utilisation de la thérapie antirétrovirale, la suppression virale et la mise en place de solides systèmes pour le suivi des résultats dans tout le continuum de soins seront essentiels pour stimuler les progrès vers les nouvelles cibles ambitieuses.

L'accélération implique d'atteindre les objectifs intermédiaires 90-90-90 d'ici 2020 ensuite d'accroître ces chiffres à un ratio de 95-95-95 d'ici à 2030. Ce programme de mise en œuvre à l'échelle mondiale piloté localement cible en particulier les 30 pays où l'on enregistre le plus grand nombre de nouvelles infections à HIV soit 89% du total de nouvelles infections ²⁰⁴.

Les objectifs de 2020 ne pourront être atteints que si les investissements augmentent, à la fois au niveau national et de la part des pays donateurs. L'Afrique de l'est et australe a vu d'importants investissements nationaux et internationaux s'accompagner d'un fort d'engagement politique et d'une forte participation communautaire. Cette région a sensiblement progressé vers les objectifs 2020 ²⁰⁵. De plus en plus de pays adoptent une approche d'investissement qui concentre les ressources sur les programmes les plus efficaces et sur les populations et les contextes géographiques présentant les besoins les plus importants ²⁰⁴.

8.1. Elargir et améliorer le dépistage

Pour combler les lacunes du dépistage, il faut en faire une priorité et exploiter pleinement les nouvelles technologies et stratégies de prestation de services. Le dépistage du HIV doit pouvoir avoir lieu à tous les niveaux du système de santé : au niveau communautaire (niveau 0) ou dans des établissements (Figure 35) de soins primaires (niveau 1) en particulier. La pyramide de diagnostic de l'OMS a récemment ajouté le niveau 0 pour les tests basés sur la non-aptitude afin d'étendre les tests de diagnostic rapide dans les programmes de proximité. Le déploiement rapide et la promotion de l'auto-dépistage constituent l'une des stratégies pour déplacer l'offre des services vers les milieux communautaires. Le diagnostic précoce du nourrisson au centre de santé ²⁰³, le dépistage de tous les enfants qui fréquentent une structure sanitaire (dans les zones de forte prévalence) et le dépistage virologique à la naissance sont des occasions supplémentaires d'accroître la connaissance du statut sérologique chez les adultes et les enfants vivant avec HIV ²⁰³.

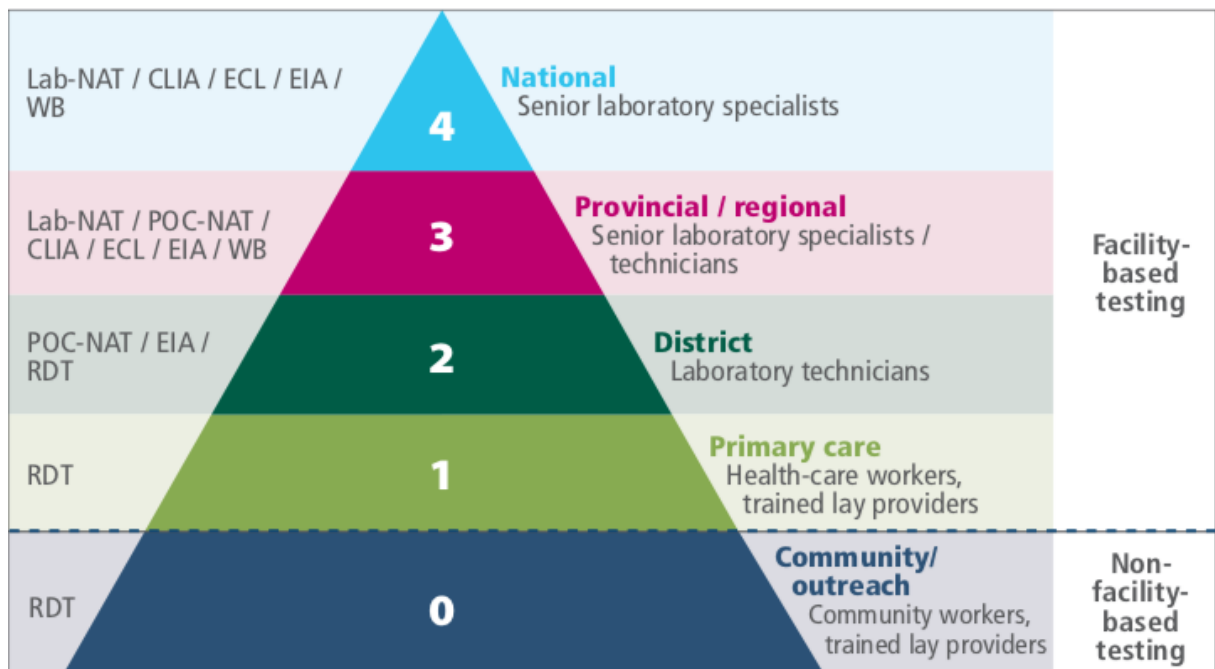


Figure 35. Pyramide de dépistage élargi, tests disponibles et qualifications du personnel, d'après l'OMS ²⁰⁹.

Lab-NAT: tests en laboratoire sur les acides nucléiques ; POC-NAT : analyse des acides nucléiques au point de service ; CLIA : dosage immunologique par chimiluminescence ; ECL : dosage immunologique par électrochimiluminescence ; EIA : dosage immunoenzymatique ; WB : Western blot ; RDT: test de diagnostic rapide.

8.1.1. La stratégie “ tester pour trier”

Le test de triage est une approche visant à fournir les services de dépistage du HIV à base communautaires par des prestataires non professionnels. Dans cette approche, ces prestataires (non professionnels) sont formés et soutenus pour réaliser un seul test de dépistage du HIV. Cette approche communautaire est nécessaire, en particulier pour atteindre les populations à risque élevé qui, n'ont souvent pas accès aux services de dépistage du HIV de prévention, ou de traitement et aux soins.

Si ce seul test est positif (A0+), l'individu est rapidement orienté vers un établissement pour un test HIV ultérieur, conformément à l'algorithme national validé en commençant par A1 (Figure 26).

Les personnes ayant un résultat de test négatif (A0-) sont diagnostiquées séronégatives, orientées vers des services appropriés de prévention du HIV.

Bien qu'il soit peut-être idéal de fournir un diagnostic définitif dans un contexte communautaire, il peut être difficile de mener correctement deux ou trois tests rapides pour chaque individu avec un résultat positif lors du test initial ²⁰⁹.

8.1.2. Le test rapide d'orientation diagnostic (TROD)

Il y a plus de 10 ans, le test ELISA du HIV en laboratoire était la seule méthode de test disponible. La commercialisation d'un test de diagnostic rapide du HIV est devenue un test révolutionnaire sur le lieu des soins, permettant la décentralisation des tests. Tous les tests approuvés du HIV doivent avoir une sensibilité et une spécificité correspondant aux kits ELISA utilisés dans les laboratoires. Les tests rapides les plus fréquemment utilisés nécessitent peu ou pas de réactifs et sont généralement bon marché et les résultats sont obtenus dans les 30 minutes ²⁹⁴. Les tests rapides peuvent détecter les anticorps anti-HIV à partir d'un volume infime de sang total, de sérum, de plasma, d'urine ou de salive.

Entre 2010 et 2014, six cent millions d'adultes ont été dépistés pour HIV avec des tests rapides dans 120 pays à revenu faible ou intermédiaire ²⁹⁵. En France, la proportion de TROD HIV sur l'ensemble des personnes ayant eu un dépistage en 2012 était de 11% et 26 % en 2013, soit une augmentation de 56% ²⁹⁶. Une montée en charge progressive du nombre de dépistages par TROD a été observée, entre 2012 et 2014. Elle s'est accompagnée d'une évolution des types d'actions menées dans les locaux des associations ou «hors les murs» et d'une diversification des

publics touchés par le dépistage. Le dépistage par les pairs dans les populations à très forte incidence pour le HIV, préconisé dans le plan national de lutte contre le HIV/sida et les infections sexuellement transmissibles (IST) 2010-2014, semble avoir trouvé sa place dans le dispositif de dépistage en France ²⁹⁷.

8.1.3. Mise à disposition d'auto-tests

L'auto-test est un processus par lequel une personne qui veut connaître son statut HIV recueille un échantillon, effectue un test et interprète le résultat lui-même, souvent en privé. Il ne fournit pas de diagnostic définitif, c'est un test initial (A0), comme dans l'approche «test pour trier». L'autotest ne peut pas remplacer le besoin du premier test HIV dans l'algorithme national de test validé.

L'auto-dépistage du HIV est une stratégie innovante élargissant l'accès aux services de dépistage pour atteindre ceux qui pourraient ne pas être testés pour le HIV. En juillet 2016, il y avait quatre tests de dépistage rapide du HIV²⁹⁵ sur le marché des pays développés, dont 3 réalisables avec le sang total :

- Autotest HIV (AAZ Labs; Rungis-Cedex, France) ;
- BioSURE HIV Self Test (BioSURE; London, United Kingdom) ;
- INSTI HIV Self Test (bioLytical Laboratories; Richmond, British Columbia, Canada).

Et un réalisable avec la salive :

- OraQuick In-Home HIV (OraSure Technologies Inc.; Bethlehem, Pennsylvania, USA) Test ²⁹⁵.

L'autotest constitue une stratégie complémentaire nouvelle pour le dépistage du HIV au sein de la population générale et des groupes à risque (professionnel(les) du sexe et leurs clients, hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes, jeunes adolescents). Depuis décembre 2016, l'OMS recommande désormais l'autotest HIV comme un moyen complémentaire aux services de dépistage de l'infection à HIV.

En Afrique, les premières études pilotes, principalement menées dans plusieurs pays anglophones, démontrent une bonne acceptabilité et praticabilité et d'excellentes performances cliniques de l'autotest HIV. Des stratégies novatrices comme la traduction des notices d'utilisation en langues vernaculaires associée à des

pictogrammes pédagogiques devront être mises en œuvre et évaluées en Afrique subsaharienne pour le développement de ces autotests ²⁹⁸.

Les personnes dont le résultat de l'autotest HIV est positif doivent s'adresser aux services nationaux de dépistage, de confirmation et de prise en charge adaptée. L'autotest HIV supervisé est la stratégie souhaitée pour limiter les risques d'erreurs chez les personnes peu éduquées ou illettrées ²⁹⁸. L'autotest salivaire était généralement préféré en contexte africain parce qu'il est non invasif et très simple d'utilisation ²⁹⁹.

Cependant, dans des régions de faible prévalence de l'infection à HIV, l'autotest sanguin (goutte de sang ou sang capillaire) pourrait être préférable à cause de sa sensibilité améliorée par rapport au test salivaire. Depuis 2017, une réglementation formelle concernant l'autotest HIV existe dans quelques pays africains, en développement dans d'autres pays voire une tolérance non réglementaire vis-à-vis de la dispensation officieuse de l'autotest HIV. Le marché potentiel de l'autotest est en évaluation dans neuf pays africains (Afrique du Sud, Kenya, Malawi, Mozambique, Nigeria, Ouganda, Tanzanie, Zambie et Zimbabwe) dans le cadre du programme pilote Self-Testing African Project (STAR) depuis 2015 ²⁹⁸. Une étude sur la distribution à base communautaire des autotests du HIV au Malawi a fait état d'une acceptation de 77% au niveau de la population sur une période de deux ans ³⁰⁰. Les taux d'autodiagnostic étaient les plus élevés parmi les groupes d'âge les plus jeunes et près de la moitié des personnes ayant subi un test étaient des testeurs. Au Zimbabwe, une étude de la distribution au niveau communautaire a révélé des niveaux élevés d'utilisation, y compris chez les hommes, dans un district rural ²⁹⁵. Au Kenya, 75 à 91% des femmes enceintes et des travailleuses du sexe, à qui le test a été proposé mais aussi pour leur partenaire sexuel, ont rapporté une distribution secondaire du kit autotest du HIV ³⁰¹. Des études supplémentaires pour évaluer la prévention et la liaison avec les soins pour le traitement sont actuellement en cours. Le suivi de l'adoption et de la mise en œuvre des lignes directrices de l'OMS en 2017, dans 139 pays à revenu faible ou intermédiaire, révèle que 27% avaient mis en œuvre une politique sur l'auto dépistage du HIV ou étaient en phase d'élaboration ³⁰².

8.1.4. Utilisation du sang séché sur papier buvard ou Dried blood spot (DBS)

L'un des principaux avantages du prélèvement sanguin sur papier buvard est qu'il permet l'accès au prélèvement sanguin dans des situations où le prélèvement est difficile (éloignement géographique). Il s'agit d'un support permettant de s'affranchir d'un certain nombre d'étapes (prélèvement au pli du coude, centrifugation/décantation, conservation avec la chaîne du froid...) et utile à la fois dans le domaine du dépistage et celui du suivi virologique de l'infection.

Bien que le fait d'utiliser des gouttes de sang séchées soit accompagné d'une certaine perte de sensibilité, il pourrait s'agir de la meilleure solution étant donné que les moyens sont déjà insuffisants en ce qui concerne les tests de charge virale à travers l'Afrique subsaharienne ^{303,304}. La mise en place d'un circuit facilitant l'acheminement des échantillons de plasma et ou de DBS des sites de prise en charge vers les laboratoires réalisant la charge virale. Ce même circuit devrait permettre le rendu des résultats des laboratoires vers les sites de prises en charge des patients, afin de raccourcir les délais de rendu des résultats et améliorer la prise en charge des patients. Il ne faudra toutefois pas perdre le contact avec les patients mis sous traitements ARV et qui sont sans contrôle virologique.

Le prélèvement type sur DBS est un spot contenant environ 50 µL de sang prélevé par piqure au bout du doigt, sur un disque ayant une superficie moyenne de 12 mm². Après séchage et conservation dans un sachet hermétique contenant un dessiccant, il permet l'analyse de différents composés tels que les acides nucléiques, les protéines, les lipides ou les petites molécules organiques et non organiques. Il existe actuellement deux types principaux de papiers buvards pour les prélèvements : le papier-filtre coton de différentes qualités (Whatmann 903 protein saver cards, Whatmann, Springfield Mill, UK ; Perkin Elmer 226 Spot Saver card, Perkin Elmer, Waltham, USA) et le papier-filtre en microfibre de verre (Agilent Bond Elut DMS, Santa Clara, USA ; Sartorius verre microfibre filtre, Goettingen, Allemagne). La principale différence entre ces deux supports est que la fibre de verre, de par sa nature, ne s'imprègne pas des analytes, ce qui permet de diminuer l'adsorption non spécifique. Il existe aussi une nouvelle génération de DBS (Noviplex cards, Shimadzu) qui est en cours de commercialisation et qui apporte une plus-value

importante dans la mesure où il permet de collecter séparément le plasma et les cellules sanguines indépendamment de l'hématocrite. Ce nouveau type de DBS est extrêmement intéressant dans le cadre des applications en spectrométrie de masse quantitative en particulier car il permet d'éviter le bruit de fond généré par la présence de l'hémoglobine ³⁰⁵. Les prélèvements peuvent être des gouttes de sang séché (en anglais dried blood spot, soit DBS) ou du plasma, utilisées pour les enquêtes ou le diagnostic chez les nouveaux nés et aussi pour la détermination de la charge virale. Il a été démontré que les DBS sont un type de prélèvement fiable pour la réalisation de tests de génotypage de la résistance du HIV aux ARV. Les prélèvements de DBS doivent être collectés et pris en charge en suivant les orientations de l'OMS pour la collecte et la prise en charge des prélèvements de DBS pour le dépistage de la résistance du HIV aux ARV ³⁰⁶.

8.1.4.1. Diagnostic précoce du HIV avec du DBS

Plusieurs études ont évalué la performance de DBS dans les tests de diagnostic précoce chez le nouveau-né en le comparant à l'échantillon de référence, le sang total ou le plasma. Différentes plateformes ont été évaluées (Amplicor 1.5, avec Cobas Taqman, NucliSens EasyQ, Abbott) à partir d'échantillons prélevés chez des nourrissons et des enfants âgés de 6 semaines à 6 ans (Cobas Taqman, Roche diagnostics ; NucliSens EasyQ, BioMérieux ; m2000 RT, Abbott molecular) ³⁰⁷. La sensibilité et la spécificité des échantillons de DBS sur diagnostic précoce sont données dans le Tableau 6.

Tableau 6 : sensibilité et spécificité du DBS pour le diagnostic précoce du HIV par rapport au plasma, d'après ³⁰⁷.

Auteur	Technologie	Nb d'échantillons testés	Sensibilité (%) [*]	Spécificité (%) [*]
Anitha et al.	Amplicor 1.5	64	100	100
Leelawiwat et al.	NucliSens v [‡]	162	100	100
Nsojo et al.	Amplicor 1.5	325	100	99.6
Sherman et al.	Amplicor 1.5	2880	100	99.6
Stevens et al.	Amplicor 1.5	800	100	99
Stevens et al.	COBAS Ampliprep/Taq man	800	100	

* sensibilité et spécificité à partir du sang total ou du plasma

[‡] numéro de version inconnu.

8.1.4.2. Détermination de la charge virale du HIV avec les DBS ou DPS

Une des premières étude ³⁰⁸ à évaluer le DBS et le DPS trouvait les taux de corrélation entre les charges virales obtenues à partir du plasma et du DBS et du DPS respectivement de 0,98 et 0,99 ; la spécificité des résultats DBS et DPS était de 100%. Treize autres études ont évalué la performance des dosages quantitatifs de la charge virale de HIV, en comparant le DBS aux échantillons de plasma par le test Abbott RealTime HIV-1, plateforme m2000 ; Biomerieux NucliSens easyQ v1.1 et v1.2 ; Roche COBAS Taqman HIV-1 VL ; Roche Amplicor Monitor v1.5 et le VIH-1 kPCR ³⁰⁷. La sensibilité et la spécificité des échantillons de DBS sur la charge virale sont résumées dans le Tableau 7.

Tableau 7 : sensibilité et spécificité du DBS par rapport au plasma vis-à-vis du test de la charge virale de HIV, d'après ³⁰⁷.

Auteur	Technologie	Charge virale seuil (copies/mL)	Taille Échantillon	Sensibilité (%) [*]	Spécificité (%) [*]
<u>Lofgren et al.</u>	RealTime	1000	176 ^{**}	100	99
	RealTime	10000	176 ^{**}	100	100
	RealTime	400	137 [‡]	99	87
	RealTime	5000	137 [‡]	100	97
<u>Pirillo et al.</u>	kPCR	37	98	88.2	69.2
	kPCR	5000	98	85.1	96.1
<u>Rottinghaus et al.</u>	NucliSens v.1.1	1000	173	77.8	98,1

* sensibilité et spécificité à partir du plasma.

**nourrissons (médiane 6 mois, aucun sur ART).

‡adultes (médiane 34 ans, tous sous ART)

Dans une étude vietnamienne regroupant des patients naïfs et des patients sous traitement, la sensibilité du DBS était de 90,1% et la spécificité était de 96,2% comparée la technique Abbott real-time HIV ³⁰⁹. Au Malawi, les participants étaient des patients nécessitant un test de charge virale pour suspicion d'échec clinique ou une surveillance de routine et les femmes enceintes naïves. Les prélèvements ont été fait au niveau capillaire (FP-DBS) et veineux (VB-DBS) pour chaque patient et comparé au résultat du plasma obtenu par la technologie NASBA. La sensibilité de FP-DBS était de 88,7%, 84,9% et 83,0% pour les seuils de charge virale de 1 000, 3000 et 5 000 copies/ml. La spécificité était de 97,8%, 99,8% et 100% pour les seuils de charge virale de 1 000, 3 000 et 5 000 copies/ml. Des résultats similaires ont été obtenus pour les échantillons VB-DBS. Il n'y avait pas de différences statistiquement significatives dans les sensibilités ou les spécificités des échantillons de FP-DBS et de VB-DBS aux différents seuils de charge virale ³¹⁰.

Zeh et al., ont comparé l'utilisation des DBS et DPS (Dry Plasma Spot) sur deux plateformes, Abbott et CAP/CTM Roche chez des patients sous traitement. La sensibilité et la spécificité du DPS étaient respectivement de 97,3% et 98,1% et celle du DBS de 93,9% et 88,0% par la technique d'Abbott. Avec le test CAP/CTM, la sensibilité pour le DBS était significativement supérieure à celle du DPS (100,0% vs

94,7%), alors que la spécificité pour DBS était inférieure (4%), par rapport au DPS (94,0%).

Des performances similaires ont été décrites entre le DBS, le DPS et le plasma en utilisant le test Abbott, et une bonne corrélation a été retrouvée pour le DPS et le plasma en utilisant le test CAP/CTM³¹¹. Les résultats suggèrent que le DBS et le DPS peuvent être utilisés de manière fiable comme échantillons alternatifs au plasma pour mesurer la charge virale du HIV-1 en utilisant Abbott, et que le DPS peut être utilisé de manière fiable avec CAP/CTM dans un contexte de pays à ressources limitées³¹¹.

Joy Chang et al., ont travaillé sur des échantillons de DBS et de plasma d'enfants recevant un TAR depuis plus d'un an au Mozambique. Ils ont comparé les performances du DBS en utilisant le test charge virale d'Abbott pour les DBS et de Roche pour le plasma. La sensibilité du DBS à l'aide du test Abbott DBS VL était respectivement de 79,9%, 71,0% et 63,9% au seuil de 1000, 3 000 et 5 000 copies/mL. La spécificité était respectivement de 97,6%, 98,8%, 99,3% à 1 000, 3 000 et 5 000 copies /ml³¹².

Les résultats obtenus par Mbida et al, indiquent une grande stabilité du DBS après stockage à long terme³⁰⁸. En évaluant l'impact de la conservation des DBS pendant 2 semaines à température ambiante et à la congélation à -20° C avant utilisation. Il ressort que ni la sensibilité ni la spécificité ne différaient significativement en fonction du statut de congélation ou non du DBS³⁰⁹. Dans une autre étude, l'ADN proviral et l'ARN viral étaient tous deux stables sur DBS pendant au moins 52 semaines lorsqu'ils étaient conservés à moins 20°C, par rapport à la dégradation progressive de l'ARN au fil du temps à +30°C. Dans ce travail, les conditions et la durée de stockage du DBS ont eu un effet significatif sur l'amplification de l'ARN du VIH-1. Les résultats démontrent que le stockage de DBS à température ambiante (+ 30 °C) ne doit pas dépasser deux semaines, avec un stockage à long terme à -20 ° C ou moins³¹³. En plus la spécificité du DSB était significativement meilleure chez les patients sous TAR pendant plus 6 mois que ceux qui ont moins de 6 mois de TAR. La sensibilité ne différait cependant pas selon la durée du TAR³⁰⁹.

8.1.4.3. Limite des DBS

Étant donné que le volume d'échantillon est beaucoup plus petit dans une goutte de sang, il existe un risque de faux négatifs avec le DBS. Dans un article de revue la

sensibilité de recherche de la charge virale sur DBS variait de 78 à 100% par rapport la charge virale du plasma pour un seuil inférieur à 1 000 copies / ml, mais elle a atteint 100% pour un seuil de 5 000 copies / ml ³⁰⁷. A la différence d'un test de charge virale plasmatique qui mesure uniquement l'ARN de HIV exempt de cellules, une la charge virale sur DBS mesure aussi bien l'ADN proviral et l'ARN, conduisant potentiellement à des résultats faussement positifs lors de l'utilisation de DBS. Pour le diagnostic précoce du nourrisson, la DBS présente une sensibilité de 100% par rapport au sang total ou au plasma frais dans toutes les études ³⁰⁷.

8.1.5. Amélioration de la qualité

Outre l'élargissement stratégique des services de diagnostic, il est tout aussi important que tous les clients qui sont soumis à un test HIV reçoivent le bon diagnostic. Des rapports récents suggèrent qu'un diagnostic erroné du statut HIV se produit dans les pays à ressources limitées. Une analyse des politiques des pays, suggérait que seulement 20% des stratégies nationales de dépistage du HIV sont conformes aux recommandations de l'OMS. Un audit réalisé dans trois pays par Médecins Sans Frontières a révélé des taux significatifs de diagnostics de faux positifs signalés aux individus (2,6% -4,8%). En réanalysant toutes les personnes diagnostiquées séropositives, 10,3% ont été mal diagnostiqués séropositifs en République démocratique du Congo et 7,1% en Éthiopie ²⁰⁹.

Au Malawi, au cours d'une période de trois mois en 2014, 7% des personnes précédemment diagnostiquées séropositives qui ont été testées à nouveau n'avaient pas un statut HIV positif concordant. Après l'amélioration le recyclage, sur une période supplémentaire de trois mois en 2014, seules 4% des personnes diagnostiquées séropositives qui ont été réanalysées avant l'initiation n'ont pas obtenu de résultats concordants ²⁰⁹.

L'approche communautaire permettra de recueillir des données, d'améliorer leur qualité sur les populations-clés et contribuera à combler plus efficacement les lacunes en matière d'accès au service. Le taux de prévalence des maladies pour les populations-clés est une condition préalable pourtant essentielle à l'analyse des épidémies et des ripostes y afférentes. Les populations sous-comptabilisées restent sous-financées car le financement ne s'appuie pas sur des éléments probants.

8.2. Atteindre les populations clés et réduire le nombre de perdus de vue

Les défis majeurs sont : (1) l'insuffisance de services de test accessibles aux personnes clés ; (2) les taux de dépistages inférieurs aux objectifs escomptés en raison de la saturation des réseaux existants et des difficultés à identifier et engager les individus de ces populations clés qui sont les plus à risque ; et (3) les patients identifiés lors du dépistage du HIV réalisé dans la communauté sont souvent mal suivis.

Pour atteindre les populations clés, il faudrait avoir des stratégies de sensibilisation fondées sur la confiance et la confidentialité comme la première étape importante pour les programmes de lutte contre HIV. Certains recommandent un *ratio* de contact avec les pairs de 1:50 pour les travailleuses du sexe et de 1:30 pour les HSH en fournissant des services individualisés fréquents et de haute qualité basés sur les recommandations internationales ³¹⁴. Dans la plupart des évaluations, il a été constaté qu'il y avait trop peu de pairs éducateurs pour couvrir adéquatement les populations clés dans les points indexés connus, entraînant des niveaux de contact irréguliers ou pauvres avec les populations clés.

Il est essentiel que les programmes de traitement établissent des stratégies communautaires pour renforcer l'adhésion du patient au traitement et réduire le nombre de perdus de vue. L'utilisation de groupes de soutien par les pairs, des agents de santé communautaires, des rappels par messages texte (SMS) et des réductions du temps d'attente dans les établissements ont réussi à améliorer la rétention chez les adolescents et les jeunes vivant avec le HIV. Les technologies utilisées sur le lieu des soins offrent d'autres possibilités pour étendre le dépistage de la charge virale à tous ceux qui sont sous traitement et de renforcer la surveillance de la charge virale individuelle et communautaire ²⁰³.

Un autre défi identifié était le manque de stratégies formelles pour entrer en contact avec des sous-populations plus difficiles à atteindre, telles que les HSH qui ne se rendent pas aux consultations, mais se connectent en ligne ou utilisent des réseaux virtuels. Pour relever ces défis, il faut recruter et former un plus grand nombre de pairs éducateurs afin d'améliorer les ratios de sensibilisation. L'offre d'une PEP ou

PrEPa été recommandée pour une inclusion dans l'ensemble de services standard, car il a été démontré que ces actes augmentent la demande de services ³¹⁴. Les populations-clés dépendant plus des systèmes communautaires que la population générale, le renforcement des réseaux sociaux et des organisations communautaires peut avoir un impact positif sur la capacité des populations-clés à utiliser les services de santé. Un des principaux moyens de soutenir ces réseaux essentiels consiste à financer le renforcement des systèmes communautaires ⁵. Des centres d'accueil et d'autres espaces sûrs doivent être établis pour fournir aux populations clés un lieu de rassemblement afin de créer un sentiment d'appartenance à la communauté. Les conseils consultatifs communautaires doivent systématiquement s'engager dans les programmes des populations clés pour renforcer les interventions qui seront dirigées par ces populations. En fin 2012, 47 pays seulement faisaient état d'une participation des populations-clés dans leur instance de coordination nationale. L'expérience montre que les services et les formations dirigés par des pairs ou par la communauté peuvent être plus propices aux populations-clés. L'OMS et les institutions du système des Nations Unies recommandent d'intensifier les prestations de services communautaires et dirigées par des pairs ⁵. Ceci devient encore intéressant dans le contexte des pays africains où on enregistre une forte mobilité du personnel sanitaire, une faible motivation et même une absence de professionnel.

L'utilisation de nouvelles approches, telles que le dépistage du HIV chez les prestataires non spécialisés utilisant des tests de piqûre au doigt ou par voie orale, ou la mise à disposition de Kits d'autotest, a été recommandée sur la base des recommandations mondiales ³¹⁴.

Plusieurs pays ont déclaré avoir un nombre insuffisant de personnes formées parmi les populations clés pour soutenir les références et les liens entre le dépistage et le traitement, en particulier en accompagnant les populations clés vivant avec le HIV dans les établissements offrant le traitement. Les obstacles significatifs à l'initiation du traitement trouvés dans les évaluations et la littérature comprenaient la stigmatisation et la discrimination, la stigmatisation intériorisée, la mal nutrition et la toxicomanie, ainsi que l'incompréhension des avantages du traitement, non seulement pour les populations clés vivant avec le HIV mais aussi pour leurs partenaires ^{315,316}. L'ONUSIDA très peu de pays dispose de données sur l'accès au traitement des populations clés dans très peu de pays ⁵. Un autre défi identifié était le

temps d'initier le TAR après avoir été nouvellement diagnostiqué. Pour améliorer les taux d'initiation au traitement antirétroviral, les équipes d'évaluation et les experts mondiaux ont recommandé que les programmes fournissent un soutien communautaire pour le traitement antirétroviral ³¹⁷.

La formation à la dispensation de traitement et à la réalisation des tests de dépistage par les pairs a également été soulignée, de sorte que les personnes clés comprennent l'importance du traitement si elles sont positives et soutiennent leurs pairs vivant avec le HIV ³¹⁸. Toutes les évaluations et recommandations mondiales recommandent la mise en œuvre ou l'extension des programmes «test and treat» qui offrent une prise immédiate d'ARV et décentralisent la distribution des médicaments antirétroviraux aux patients stables, par exemple dispensés par les communautaires ou des pairs ³¹⁷.

Les doses limitées d'ARV délivrées, généralement pour un mois seulement, même pour les patients stables, constituaient un sérieux obstacle à la rétention. Les horaires de rendez-vous non flexibles et les longs délais d'attente dans les cliniques ont compliqué la tâche des populations clés à respecter les rendez-vous mensuels. Le soutien nutritionnel était également considéré comme un défi, en particulier pour ceux qui avaient besoin d'un traitement antirétroviral. Dans certains sites, les résultats de laboratoire sur la charge virale pourraient prendre jusqu'à un mois pour être communiqués aux prestataires, qui parfois ne les utilisaient pas pour la surveillance clinique. Dans la plupart des pays, les populations clés ne comprenaient pas qu'un statut de charge virale indétectable durable signifiait qu'elles n'auraient pratiquement aucun risque de transmission du HIV à un partenaire sexuel. S'attaquer à la stigmatisation, à la discrimination et aux violations des droits de l'homme à tous les niveaux grâce à la création d'un environnement juridique protecteur et émancipateur et d'une forte règle de droit est un impératif tant pour la riposte au HIV que pour le programme de développement durable ²⁰³. Il a été signalé par tous les programmes, que les populations clés étaient soumises à la stigmatisation et à la discrimination provenant de sources multiples, notamment les forces de l'ordre, les prestataires de soins de santé, les membres de la famille et la communauté. La violence, la stigmatisation et la discrimination ont dissuadé les populations clés à demander des services et ont augmenté leur vulnérabilité au HIV et aux autres infections sexuellement transmissibles ^{319,320}. Les populations clés souffraient d'un

manque de protection policière, de la faible application des lois anti discrimination lorsqu'elles existaient. Les cas de violence ne sont souvent pas rapportés aux autorités ou n'ont pas été correctement enregistrés, ce qui rend difficile les prises en charge systémiques pour réduire les cas de violence. Il y avait aussi un accès limité à la prophylaxie post exposition pour les populations clés qui avaient subi une agression sexuelle, souvent parce que c'était non disponibilité. Les principaux axes incluait : (1) renforcer les relations existantes avec la police et les travailleurs de la santé pour offrir une sensibilisation sur la violence, la stigmatisation, la discrimination et le droit des populations clés à accéder aux services de prise en charge du HIV ; (2) sensibiliser les groupes de populations clés pour mieux comprendre leurs droits en tant que citoyens et apprendre à ne pas considérer la violence comme normale ou inévitable ; (3) proposer des systèmes de réponse à la violence à base communautaire utilisant les meilleures pratiques ³²¹. Le rejet social, la discrimination, la privation des droits élémentaires et la pénalisation des populations-clés nuisent à la réalisation des objectifs des programmes nationaux.

8.3. Améliorer la surveillance de la résistance

L'objectif du traitement ARV doit être, en toute situation, l'obtention et le maintien d'une charge virale (CV) < 50 copies/ml, ce qui minimise le risque de sélection de virus résistants. Les situations d'échec virologique doivent être détectées par des contrôles réguliers de la CV (M1, M3, M6 puis tous les 6 mois), les causes identifiées et corrigées précocement pour rétablir le succès virologique et prévenir l'accumulation de mutations de résistance.

8.3.1. La stratégie de l'OMS

La surveillance et le suivi de la résistance du HIV aux ARV recommande l'utilisation d'un ensemble minimum d'indicateurs d'alerte précoce de la résistance aux ARV dans tous les sites de TAR. Ces indicateurs permettent d'identifier les facteurs connus pour être associés à la résistance du HIV aux ARV ayant besoin d'être améliorés, afin que des mesures correctives appropriées soient mises en place au niveau des sites de consultation et/ou du programme ³²². Ces indicateurs évaluent :

- le niveau d'observance du traitement par les populations (retrait des ARV dans les délais) ;

- si les pharmacies dispensent des schémas thérapeutiques susceptibles de favoriser l'émergence d'une résistance aux ARV, tels que les monothérapies et les bithérapies (pratiques de dispensation) ;
- l'existence de ruptures de stock pour les ARV dispensés habituellement (continuité de la délivrance des ARV) ;
- le degré de rétention des personnes dans les services de soins des consultations de TAR.

Le suivi de la suppression de la charge virale à 12 mois est un indicateur supplémentaire qu'il est recommandé d'utiliser dans les sites où la mesure de la charge virale est réalisée en routine. Dans de nombreux pays et malgré des efforts soutenus, la surveillance systématique de la résistance du HIV aux ARV n'a pas progressé au même rythme que l'extension du TAR. Cette situation limite la capacité à évaluer de façon fiable les tendances dans le temps ³²². Dans la perspective d'un suivi adéquat de l'émergence de la résistance aux ARV, l'OMS a mis en place le Réseau mondial sur la résistance du HIV aux ARV (HIVResNet), composé de plus de 50 institutions internationales, experts et représentants des programmes nationaux de lutte contre le sida. En collaboration avec HIVResNet (Figure 36), l'OMS a élaboré une stratégie mondiale pour la surveillance et le suivi de la résistance du HIV aux ARV conçue pour éclairer la prise de décisions sur le choix optimal des schémas thérapeutiques d'ARV et pour identifier les ajustements programmatiques nécessaires à la minimisation de l'émergence de la résistance du HIV aux ARV. Elle comporte trois éléments d'évaluation principaux : (1) surveillance de la résistance du HIV aux ARV transmise dans les populations récemment infectées, (2) surveillance de la résistance du HIV aux ARV acquise dans les populations recevant un TAR et (3) suivi des indicateurs d'alerte précoce de la résistance du HIV aux ARV ³²².

8.3.1.1. Surveillance de la résistance transmise

La méthode d'enquête OMS pour l'évaluation de la résistance du HIV aux ARV transmise classe la prévalence de la résistance dans les populations récemment infectées d'une zone géographique donnée en trois catégories : faible (inférieure à 5%), modérée (entre 5% et 15%) et élevée (supérieure à 15%). Ces enquêtes utilisent autant que possible les restes d'échantillons collectés dans des populations d'intérêt (par exemple les femmes enceintes jeunes) et les données des enquêtes sérologiques effectuées en routine. Les résultats peuvent aussi fournir des

informations utiles dans le but de sélectionner les schémas en cours pour la PTME et les schémas thérapeutiques futurs d'ARV de première intention. L'OMS recommande que les enquêtes soient répétées tous les deux ans afin de détecter des signes d'augmentation de la transmission de la résistance.

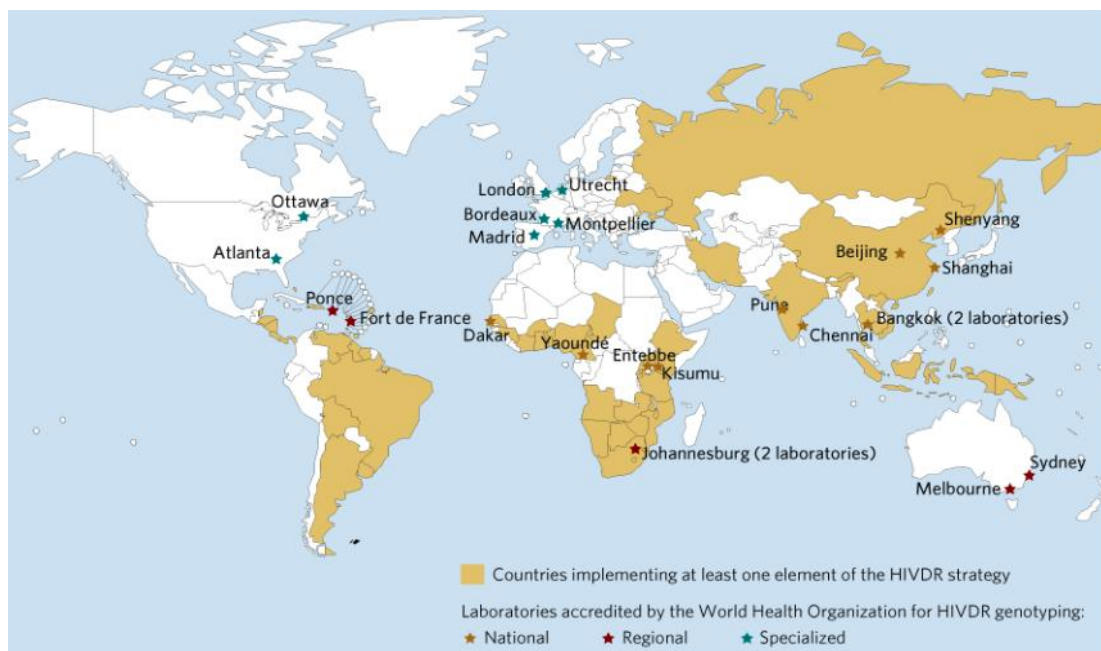


Figure 36. Carte des laboratoires d'analyse de la pharmacorésistance du VIH agréés par l'OMS (février 2009), d'après ³²³.

8.3.1.2. Surveillance de la résistance acquise

Les enquêtes OMS prospectives sur la résistance du VIH aux ARV acquise sont menées dans les services sentinelles de consultation de TAR. Une cohorte de personnes débutant un TAR de première intention est constituée dans chaque service sentinelle de consultation. Un test de génotypage à la recherche d'une résistance du VIH aux ARV est effectué chez les personnes commençant un TAR tandis qu'une quantification de l'ARN du VIH est réalisée au moment du passage au traitement de deuxième intention ou 12 mois après le début du traitement chez les personnes qui continuent à recevoir un TAR de première intention. Chez les personnes présentant une charge virale détectable (plus de 1000 copies/ml), un test de génotypage du virus est réalisé pour caractériser les mutations de résistance aux ARV.

8.3.1.3. Suivi des indicateurs d'alerte précoce (IAP) de la résistance du HIV aux ARV

L'apparition et la transmission d'un certain degré de résistance du HIV aux ARV est inévitable, même lorsque les traitements appropriés sont prescrits et l'observance du traitement est optimale. Pour surmonter ce défi, l'OMS a mis au point une stratégie de suivi et de surveillance de la résistance du HIV aux ARV en 2004 qu'elle a mis à jour en 2015. Cette stratégie se compose de quatre activités principales :

- le suivi annuel des IAP de l'ensemble des résistances du HIV aux ARV dans tous les établissements fournissant un TAR ou auprès d'un échantillon représentatif d'établissements administrant un TAR dans le pays ;
- la surveillance de la résistance du HIV aux ARV avant traitement au sein des populations adultes mises sous TAR de première ligne ;
- la surveillance d'une résistance du HIV aux ARV acquise chez les adultes et les enfants sous traitement ;
- la surveillance de la résistance du HIV aux ARV chez les nourrissons de moins de 18 mois.

En 2004, l'OMS a élaboré un ensemble de huit indicateurs d'alerte précoce de la résistance du HIV aux ARV pour faire le suivi de ces facteurs, chacun étant assorti d'un objectif chiffré recommandé pour la surveillance au niveau des services de consultation. La stratégie de l'OMS en matière de résistance du HIV aux ARV est conçue afin de fournir aux pays des informations exploitables pour améliorer la performance de l'établissement et du programme, et aider au choix d'un schéma de traitement antirétroviral. Le suivi des IAP constitue le fondement de la stratégie recommandée par l'OMS en matière de résistance du HIV aux ARV. Les stratégies adoptées au niveau de l'établissement et du programme pour améliorer toute performance suboptimale contribueront non seulement à minimiser les résistances évitables du HIV aux ARV, mais également à optimiser les résultats du TAR au sein de la population ²¹⁰.

8.4. Implanter des systèmes de type Point of Care (POC)

Les technologies de type POC ont pour principaux objectifs (1) d'être utilisées de façon décentralisée, (2) d'être simples et rapides d'utilisation, (3) de réduire les coûts en réactifs et en maintenance. La promesse que les diagnostics POC pourraient être exploités au même endroit que l'évaluation clinique du patient et les résultats obtenus lors de la visite ont conduit à des investissements massifs dans le développement technologique et les efforts de déploiement pour décentraliser le dépistage du HIV. Plusieurs nouvelles technologies POC pour le dépistage du HIV ont été conçues pour donner les résultats du test lors de la visite du patient le même jour. Les instruments POC pour le dosage des lymphocytes CD4+ ont atteint 25% des parts de marché dans les pays en développement, ouvrant la voie à de futures technologies. La première machine validée a été lancée en 2010 (PIMA d'Alere), délivrant un résultat en 20 minutes à partir du sang total. Dans le cadre du diagnostic de la charge virale, beaucoup ne sont pas totalement intégrés et nécessitent une séparation du plasma sanguin avant l'entrée de l'échantillon ²⁹⁵.

8.4.1. Utilisation pour le dépistage

Utiles pour le dépistage précoce de l'infection du nouveau-né, ces technologies détectent différents composants viraux tels que l'antigène de la capsid virale p24, l'ARN ou l'ADN proviral ³²⁴. A titre d'exemple, certains POC sont commercialisés pour la recherche qualitative de l'ADN proviral de HIV-1 (Norgen Biotek Corp ; Quest Diagnostics, Abbott, Arluplab, etc.) ³²⁵.

Une étude sur le diagnostic précoce a montré que le délai médian avant l'obtention du résultat de dépistage à partir des tests centralisés était de 125 jours au Mozambique ³²⁶. Les POC tel que Alere™ q HIV-1/2 Detect et Xpert® HIV-1, peuvent être utilisés pour le dépistage chez les nourrissons dans un délai d'une heure seulement, au lieu d'envoyer un échantillon en laboratoire, qui peut prendre des semaines ou des mois pour renvoyer un résultat. Le test de charge virale Alere et le test semi-quantitatif SAMBA ont donné de bon résultats de diagnostic précoce chez les nourrissons dans les pays à ressources limitées ²⁹⁵.

Bindiya Meggi et al, ont comparé la trousse Alere q HIV1/2 Detect avec une technique standard Roche COBAS AmpliPrep/TaqMan HIV-1 qualitative assay v2.0 pour le diagnostic précoce chez le nourrisson. La sensibilité et la spécificité du POC

Alere q HIV-1/2 chez l'enfant à la naissance comparé au test de diagnostic réalisé au laboratoire étaient de 100% ³²⁷.

Cette étude démontre que le diagnostic précoce avec les POC à la naissance est performant lorsqu'elle est effectuée par des infirmières dans des cliniques de soins de santé primaire à faibles ressources.

8.4.2. Utilisation pour la mesure de charge virale

Les besoins non satisfaits en matière de charge virale augmentent dans les contextes où les ressources sont peu élevées, le nombre de personnes initiant un traitement antirétroviral augmentant avec l'approche «test and treat» ³²⁶.

Les tests POC Alere et SAMBA ont prouvé leur exactitude quant à la surveillance de la charge virale dans les pays à ressources limitées. Deux études²⁹⁵ ont également démontré que le test de charge virale GeneXpert HIV-1 (Cepheid) était performant pour différents sous-types viraux, lorsqu'il était effectué en laboratoire de biologie clinique comparé à un test de charge virale de référence. Une étude de faisabilité et de validation réalisée en clinique a également démontré une excellente précision pour le test de charge virale Xpert HIV-1 effectué dans une clinique à Durban, en Afrique du Sud ²⁹⁵.

Les dosages plasmatiques et sanguins avec Liat HIV Quant, version préliminaire, ont été évalués en Afrique du Sud. La précision, l'exactitude, la linéarité et la concordance des dosages sanguins et plasmatiques de Liat HIV Quant ont été comparées à celles des technologies de référence (Abbott molecular et Roche diagnostics), Une évaluation clinique plus poussée est nécessaire (en particulier pour les tests sur échantillons de sang total dérivés de la piqûre au doigt) ³²⁸. Les modèles mathématiques prédictifs ont suggéré que le suivi de la charge virale du HIV avec les POC permettra une administration plus rentable du traitement antirétroviral ²⁹⁵. La disponibilité dans le commerce des tests charge virale HIV de type POC reste modeste (Tableau 8) ³²⁸.

Le dispositif de test GeneXpert entièrement automatisé nécessite une formation minimale. Il permet la réalisation de la charge virale HIV, le diagnostic précoce du HIV chez l'enfant et le diagnostic de la tuberculose résistante à la rifampicine (MTB / RIF) sur une plate-forme GeneXpert à quatre modules. Dans une étude en centres

décentralisés au Zimbabwe le taux d'erreur des tests polyvalents GeneXpert était restés inférieurs à 4% dans tous les 4 sites ³²⁶.

Il présente également un taux de résultats invalides inférieur à celui des autres plates-formes mais il nécessite 1ml de plasma pour le test, ce qui est souvent difficile à obtenir chez les enfants ³²⁹. Le délai de rendu de résultat est plus court (1 jour) que celui du test centralisé (entre 17 et 26 jours). Le délai médian de conseil pour le renforcement de l'observance était de 8 jours et le délai médian avant l'initiation du traitement antirétroviral chez les nourrissons séropositifs au test HIV était de 1 jour ³²⁶. Une étude coût-efficacité est actuellement en cours pour examiner le coût de la décentralisation de Xpert par rapport aux tests centralisés et pour évaluer un modèle de partage des coûts potentiel entre les programmes TB et HIV ³²⁶.

Tableau 8 : les technologies de POC pour la mesure de la charge virale.

TECHNOLOGIE POC	ÉCHANTILLON (VOL)	SEUIL DE DETECTION	OBTENTION DU RESULTAT (MIN)	AUTRES INFORMATIONS
ALERE™ Q HIV-1/2 DETECT	Sang total (25 µL)	1000 copies/ml	52	RT-PCR matrice de microsonde
GENEXPERT® H IV-1	Plasma CV EID et MTB / RIF	40 à 10 millions de copies/ml	90	Amplification et détection de l'ARN. Multiplex RT-PCR
EOSCAPE (WAVE 80 BIOSCIENCES, SAN FRANCISCO, CA)	Sang ou de plasma (100µL)	Qualitative et Quantitative 1000 copies/ml	50	Amplification et détection
Liat HIV Quant assay	Sang total (75 µL) ou de plasma (150 µL)	1000 copies/ml dans 150 µl Quantitative Cartouche +4°	30 à 35	Amplification et détection de l'ARN. Multiplex RT-PCR
SAMBA	Plasma (200 µL)	1000 copies/ml (semi-quantitatif)	90	Amplification isotherme et détection de signal

8.4.3. Evaluation de l'impact clinique des POC

Des efforts sont en cours pour évaluer les avantages et les coûts de la mise en œuvre de la surveillance de la charge virale du HIV dans les centres de traitement du HIV. Les modèles existants de prise en charge chronique du HIV suggèrent que le

transfert de tâches à des infirmières ou à des cadres moins qualifiés peut générer des résultats similaires (non-inférieurs) à la prise en charge du TAR par des médecins ou des infirmiers professionnels et approuvés par l'OMS ²⁹⁵. Cependant, une étude au Cap a montré que le « renvoi » de patients chroniques sous TAR à un site différent pouvait entraîner une perte de taux de suivi plus élevée. Par conséquent, la mise en œuvre d'un modèle de soins contre le HIV qui utilise une approche intégrée des agents de santé et des tests intégrés de la charge virale du HIV, tout en garantissant des soins de qualité aux patients, peut être essentielle. Des modèles ont démontré que la surveillance avec les POC pourrait permettre de réduire considérablement les visites de suivi chez les patients infectés par le HIV stables recevant un TAR et réorienter les ressources vers d'autres soins pour les patients infectés par le HIV présentant une charge virale non supprimée ²⁹⁵.

8.5. Open Polyvent Platform (OPP)ERA

Le projet OPP-ERA, mis en œuvre au Burundi, au Cameroun, en Côte d'Ivoire et en Guinée depuis mars 2013, favorise l'accès à des plateformes ouvertes et polyvalentes (OPP). Un système ouvert innovant de techniques de biologie moléculaire pour les laboratoires, qui permet de mesurer la charge virale du HIV, ainsi que de diagnostiquer d'autres pathologies infectieuses comme la tuberculose et les hépatites virales. Ce système flexible, est facile à utiliser et à entretenir pour des techniciens formés. Les machines utilisées sont adaptées pour des centres de santé situés autant dans les capitales qu'en zones décentralisées ³³⁰.

OPP-ERA a déjà permis de combler le retard des quatre pays africains engagés dans le projet. Ainsi par exemple au Burundi en 2016, à la fin de la première phase du projet, plus de 20% des personnes sous traitement du HIV avaient accès à un test de charge virale. La deuxième phase devrait permettre d'accélérer l'accès à la mesure de la charge virale dans les pays concernés. Elle devrait également permettre aux équipes de chercheurs de démontrer la polyvalence ainsi que la faisabilité et l'efficacité des OPP au niveau national³³⁰.

Le modèle des OPP promu par OPP-ERA est en plein développement. Le Fonds mondial de lutte contre le sida, la tuberculose et le paludisme déploie actuellement également des plateformes polyvalentes ouvertes en mutualisant les outils et les formations du projet OPP-ERA³³⁰.

Travaux Personnels

Introduction

A l'échelle mondiale, la transmission du HIV1 s'effectue majoritairement par voie hétérosexuelle, par exposition des muqueuses génitales de la femme aux sécrétions séminales masculines infectées ²⁷⁴. Environ 64% de nouvelles infections à HIV (adultes et enfants) ont eu lieu en Afrique subsaharienne, près de 43% étaient des femmes en 2016⁴. Dans cette région, 67 % des nouvelles infections à HIV parmi les jeunes gens touchaient les jeunes femmes et les filles âgées de 15 à 24 ans ³³¹.

Le sperme d'hommes infectés représente la source de contamination majoritaire par voie hétérosexuelle, les sécrétions cervico-vaginales de femmes infectées en sont une autre, à un moindre degré. Au niveau du sperme infecté, HIV-1 est présent sous forme de particules virales libres (ARN) dans le plasma séminal et de particules associées aux cellules mononuclées ou NSMC (ADN proviral) ³³². Il est maintenant bien démontré que le tractus génital peut représenter un réservoir de réplication autonome pour HIV-1. En effet, plusieurs études portant sur la quantification du génome viral au niveau du tractus génital masculin apportent des arguments forts en faveur d'une compartimentation de HIV-1 dans le sperme ³³³⁻³³⁵.

Certains patients présentent même des charges virales et/ou provirales plus élevées dans le sperme que dans le sang ³³⁴⁻³³⁶. Des études phylogénétiques menées sur les souches virales issues des secteurs séminaux et sanguins des mêmes sujets ont montrées des différences au niveau des gènes codant la région V3 de la gp120 ¹⁵⁷. Des variations sont aussi décrites au niveau des gènes codant la RT et la protéase ³³⁷.

Un des facteurs pouvant influencer la compartimentation des souches est la capacité des antirétroviraux à passer la barrière hémato-testiculaire. Si certaines molécules se concentrent au niveau du tractus génital (comme les inhibiteurs nucléosidiques et le raltegravir), d'autres comme la plupart des inhibiteurs de protéase ou l'efavirenz ont un pouvoir de diffusion très médiocre voire nul ³³⁸. Ceci a bien entendu une influence sur la charge virale et provirale séminale et sur l'émergence et donc la transmission potentielle de souches résistantes. Si le traitement antirétroviral a été décrit comme baissant globalement la charge virale ARN au niveau du plasma séminal et le risque de transmission à l'échelle d'une population ³³⁹, cela n'est pas forcément vrai à titre individuel où certains patients peuvent présenter une excrétion virale au niveau séminal ³⁴⁰.

D'un point de vue épidémiologique, la distribution mondiale des souches de HIV-1 est hétérogène et relève d'un processus dynamique. Si le sous-type B est prédominant dans les pays développés, la diversité génétique la plus élevée est observée en Afrique, principalement en Afrique centrale, où sont retrouvés tous les groupes et sous-types ainsi que la majorité des souches recombinantes ; ces dernières représentent au moins 20% du nombre total des isolats et sont classées en 2 catégories : les CRF (Circulationg Recombinant Forms) et les URF (Unique Recombinant Forms). La souche recombinante majoritaire est le CRF02_AG dont on estime qu'il est responsable de plus de 9 millions d'infections dans le monde³⁴¹, elle est majoritaire au Mali, chez les patients HIV-1^{46,48,49}.

Si les mutations associées à la résistance semblent les mêmes entre les sous-types B et non B ⁴⁶, un certain nombre de mutations mineures sont observées sur les gènes de la protéase et de la reverse transcriptase des souches non-B en absence de TAR ³⁴². Si ces mutations de polymorphisme ne semblent pas impacter le succès thérapeutique à court terme pour les souches de type CRF02_AG ³³⁴, une émergence plus importante de certaines mutations a été rapportée comme la K65R pour les sous-type C et CRF01_AE. Les INTI d4t et tenofovir sont inefficaces sur des souches porteuses de K65R ^{31,343}.

Le polymorphisme observé sur les types non-B de patients nouvellement dépistés peut être dû à des mutations de résistance transmises par un patient traité ou à des mutations naturellement présentes sur ces sous-types.

La disponibilité de la thérapie antirétrovirale (ARV) pour les patients infectés par le HIV en Afrique a augmenté ces dernières années et les programmes de prise en charge à large échelle ont été mis en œuvre dans beaucoup de pays. Entre 2000 et 2017, le nombre de vies sauvées grâce au TAR était de 11, 4 millions³⁴⁴. Des études ont montré que la prévalence de la résistance varie de 1,1% à 16,3% selon les pays de l'Afrique subsaharienne ^{240,243,244,246,247,345–350}. La résistance constitue une préoccupation majeure au cours de la prise en charge thérapeutique de l'infection par HIV. Il a été démontré que l'utilisation des tests de résistance au cours des échecs thérapeutiques permettait d'optimiser le choix du traitement alternatif. De plus, déceler cette résistance avant même la mise sous traitement facilite le choix des molécules ARV. plusieurs pays de l'Afrique au sud du Sahara, ne disposent pas d'un système de surveillance de la résistance des souches ³²².

Dans ce travail de Thèse, nous avons tout d'abord voulu évaluer la chaîne de prise en charge de personnes nouvellement dépistées séropositives à Bamako (Mali), dans le contexte actuel de l'objectif cible 90-90-90 ainsi que la prévalence de la résistance primaire aux ARV. Nous avons également étudié la faisabilité des tests de charge virale et de génotypage de résistance à partir de support type buvard (DBS) dans un second travail mené au Tchad.

Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'efficacité du traitement dans différents compartiments muqueux (salivaire et génital) ainsi qu'au profil de résistance des souches dans ces compartiments et à la composition du microbiote vaginal.

Partie 1 : efficacité du traitement antirétroviral chez des personnes séropositives vis à vis de HIV-1 nouvellement dépistées

1/ Efficacité du traitement antirétroviral chez des personnes nouvellement dépistées à Bamako (article 1)

Introduction

L'OMS recommande depuis 2015 l'initiation du traitement antirétroviral chez tous les PVVIH, quel que soit le nombre de lymphocytes T CD4+ ²¹¹. En outre, le pourcentage de patients atteints de HIV diagnostiqué au stade avancé reste très élevé dans de nombreux centres, plaidant pour le renforcement du respect des campagnes de prévention et de dépistage ainsi que pour la rétention aux soins après l'initiation du traitement. L'accès limité à une surveillance virologique régulière, basée sur des tests de CV et de génotypage, pourrait retarder le passage à un traitement de deuxième intention et augmenter le risque d'échec virologique (EV) et de résistance au traitement antirétroviral. En effet, le taux de changement thérapeutique en Afrique de l'Ouest reste faible et est principalement motivé par l'intolérance plutôt que par un EV, en raison du faible accès aux tests de CV et d'autres options médicamenteuses ³⁵¹. Au Mali, des données récentes suggèrent que près de 31,5% des PVVIH étaient sous ARV en 2016 (données non publiées de CSLS, Bamako). Une étude antérieure, menée en 2010, indiquait une prévalence de la TDRM de 7,8% chez les patients nouvellement diagnostiqués avec le HIV-1 à Bamako et à Ségou, ce qui suggère que le traitement de première intention basé sur les INNTI standard est sous-optimal pour certains patients⁴⁷.

À l'ère du plan 90-90-90, il est très important de surveiller la suppression virale et de vérifier régulièrement la cascade de traitement chez les PVVIH.

Article 1

Impact of HIV-1 primary drug resistance on the efficacy of a first-line antiretroviral regimen in the blood of newly diagnosed individuals in Bamako, Mali

Abdelaye Keita^{1,2}, Youssouf Sereme², Sylvie Pillet^{2,3}, Souleymane Coulibaly¹, Fodié Diallo⁴, Bruno Pozzetto^{2,3}, Tenin Aoua Thiero¹ and Thomas Bourlet^{2,3*}

¹Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), Bamako, Mali; ²Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes GIMAP EA3064, University of Saint-Etienne, University of Lyon, Saint-Etienne, France; ³Laboratoire des Agents Infectieux et d'Hygiène, University Hospital of Saint-Etienne, Saint Etienne, France; ⁴Centre d'écoute de soins et d'accompagnement (CESAC), Bamako, Mali

*Corresponding author. GIMAP EA3064, Faculté de Médecine J. Lisfranc, Campus Santé Innovations, 10 rue de Marandière, 42270 Saint-Priest en Jarez, France. Tel: +33 4 77 42 14 67; Fax: +33 4 77 42 14 86; E-mail: thomas.bourlet@chu-st-etienne.fr

Received 23 May 2018; returned 17 July 2018; revised 16 August 2018; accepted 24 August 2018

Background: To achieve the 90-90-90 targets assigned by UNAIDS, it is crucial to monitor ART in HIV-1-infected patients, especially in resource-limited countries.

Objectives: To evaluate the immunovirological response after 12 months of ART in newly HIV-1-diagnosed people in Bamako, Mali; to determine primary and acquired resistance rates to antiretroviral drugs; and to evaluate the impact of primary resistance on the efficacy of ART.

Patients and methods: One hundred and nineteen HIV-1-infected people (88.2% women; median age 34 years) were enrolled between January and June 2014. HIV-1 RNA loads (Abbott RealTime HIV-1 assay) were tested in the blood before and at months 3, 6 and 12 after initiation of ART. Primary and acquired resistances to ART were evaluated by the ViroseqTM HIV-1 genotyping assay.

Results: During the study, 8.4% of people died and 37% were lost to follow-up. After 1 year of ART, an undetectable HIV-1 RNA viral load was found in 87.7% of cases. The overall rate of primary drug resistance mutations was 17.5% (3.2%, 15.9% and 0% for NRTIs, NNRTIs and PIs, respectively). These mutations were not associated with either higher mortality rates or larger numbers of virological failures. The acquired resistance rate was estimated at 3.1%.

Conclusions: Our study showed a high primary resistance level and a huge proportion of people non-adherent to the treatment programme. Reassuringly, almost 90% virological success and a low level of acquired mutations were observed in adherent people at month 12. Reinforced education, regular virological monitoring and early HIV-1 diagnosis may help to improve retention in the care system.

Introduction

According to the Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS), 6.1 million (4.9–7.6 million) people were living with HIV in Western and Central Africa in 2016.¹ At the same time, the number of people accessing ART had increased, reaching 2.1 million, corresponding to 35% (24%–44%) of HIV-1-infected people in the region.

In 2014, UNAIDS launched the ambitious 90-90-90 treatment targets, in order to end the HIV/AIDS epidemic by 2030. The goals to reach by 2020 are: 90% of those infected by HIV-1 must be diagnosed; 90% of those diagnosed must be on ART; and 90% of those on treatment must have a fully suppressed viral load (VL).² In this

context, the initiation of ART in all HIV-1-infected persons at any CD4+ T cell count has been recommended by WHO since 2015.³

However, numerous obstacles may prevent the 90-90-90 objectives from being achieved, especially in resource-limited countries (RLCs).^{4,5} First, despite new HIV infection having declined between 2010 and 2016, there were still 1.8 million newly infected people in 2016.¹ Moreover, the percentage of patients with advanced disease at the time of diagnosis remains dramatically high in many RLCs, advocating reinforcement of adherence to prevention and testing campaigns as well as retention in care after enrolment in HIV treatment. The limited access to regular virological monitoring, based on VL and genotyping assays, may delay the switch to second-line regimens and increase the risk of

virological failure (VF) and resistance to ART. Indeed, the rate of therapeutic switch in Western Africa remains low and mostly motivated by intolerance rather than VF, owing to poor access to VL tests and limited options for other drugs.⁶ Concomitant with the ART scale-up in RLCs, the rates of VF and HIV-1 pre-treatment drug resistance mutations (PDRMs) are increasing over time.⁷⁻⁹ This is of particular concern for first-generation NNRTIs, which are still widely used in first-line regimens.

In Mali, recent data suggest that almost 31.5% of people living with HIV were on ART in 2016 (unpublished data from Cellule Sectorielle de Lutte contre le Sida, Bamako, A. Keita). A previous study, conducted in 2010, indicated a 7.8% prevalence of PDRMs in newly HIV-1-diagnosed patients in Bamako and Ségou, suggesting that the standard NNRTI-based first-line regimen used is suboptimal for some patients.¹⁰

In the era of the 90-90-90 plan, it is of high importance to monitor viral suppression and to regularly check the treatment cascade.

This longitudinal study aimed to characterize the immunological and virological responses at inclusion and after 3, 6 and 12 months of a first-line ART in newly HIV-1-diagnosed people in Bamako. We also determined the PDRM rate as well as the occurrence of resistance to antiretroviral drugs during the follow-up period.

Patients and methods

Patients

A total of 119 newly diagnosed HIV-1 patients in three centres, namely Centres d'écoute, de soins et d'accompagnement (CESACs), Commune 1 and the clinic Les Halles in Bamako, were enrolled between January and June 2014. ART was initiated in all participants within 2 weeks after HIV diagnosis, combining either two NRTIs and one NNRTI or two NRTIs and one PI in 95.7% and 4.3% of patients, respectively. Whole blood was sampled at the time of HIV diagnosis in each patient.

A longitudinal follow-up was implemented and blood samples were collected at months 3, 6 and 12 after ART initiation. Clinicians received results of HIV-1 VL and CD4+ T cell counts in blood before each visit at months 6 and 12. The characteristics of the studied population at inclusion are detailed in Table 1. During the study, several periods of stock disruption of zidovudine, emtricitabine, nevirapine and lopinavir occurred.

Ethics

This study was approved by the Ethics Committee of INRSP (decision 23/12/CE-INRSP) and each participant signed a written consent form.

Samples

A fresh blood sample containing EDTA was used for CD4+ T cell counts. Blood plasma was obtained from a second whole-blood sample after centrifugation at 1500g for 20 min and stored at -80°C until analysis.

CD4+ T cell count

The CD4+ T cells were quantified at INRSP using the BD FACSCount™ System (Becton-Dickinson, Franklin Lakes, NJ, USA).

HIV RNA VL

HIV-1 RNA was quantified in blood plasma using the Abbott RealTime HIV-1 assay (Abbott Molecular, Rungis, France) at the Infectious Agents and Hygiene Department of the University Hospital of Saint-Etienne.

Table 1. Characteristics of the 119 patients included in the study at the time of initiation of ART

Characteristic	Value
Gender, n (%)	
female	95 (79.8)
male	24 (20.2)
Age, years, median (range)	34 (18-60)
CD4+ T cell count, cells/mm ³ , mean (SD)	346 (307)
HIV RNA viral load, log ₁₀ copies/mL, mean (SD)	4.93 (0.85)
Clinical stage ^a , n (%)	
I	39 (32.8)
II	33 (27.7)
III	41 (34.4)
IV	6 (5.1)
Acquisition route, n (%)	
heterosexual	118 (99.1)
homosexual	1 (0.9)
Marital status, n (%)	
single	20 (16.8)
married	78 (65.5)
widow(er)	7 (5.9)
unknown	14 (11.8)
Spouse HIV status, n (%)	
positive	26 (21.8)
on ART	23 (19.3)
not on ART	3 (2.5)
deceased	7 (5.9)
unknown	49 (41.2)
negative	37 (31.1)
ART regimen ^b , n (%)	
3TC/TDF/EFV	83 (69.7)
FTC/TDF/EFV	17 (14.3)
ZDV/3TC/NVP	11 (9.2)
ZDV/3TC/EFV	3 (2.5)
ZDV/3TC/LPV	3 (2.5)
3TC/TDF/LPV	1 (0.9)
3TC/ABC/LPV	1 (0.9)

3TC, lamivudine; TDF, tenofovir disoproxil fumarate; EFV, efavirenz; FTC, emtricitabine; ZDV, zidovudine; NVP, nevirapine; LPV, lopinavir; ABC, abacavir.

^aAccording to the WHO clinical staging classification of HIV disease.

^bStarted within 1 month after HIV diagnosis.

Genotypic resistance assay

All genotypic resistance assays were done retrospectively at the end of the study on the 119 blood plasma specimens taken before the initiation of ART and at month 12 (M12) after treatment initiation in case of viral escape. Total RNA was extracted using the NUCLEOSENS easyMAG platform (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). The HIV-1 reverse transcriptase (RT) and protease genes were amplified and sequenced by using the ViroSeq HIV-1 Genotyping System[®] (Celaera Diagnostics, CA, USA). The resulting sequences were aligned using ViroSeq[®] HIV-1 Genotyping System Software v2.6 (Celaera Diagnostics). HIV-1 subtype was established from the RT/protease sequence analysis using the Stanford HIV Drug Resistance Database (<https://hivdb.stanford.edu/hivdb/by-sequences/>). The drug resistance mutations (DRMs) were defined as those appearing in the WHO SDRM list.¹¹ The DRM interpretation was carried out according to the algorithm of the

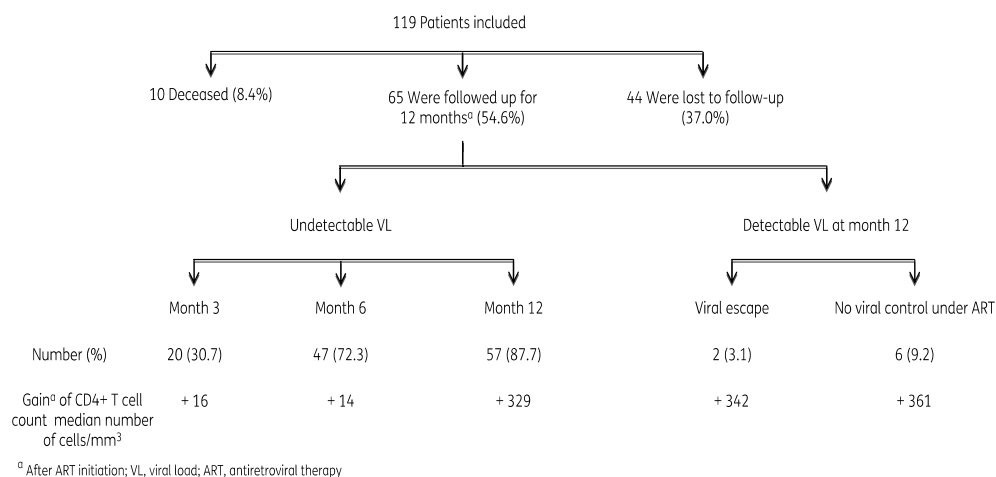


Figure 1. Flow chart of the study.

Agence Nationale de Recherches sur le SIDA et les hépatites virales (ANRS, September 2016, <https://www.hivfrenchresistance.org>).

Statistical analysis

Continuous variables were compared by using Student's t-test, analysis of variance and the non-parametric Mann-Whitney assay when required. Comparisons between categorical variables were done using the χ^2 test and Fisher's exact test when appropriate. The correlation between quantitative values was analysed using the Spearman correlation test. A P value <0.05 was considered to be statistically significant. The association of mortality with potential risk factors was assessed using Kaplan-Meier curves.

Results

Mortality data

As shown in Figure 1, samples could be collected prospectively over a period of 12 months in 65 out of 119 patients (54.6%). Ten people (8.4%) died during the study and 44 (37%) were lost to follow-up (LTFU). A statistically significant association was observed between mortality and a low CD4+ T cell count (≤ 200 cells/mm³), a clinical stage of III/IV and an HIV-positive status of the spouse (Figure 2a-c). Those who died were exclusively female. A young age, female gender and single marital status were associated with LTFU status (P values of 0.025, 0.048 and 0.049, respectively). Of note, the 20 single females participating in the study were all sex workers. Half of them exhibited clinical stage III or IV at the time of HIV-1 diagnosis.

Virological results at inclusion

HIV-1 viral load in blood

At the time of HIV diagnosis, the mean HIV-1 RNA load in blood was $4.93 \pm 0.85 \log_{10}$ copies/mL. CD4+ T cell values were negatively correlated with HIV-1 RNA VL in blood ($r = -0.29$; $P = 0.026$).

HIV-1 subtypes and phylogenetic analysis

Sixty-three complete RT/protease genes were successfully sequenced out of 119 blood specimens sampled at the time of

HIV-1 diagnosis. The most prevalent subtype was CRF02_AG (84.7%), followed by subtypes A1 (3.5%), G (3.5%), CRF06_cpx (3.5%), B (2.4%), CRF13_cpx (1.2%) and CRF26_A5U (1.2%).

Pre-treatment drug resistance mutations

Among the 63 RT/protease gene sequences obtained from blood, 11 exhibited at least one mutation conferring resistance to NNRTIs, NRTIs or PIs, which corresponds to a PDRM rate of 17.5% (Table 2). The PDRM percentages for NRTIs, NNRTIs and PIs were 3.2% (2/63), 15.9% (10/63) and 0%, respectively. The most prevalent NRTI resistance mutation was M184V (3.2%) followed by T215Y (1.6%). The following NNRTI resistance mutations were detected: K103N (6.3%), E138A (4.8%), Y181C (3.2%), K103E (1.6%), V106I (1.6%) and V179I (1.6%). In addition, the V179E non-polymorphic mutation was found in four patients (6.3%). The following polymorphic mutations were detected: L101V and K20I mutations in all tested protease gene sequences; and V90I and V179T in four (6.3%) and three (4.8%) RT genes. Two patients exhibited mutations conferring resistance to both NRTIs and NNRTIs.

Longitudinal follow-up after ART initiation

Dynamics of CD4+ T cell count and HIV RNA VL during 12 month follow-up

The mean CD4+ T cell count was significantly higher at M12 than at inclusion (586 ± 234 versus 341 ± 239 cells/mm³, $P = 5.3 \times 10^{-5}$). An undetectable HIV RNA VL in blood was reached after 3, 6 and 12 months of ART in 28.4%, 82.1% and 87.7% of patients, respectively. After ART initiation, a significant decrease in VL in the blood was observed between day 0 and M12 ($-3.14 \pm -1.22 \log_{10}$ copies/mL). As shown in Figure 1, five groups of patients could be distinguished: the first three had undetectable VL at M3, M6 and M12, respectively, the fourth reached an undetectable VL value at M3 or M6 but experienced viral rebound at M12, and the fifth had persistent viral replication during the whole follow-up period.

Downloaded from <https://academic.oup.com/jac/advance-article-abstract/doi/10.1093/jac/dky382/5115408> by Maluti Adventist College user on 05 October 2018

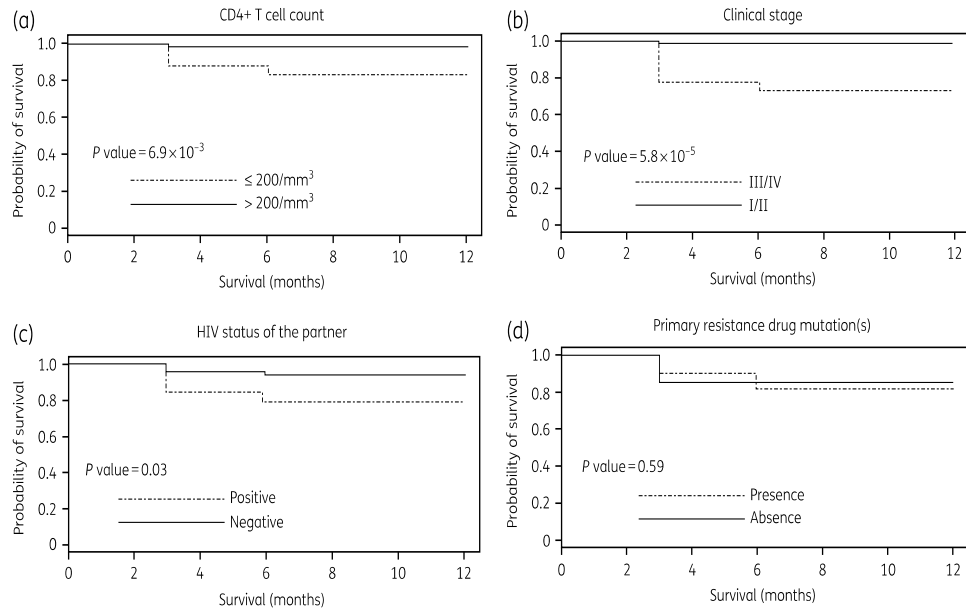


Figure 2. Kaplan-Meier survival estimates based on CD4+ T cell count (a), clinical stage (b), HIV status of the partner (c) and the presence of drug resistance-related mutations (d) at the time of HIV diagnosis.

Table 2. Characteristics of the 11 patients exhibiting one or more PDRM at the time of initiation of ART and 12 months later

Patient ID	age Gender	ART regimen (years)	clinical stage	At ART initiation			At M12 after start of ART			
				PDRM	drug resistance profile	CD4+ T cell count (cells/mm ³)	HIV-1 RNA load (log ₁₀ copies/mL)	CD4+ T cell count (cells/mm ³)	HIV-1 RNA load (log ₁₀ copies/mL)	
013	F	36	TDF/FTC/EFV	III	V106I, V179I	ETR ^a	4	5.78	429	<1.6
019	F	46	TDF/FTC/EFV	III	E138A	ETR ^a	53	6.21	deceased at M6	
027	F	27	TDF/FTC/EFV	III	K103N	EFV, NVP	452	4.90	802	<1.6
038	F	24	3TC/TDF/EFV	II	K103N	EFV, NVP	74	3.75	57	5.36
043	F	37	TDF/FTC/EFV	II	M184V, T215Y, K103E, Y181C	ZDV, 3TC, FTC, EFV, NVP, ETR, RPV	348	4.64	deceased at M3	
046	F	33	TDF/FTC/EFV	III	K103N	EFV, NVP	113	5.48	124	<1.6
087	F	38	3TC/TDF/EFV	I	E138A	RPV, ETR ^a	819	4.79	1305	<1.6
098	M	42	3TC/TDF/EFV	III	E138A	RPV, ETR ^a	7	5.24	342	<1.6
103	M	34	TDF/FTC/EFV	III	M184V, Y181C	3TC, FTC, EFV, NVP	178	4.60	LTFU	
104	M	54	3TC/TDF/LPV	III	V179T	ETR ^b	7	5.29	376	4.41
115	F	39	3TC/TDF/EFV	I	K103N	EFV, NVP	189	5.56	884	<1.6

3TC, lamivudine; EFV, efavirenz; ETR, etravirine; FTC, emtricitabine; LPV, lopinavir; NVP, nevirapine; RPV, rilpivirine; TDF, tenofovir disoproxil fumarate; ZDV, zidovudine.

^aLow level.

^bWhen associated with at least two other mutations.

Characteristics of patients who failed the first-line regimen at M12

In total, eight patients still tested positive for RNA HIV-1 in the blood 12 months after initiation of ART (Table 3). At that time,

three DRMs were detected in three patients: one was K103N, already present at the time of HIV diagnosis; the two others were K65E and L74V, selected during treatments with lamivudine/tenofovir/efavirenz and lamivudine/abacavir/lopinavir, respectively.

Table 3. Characteristics of the eight people who experienced a virological failure after 12 months of antiretroviral therapy

Patient ID	Gender	At the time of ART initiation		CD4+ T cell gain ^a	HIV-1 RNA viral load (log ₁₀ copies/mL)			Genotyping assay		
		age (years)	ART regimen		before ART	duration of ART (months)			drug mutation before ART/at M12	drug resistance profile at M12
						3	6	12		
No viral control										
011	F	29	3TC/TDF/EFV	-823	5.70	3.88	2.22	3.92	none/none	WT
015	F	34	3TC/TDF/EFV	-427	3.98	3.81	1.85	4.38	none/K65E	TDF
038	F	24	3TC/TDF/EFV	183	6.14	3.75	1.85	5.36	K103N/K103N	EFV NVP
060	F	38	3TC/TDF/EFV	26	4.35	2.80	1.90	3.91	none/none	WT
117	M	26	3TC/TDF/EFV	363	5.14	3.98	3.82	3.82	none/none	WT
118	M	25	3TC/TDF/EFV	804	5.60	2.42	ND	1.88	none/NA	unknown
Viral rebound										
002	F	37	3TC/ABC/LPV	72	4.69	2.47	1.6	2.60	none/L74V	ABC
003	F	52	3TC/TDF/EFV	350	5.21	2.31	1.6	2.07	none/NA	unknown

3TC, lamivudine; TDF, tenofovir; EFV, efavirenz; NVP, nevirapine; ABC, abacavir; LPV, lopinavir; ND, not done; NA, not available.

^aWithin 12 months of ART.

The resulting rate of acquired mutations was 3.1%. No DRM was found in three other patients and the genotyping assay was unsuccessful in the last two.

Among the 11 patients exhibiting PDRM in the blood at the time of diagnosis, 8 were sampled at M12. The HIV-1 VL was undetectable in the blood of six and positive in two people, one exhibiting a persistent K103N DRM already mentioned above, and one a V179T, not related to the lamivudine/tenofovir/lopinavir-based regimen in this patient. No association was observed between the presence of transmitted mutations and mortality rates (Figure 2d), the occurrence of virological failure and the gain in CD4+ T cells between diagnosis and 3, 6 and 12 months post-ART.

Therapeutic switches within the 12 month follow-up

During the survey period, 17 out of 65 patients (26.2%) had a therapeutic switch between 6 and 12 months of follow-up. These switches were caused by stock disruption of drugs in 70.5% of cases, a detectable viral load in blood after 6 months of treatment in 23.5% and an adverse effect (anaemia) in 6.0%.

Discussion

Our work aimed to check the efficacy of a 12 month first-line ART period in patients newly diagnosed as positive for HIV-1 in Bamako and monitored according to the national recommendations in Mali. One crucial point determining therapeutic success is adherence to treatment and the care system of people living with HIV, especially in RLCs. The retention rate we observed at M12 (54.6%) was unexpectedly low, as this usually ranges from 75% to 82% according to recent findings in a young male population in the KwaZulu-Natal area.^{12,13} Two main reasons may explain such a low adherence in our survey study: first, the mortality rate was high since 8.4% (exclusively female) of those enrolled died during the study; second, an immunosuppressed status related to late HIV diagnosis may have been a determining factor, as already described.¹⁴ No association between the presence of PDRM at the

time of HIV-1 diagnosis and mortality was observed. However, one of the deceased women harboured many DRMs (M184V, T215Y, K103E, Y181C) at baseline, conferring resistance to two out of three drugs of the implemented ART regimen. Since our survey was limited to 1 year, it cannot be excluded that these pre-treatment mutations could play a deleterious role in the longer term. Many reasons for patients delaying HIV testing have been suggested, such as an incorrect perception of the risk of infection, fear of diagnosis, concern about stigmatization or a lack of knowledge of the benefits of successful ART.¹⁵ Second, living LTFU people in our study were exclusively female and mostly sex workers. It was previously shown that women are more reluctant to start therapy and less adherent to ART than males.^{16,17} A recent study indicated that health education, counselling, financial incentives and home visits may encourage pregnant women to remain in the healthcare system.¹⁸ As a whole, the low rate of retention in this ART programme may be a primary major obstacle to the success of the 90-90-90 plan objectives in some key affected populations. Therefore, it is urgent to better identify the causes of poor adherence, to solve them and to regularly check the HIV care cascade.

Concomitant with ART scale-up, it is crucial to survey both the transmitted DRM (TDRM) rate and the emergence of acquired resistance in people receiving antiretroviral drugs. Indeed, this may impact the success of first-line therapies and salvage options in RLCs and, in this way, the achievement of the third 90 target. To this end, recommendations to monitor transmitted HIV drug resistance in countries involved in antiretroviral access programmes were issued by WHO in 2008.¹¹ Because we could not confidently state that all people enrolled in our study did not experience prior antiretroviral drug exposure, we choose to use the term PDRM rather than TDRM. We observed higher rates of global (17.5%) and NNRTI (15.9%) PDRMs than those recently reported by WHO in the four African countries participating in the drug resistance survey programme (Cameroon, Namibia, Uganda and Zimbabwe).¹⁹ Another study, done in Burkina Faso in 2006, reported a TDRM rate of 8.2%, most of the strains being resistant to NNRTIs.²⁰ Mali does not currently participate in the WHO survey but previous studies

published in 2006, 2010 and 2013 demonstrated levels of TDRMs of 11.5%, 9.9% and 7.9%, respectively.^{10,21,22} Despite the fact that these studies differed in terms of the size and characteristics of the studied populations, our findings support an increase in PDRMs over time in Mali. In >10% of blood samples we observed mutations other than K103N conferring cross-resistance to most NNRTIs (E138A, V106I, V179I and Y181C), which could compromise the use of second-generation NNRTIs such as etravirine or rilpivirine, which are still not used in Mali. These DRMs have also been observed by others in untreated people or in patients failing first-line ART.^{10,22}

In contrast, we found a low prevalence (3.2%) of mutations conferring resistance to NRTIs, mainly M184V, similarly to recent survey data from WHO.¹⁹ Similarly, no PI resistance-related mutation was detected in our work, probably owing to the limited use of this class of drugs in Mali.

Because of the limited size of the population enrolled in our study, additional data are needed at the country level to corroborate this increasing rate of PDRMs in Mali. In case of confirmation, it would be urgent to consider alternatives to usual first-line drugs, perhaps by switching NNRTIs to integrase inhibitors, as recently recommended by WHO.^{23,24}

There are few studies examining the association between pre-treatment resistance and VF during ART. In our study, among the 11 patients exhibiting PDRMs in the blood at the time of diagnosis, 2 died within 6 months of follow-up, 1 was LTFU and 8 were sampled at M12. At that time, six exhibited an undetectable HIV-1 VL in blood and two tested positive (VL at 5.36 and 4.41 log₁₀ copies/mL). Surprisingly, among the six patients with well-controlled VL, three were on a tenofovir/emtricitabine/efavirenz combined regimen and exhibited a K103N PDRM in their blood, suggesting good efficacy of the NRTI backbone and a high adherence to ART, at least during this 1 year survey period. These patients were also characterized by a CD4+ T cell count >100 cells/mm³ at the time of ART initiation. In the two patients with a detectable HIV-1 viraemia, the K103N PDRM was still present at M12 in the first one and a V179T PDRM was still detectable in the second one, although this mutation was not believed to impair the efficacy of the ongoing ART regimen in this patient (tenofovir/emtricitabine/efavirenz). In two European studies, low rates of VF were observed (4.7% and 6.5%, respectively) 12 months after ART start in adults exhibiting TDRMs at baseline.^{25,26} Higher rates of VF have been reported in children who may have acquired resistance from maternal ART exposure.²⁷ As these observations were obtained during short-term ART exposure, the impact of PDRMs on long-term therapy in the context of limited access to second- (or third)-line regimens and of stock disruptions has to be further investigated.

Regarding the occurrence of VF, 12.3% of people tested positive for HIV-1 RNA 1 year after starting ART, which is less than in a previous study.²⁸ A persisting viraemia whilst on ART could be owing to several factors, such as low adherence, drug stock disruptions and/or the presence or emergence of DRMs. In our experience, after 1 year of ART only three people exhibited DRMs, one of whom already had the DRM at the time of ART initiation. Our acquired drug resistance rate of 3.1% was low compared with those reported by WHO in 2017.¹⁹ This could be due to the relatively low VL measured in these patients (in six of them <4 log₁₀ copies/mL), since a correlation between high VL and presence of DRMs has recently been suggested.⁵ Therefore, an adherence reinforcement could be

recommended in people exhibiting low detectable VL in order to spare further antiretroviral options. This observed low acquired DRM rate is reassuring, but the duration of our follow-up was limited to 12 months. An increased emergence of DRMs has been described between 12 and 24 months of ART, mostly conferring resistance to NRTIs and etravirine.²⁸ These findings plead in favour of the routine use of VL and genotyping resistance assays in order to detect first-line regimen escapes early and switch therapy quickly in the case of detection of DRMs. This rapid switch is crucial since continuation of a failing regimen because of limited access to virological monitoring has been suggested to be associated with high levels of resistance.²⁸ Moreover, delayed switches to second-line treatment preclude the efficacy of drugs for third-line therapy.²⁹ In our experience, switches were mostly due to stock disruption of drugs rather than a detectable VL, highlighting recurring logistical issues and also some disparities in terms of patients' monitoring according to care centre. Since no resistance assay results were available during the course of the follow-up, we could not evaluate their impact on medical care.

On the whole, our study showed a huge proportion of non-adherence to the ART programme, but a reassuringly high percentage of virological success as well as a low level of acquired mutations in adherent patients after 1 year of therapy. These findings emphasize the need to reinforce education to improve retention in the care system. We also observed a worryingly high level of primary resistance to antiretroviral drugs, which underscores the necessity for regular virological monitoring to optimize the use of therapeutic options.

Acknowledgements

We are indebted to Mrs Véronique Sauron and Audrey Jasserand for excellent technical assistance.

Funding

This work was supported by a grant from INRSP (number 004/02CT/2011/INRSP/DG).

Transparency declarations

None to declare.

References

- 1 UNAIDS. *UNAIDS Fact Sheet*. July 2017. http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_en.pdf.
- 2 UNAIDS. *90-90-90. An Ambitious Treatment Target to Help End the AIDS Epidemic*. <http://www.unaids.org/en/resources/documents/2017/90-90-90>.
- 3 World Health Organization. *Guideline on When to Start Antiretroviral Therapy and on Pre-Exposure Prophylaxis for HIV*, WHO. www.who.int/entity/hiv/pub/guidelines/early-release-arv/en/.
- 4 Bain LE, Nkoke C, Noubiap JN. UNAIDS 90-90-90 targets to end the AIDS epidemic by 2020 are not realistic: comment on "Can the UNAIDS 90-90-90 target be achieved? A systematic analysis of national HIV treatment cascades". *BMJ Glob Health* 2017; **2**: e000227.
- 5 Guichet E, Aghokeng A, Serrano L et al. Short communication: high viral load and multidrug resistance due to late switch to second-line regimens

- could be a major obstacle to reach the 90-90-90 UNAIDS objectives in sub-Saharan Africa. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2016; **32**: 1159–62.
- 6 Landler J, Akonde A, Pizzocolo C *et al*. Switch to second-line ART in Western Africa routine care: incidence and reasons for switching. *AIDS Care* 2011; **23**: 75–8.
- 7 Hamers RL, Sigaloff KC, Kityo C *et al*. Emerging HIV-1 drug resistance after roll-out of antiretroviral therapy in sub-Saharan Africa. *Curr Opin HIV AIDS* 2013; **8**: 19–26.
- 8 Aghokeng AF, MonleM, Eymard-Duvernay S *et al*. Extraordinary heterogeneity of virological outcomes in patients receiving highly antiretroviral therapy and monitored with the World Health Organization public health approach in sub-Saharan Africa and southeast Asia. *Clin Infect Dis* 2014; **58**: 99–109.
- 9 Konou AA, Dagnra AY, Vidal N *et al*. Alarming rates of virological failure and drug resistance in patients on long-term antiretroviral treatment in routine HIV clinics in Togo. *AIDS* 2015; **29**: 2527–30.
- 10 Maiga AI, Fofana DB, Maiga AC *et al*. Transmitted antiretroviral drug resistance in newly HIV-infected and untreated patients in Segou and Bamako, Mali. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2013; **29**: 182–6.
- 11 Bennett DE, Myatt M, Bertagnolio S *et al*. Recommendations for surveillance of transmitted HIV drug resistance in countries scaling up antiretroviral treatment. *Antivir Ther* 2008; **13** Suppl 2: 25–36.
- 12 Ekouevi DK, Balestre E, Ba-Gomis FA *et al*. Low retention of HIV-infected patients on antiretroviral therapy in 11 clinical centers. *Trop Med Int Health* 2010; **15** Suppl 1: 34–42.
- 13 Huerga H, Van Cutsem G, Ben Farhat J *et al*. Progress towards the UNAIDS 90-90-90 goals by age and gender in a rural area of KwaZulu-Natal, South Africa: a household-based community cross-sectional survey. *BMC Public Health* 2018; **18**: 303.
- 14 Melchior JC, Niyongabo T, Henzel D *et al*. Malnutrition and wasting, immunodepression, and chronic inflammation as independent predictors of survival in HIV-infected patients. *Nutrition* 1999; **15**: 865–9.
- 15 Geretti AM, Loutfy M, D'Arminio Monforte A *et al*. Out of focus: tailoring the cascade of care to the needs of women living with HIV. *HIV Med* 2017; **18** Suppl 2: 3–17.
- 16 Rosin C, Elzi L, Thurnheer C *et al*. Gender inequalities in the response to combination antiretroviral therapy over time: the Swiss HIV Cohort Study. *HIV Med* 2015; **16**: 319–25.
- 17 Puskas CM, Forrest JI, Parashar S *et al*. Women and vulnerability to HAART non-adherence: a literature review of treatment adherence by gender from 2000 to 2011. *Curr HIV/AIDS Rep* 2011; **8**: 277–87.
- 18 Clouse K, Mongwenyana C, Musina M *et al*. Acceptability and feasibility of a financial incentive intervention to improve retention in HIV care among pregnant women in Johannesburg, South Africa. *AIDS Care* 2018; **30**: 453–60.
- 19 World Health Organization. *HIV Drug Resistance Report*. 2017. <http://www.who.int/hiv/topics/drugresistance/en>.
- 20 Vergne L, Diagbouga S, Kouanfack C *et al*. HIV-1 drug-resistance mutations among newly diagnosed patients before scaling-up programmes in Burkina Faso and Cameroon. *Antivir Ther* 2006; **11**: 575–9.
- 21 Derache A, Maiga AI, Traore O *et al*. Evolution of genetic diversity and drug resistance mutations in HIV-1 among untreated patients from Mali between 2005 and 2006. *J Antimicrob Chemother* 2008; **62**: 456–63.
- 22 Haidara A, Chamberland A, Sylla M *et al*. High level of primary drug resistance in Mali. *HIV Med* 2010; **11**: 404–11.
- 23 WHO. *Guidelines on the Public Health Response to Pretreatment HIV Drug Resistance*. Geneva: World Health Organization, 2017.
- 24 Phillips AN, Cambiana V, Nakaqawa F *et al*. Cost-effectiveness of public-health policy options in the presence of pretreatment NNRTI drug resistance in sub-Saharan Africa: a modelling study. *Lancet* 2017; **5**: e146–54.
- 25 Zu Knyphausen F, Scheufele R, Kucherer C *et al*. First line treatment response in patients with transmitted HIV drug resistance and well defined timepoint of HIV infection: updated results from the German HIV-1 seroconverter study. *PLoS One* 2014; **9**: e95956.
- 26 Wittkop L, Günthard HF, de Wolf F *et al*. Effect of transmitted drug resistance on virological and immunological response to initial combination antiretroviral therapy for HIV (EuroCoord-CHAIN joint project): a European multicohort study. *Lancet Infect Dis* 2011; **11**: 363–71.
- 27 Crowell CS, Maiga A, Sylla M *et al*. High rates of baseline drug resistance and virological failure among ART-naïve HIV-infected children in Mali. *Pediatr Infect Dis J* 2017; **36**: e258–63.
- 28 Messou E, Chaix ML, Gabillard D *et al*. Increasing rate of TAMs and etravirine resistance in HIV-1-infected adults between 12 and 24 months of treatment: the VOLTART cohort study in Côte d'Ivoire, West Africa. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2013; **64**: 211–9.
- 29 Maiga AI, Fofana DB, Cisse M *et al*. Characterization of HIV-1 antiretroviral drug resistance after second-line treatment failure in Mali, a limited-resources setting. *J Antimicrob Chemother* 2012; **67**: 2943–8.

Conclusion

Nos résultats plaident en faveur d'une augmentation de la résistance primaire du HIV-1 aux antirétroviraux au fil du temps au Mali. Le faible taux de rétention dans le programme de TAR peut constituer un premier obstacle majeur à la réalisation des objectifs 90/90/90. Concomitamment à la mise à l'échelle du traitement antirétroviral, il est essentiel d'étudier à la fois le taux de TDRM et l'émergence d'une résistance acquise chez les personnes recevant des médicaments antirétroviraux.

Compte tenu de la compartimentation du HIV-1, d'autres réservoirs comme le tractus génital et anal, doivent faire l'objet de surveillance de la résistance car ces réservoirs constituent des voies d'entrées importantes du HIV-1.

2/ Tests de charge virale et de résistance génotypique aux antirétroviraux à partir de support de type DBS

Introduction

L'accès à la thérapie antirétrovirale a permis de réduire la prévalence du virus HIV dans les pays d'Afrique subsaharienne, qui supportent encore le fardeau le plus lourd de la pandémie ³⁴⁴. Cependant, dans les pays à faible revenu comme le Tchad, le suivi de l'infection par la charge virale plasmatique du HIV sont recommandées par l'OMS (2013) mais ne sont pas disponibles pour tous les patients traités par TAR alors qu'il s'agit d'un examen central dans la surveillance de l'échappement thérapeutique pouvant nécessiter un changement thérapeutique. De même, en cas d'échec du TAR, les tests de génotypage pour la détection de la résistance aux antiviraux ne sont pas disponibles dans la pratique clinique. Ces tests sont très importants dans le suivi car l'accès gratuit mais discontinu aux schémas thérapeutiques disponibles pour la première ligne, composée d'INTIs associés à un INNTI (généralement l'efavirenz qui possède une barrière génétique faible) peut rapidement conduire à l'émergence d'une résistance aux antirétroviraux chez les patients sous TAR, ce qui peut impacter leur santé et augmenter le risque de contamination. Par conséquent, la transmission hétérosexuelle ou par voie mère-enfant de souches HIV résistantes aux INNTIs ou aux INTIs pourrait représenter un problème majeur de santé publique et avoir un impact important sur les recommandations concernant la stratégie de choix des schémas thérapeutiques pour les patients nouvellement découverts positifs.

Situé en Afrique centrale, le Tchad avait en 2016, une séroprévalence estimée à 1,3% dans la population sexuellement active ³. Parmi les 30 pays les plus touchés par la pandémie, le Tchad est classé cinquième en terme de taux de mortalité (71 pour 1000) ³⁵². Les rares données disponibles sur la résistance à la trithérapie au Tchad montrent des taux élevés de mutations primaires induisant un échec virologique chez les patients infectés par le HIV sous TAR ³⁵³. De plus ce pays est bordé en partie par le Cameroun, connu comme étant l'épicentre de l'épidémie et présente de ce fait une grande diversité génétique comprenant plusieurs groupes HIV-1 (M, N, O et P) et HIV-2 comme plusieurs autres sous-types et recombinants ³⁵⁴.

Objectifs

Les principaux objectifs de cette étude étaient : (i) d'évaluer la faisabilité des tests de charge virale et de génotype de résistance à partir du support DBS, (ii) d'évaluer la prévalence de la résistance primaire aux antirétroviraux (INTI, INNTI, IP) chez 80 patients infectés par HIV-1 nouvellement dépistés et n'ayant jamais reçu de traitement antirétroviral et (iii) déterminer les sous-types du HIV-1 infectant ces 80 patients.

Patients et méthodes

D'août à novembre 2012, 80 patients séropositifs vis à vis de HIV-1 et naïfs de traitement ont été inclus de manière prospective, au moment du diagnostic sérologique de leur infection. Ce diagnostic a été effectué par les tests Determine[®] et Immunocomb[®] HIV1 & 2 à l'Hôpital Le Bon Samaritain. Tous les patients inclus ont donné leur consentement écrit libre et éclairé.

Les données suivantes ont été collectées lors de la consultation : le sexe, l'âge, le mode de contamination, la date présumée de contamination, la présence d'une infection opportuniste et le stade clinique selon la classification de l'OMS [3]. Des échantillons de sang ont été collectés pour chaque patient sur tube EDTA pour le comptage des lymphocytes T CD4+ et sur support DBS pour les tests de charge virale et de génotype.

Numération des lymphocytes T CD4+ sanguins: elle a été réalisée avant la mise sous traitement (J0) et 3 mois (M3) après le début de la multi thérapie à l'hôpital Le bon Samaritain, en utilisant le FACS[®] Count conformément aux recommandations du fabricant.

Échantillons de DBS : des gouttes de sang ont été obtenues par ponction au bout du doigt. Pour chaque échantillon de sang, 1 carte Whatman 903 a été utilisée. Cinq cercles d'environ 50µL ont été remplis sur chaque carte. Les cartes ont été séchées pendant une nuit à température ambiante, placées dans des sacs à fermeture éclair individuels contenant un dessicant à base de silice et stockées à température ambiante pendant 1 mois au Tchad en attendant leur acheminement au Laboratoire de Virologie du CHU de Saint-Etienne où ils ont été conservés à -80 °C jusqu'à utilisation.

Quantification de la charge virale ARN du HIV-1 : Cette analyse a été réalisée sur des échantillons de DBS prélevés avant le début de la multi thérapie. Les échantillons de DBS ont été testés en utilisant le test Abbott Real-Time HIV-1 combinant une extraction automatisée par l'appareil m2000sp et une amplification en temps réel par l'instrument m2000rt. Pour les échantillons de DBS, l'extraction de l'ARN a été effectuée selon la procédure suivante : Deux spots de sang de 6 mm ont été coupés de chaque carte à l'aide d'une perforatrice. Celle-ci a été nettoyée par perforation à travers une carte propre entre 2 cartes de patients différents. Les spots découpés ont ensuite été transférés dans des tubes contenant 1,7 ml de tampon de lyse Abbott et incubées 2 heures sous agitation intermittente (2 spots par tube). Un volume d'un ml d'éluât a ensuite été transféré dans un tube en polypropylène de 12 x 75mm puis traité avec les contrôles et les étalons en utilisant le protocole sur m2000sp, conformément aux instructions du fabricant. La détection en temps réel a été effectuée sur m2000rt en utilisant le protocole DBS (1mL), conformément aux instructions du fabricant.

Test de génotype de résistance de HIV-1 : L'extraction de l'ARN a été effectuée sur DBS en utilisant la technologie EasyMAG[®] (bioMérieux SA, France). Deux spots de 6 mm ont été ajoutés à 2 ml de solution de lyse NucliSENS[®]. Après 2 heures d'agitation douce, le surnageant du lysat a été récupéré dans des cryotubes de 2 mL. L'étape d'extraction a été réalisée sur 500µL de surnageant à l'aide de l'instrument NUCLISENS[®] easyMAG[®] au protocole Specific B, recommandé par le fabricant (bioMérieux). Le génotypage a été effectué en utilisant la trousse ViroSeq HIV-1 (Abbott Molecular). L'analyse des séquences a été réalisée à l'aide du logiciel ViroSeq HIV-1, V2.6. L'interprétation des résultats a été fait selon l'algorithme des résistances du HIV-1 aux médicaments de l'ANRS (<http://www.hivfrenchresistance.org/>).

La détermination du sous-type du HIV-1 : Les séquences de nucléotides générées ont été utilisées pour l'analyse des sous-types, en utilisant la base de données de Stanford (HIV db).

Résultats

Chez les 80 patients inclus dans notre étude, l'âge médian (IQR) était de 32 [18-56] ans, le sex-ratio F/H de 0,58. La source de contamination était la voie sexuelle exceptée pour un cas (accident d'exposition au sang). Le nombre médian de CD4 était de 348 [13-1 665] cellules / ml avant l'initiation du TAR. Cinquante pour cent des patients avaient un taux de CD4 <350 cellules / mL, 16% un taux de CD4 compris entre 350 et 500 cellules / mL et 34% un taux de CD4 > 500 cellules / mL.

En ce qui concerne la quantification de l'ARN du HIV-1, 83,75% (67 sur 80) patients présentaient une charge virale d'ARN du HIV-1 > 40 copies / ml. Chez ces 67 patients, la charge virale médiane était de 36 891 [603-2 798 968] copies d'ARN du HIV-1 / ml. Chez les 13 autres, de nouveaux spots de sang obtenu du même prélèvement de DBS ont été testés. Treize patients avaient une charge virale indétectable. Nous avons repris la sérologie par le test Determine sur l'éluât des DBS, qui s'est avérée négative pour sept patients.

En ce qui concerne le suivi à 3 mois, 9 personnes ont été perdues de vue, 6 sont décédées et 5 ont changé de Centre de prise en charge. Au total, 60 ont donc pu être suivies dont 50 ont été mises sous ARV.

Distribution de sous-type

Comme le montre la figure 37, Le sous-type de HIV-1 le plus répandu était le sous-type CRF11_CPX, identifié dans 7 des 24 échantillons (29%). La distribution des autres sous-types était la suivante : quatre D (16,6%), trois CRF45_CPX (12,5%), trois CRF13_CPX (12,5%), deux G (8,3%), deux CRF02_AG (8,3%), un A1 (4,2%), un G / D recombinant (4,2%) et un B (4,2%).

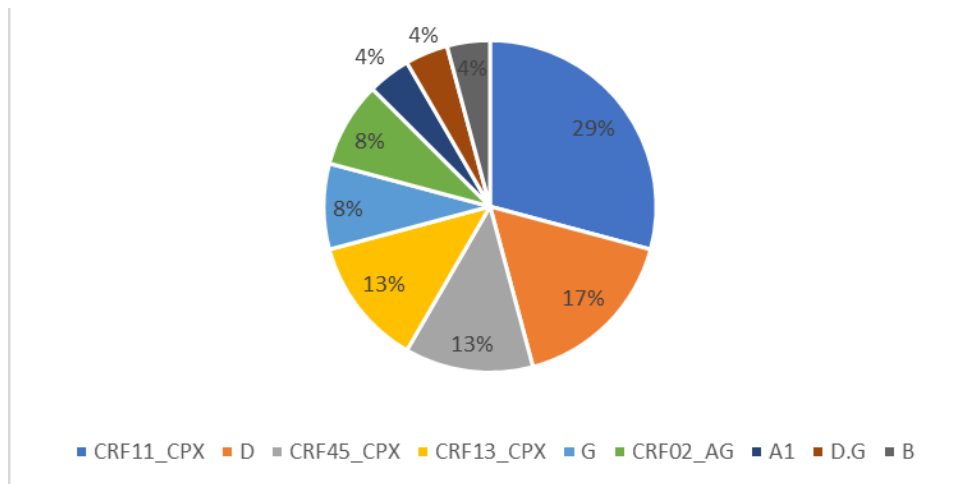


Figure 37. Les sous-types de HIV-1 retrouvés au Tchad.

Mutations de résistance

Le gène *pol* a été amplifié et séquencé avec succès à partir de 24 échantillons prélevés au moment du dépistage (en absence de traitement). Le tableau 1 résume les mutations de résistances primaires aux médicaments observées. Sept (29,2%) des 24 patients pour lesquels la RT a été séquencé avec succès ont présenté un virus avec des mutations conférant une résistance à au moins un médicament. La mutation la plus fréquemment détectée était le V106I (20,8%). La mutation K103N a été observée chez 2 sujets (8,3%). Un K65E et un V179D ont également été détectés chez deux individus distincts. La mutation de résistance majeure à l'inhibiteur de la protéase, la L90M a été observée chez un patient (4,1%). D'autres mutations de polymorphisme (L10I, G16E, K20I, M36I, I62V, V77I, L89M) étaient présentes sur 21 séquences (87,5%). Les séquences de protéase du HIV-1 chez 3 patients (12,5%) ont montré une résistance au saquinavir et une à la résistance combinée au nelfinavir, à l'indinavir et à l'atazanavir.

Tableau 9 : caractéristiques démographiques et immuno-virologiques des 24 patients infectés par HIV-1 et non traités ayant bénéficié d'un test de résistance génotypique valide à partir du DBS

ID	Sous type	CD4 cells/mm ³	Sexe Age		Charge virale (Log/ml)	Mutations observées			Résistance	
						Gène de la Protease		Gène de la Reverse Transcriptase	Complète	Possible
1	CFR11_CPX	495	M	38	4,57	I62V	V77I			
10	B	422	M	35	4,44				K65E	TDF
11	CRF11_CPX	236	F	29	3,82	G16E	V77I			
13	G	265	F	20	4,71					
16	CRF45_CPX	280	F	25	4,28	K20I	M36I	L89M	V179D	RPV
18	A1	164	F	43	4,37	L10I	M36I	L89M	L90M	NFV
28	CRF13_CPX	641	M	33	4,02	K20I	M36I	V77I		SQV IDV ATV
31	CRF11_CPX	267	F	23	5,26	L10I	M36I	V77I	L89M	
32	CRF11_CPX	73	M	26	4,78	L10I	M36I	V77I	L89M	
33	D	198	M	37	3,63	K20R	M36I		V106I	
37	CRF45_CPX	435	F	37	4,61	M36I	L89M			
42	D	64	M	38	5,36	K20I	M36I	V77I	L89M	V106I
46	CRF45_CPX	224	F	33	4,73	L10I	K20I	M36I	L89M	SQV
51	CRF13_CPX	92	M	40	4,99	K20I	M36I	L89M		V106I
56	D	1049	M	53	4,97	M36I	I62V		V106I	
60	D	22	M	30	5,79	K20R	M36I		V106I	
63	D.G	45	M	45	5,7	K20I	M36I	I62V	L89M	SQV
66	G	438	M	30	5,43					
69	CRF11_CPX	252	M	44	5,75	I62V	V77I	L89I		
70	CRF02_AG	63	F	32	5,56	K20I	M36I	L89M	K103N	EFV, NVP
72	CRF11_CPX	121	M	34	5,47	I62V	V77I			
75	CRF13_CPX	219	F	28	4,38	K20I	M36I	V77I		
77	CRF02_AG	128	F	30	5,49	K20I	M36I	L63P	L89M	
79	CRF11_CPX	247	F	39	5,95	I62V	V77I		K103N	EFV, NVP

ATV: Atazanavir, EFV: Efavirenz, IDV: Indinavir, NFV: Nelfinavir, NVP: Nevirapine, RPV: Rilpivirine, SQV: Saquinavir, TDF: Tenofovir

Discussion

Le but de notre travail était d'évaluer la faisabilité des tests de charge virale et de résistance génotypique à partir de support de type DBS prélevés et transportés dans des conditions de vie réelle sur le terrain. L'utilisation de DBS est largement documentée dans la littérature ^{307,309,311,355}, plusieurs études réalisées à l'aide d'échantillons de sang ont montré que le DBS constitue une bonne alternative, tant pour mesurer la charge virale ARN, le diagnostic précoce chez le nouveau-né (ADN proviral) que pour les tests de génotypage. Au total, dans notre étude 83,75% des DBS ont pu être exploités pour la charge virale. Treize DBS ont conduit à des résultats <40 copies/ml malgré l'absence de traitement chez les personnes correspondantes. Parmi ceux-ci, sept étaient négatif par le test Determine.

Le test de génotypage de résistance était réussi dans 35,82% (24/67) sur les DBS ayant une charge virale détectée. Le séquençage a réussi pour les CV ≥ 4logcopies/ml, mais il faut noter qu'il y a eu un temps de 6 mois entre la réalisation de la charge virale et le séquençage avec une conservation à -20°C.

Ce travail nous a toutefois permis d'évaluer la prévalence de la résistance primaire aux antirétroviraux qui était de 29%. Il a également permis de déterminer les sous-types du HIV-1 circulants dans ce groupe de 24 patients. La faible observance du TAR et l'utilisation d'une 1^{ère} ligne comportant des INNTI à barrière génétique faible, peu expliquer ce risque d'émergence de résistance ³⁵⁴. Il faudrait bien sûr vérifier ce taux très élevé dans une étude à plus large échelle. La mutation la plus fréquemment détectée était le V106I (20,8%) décrit comme un polymorphisme naturel chez les sous-types non-B du HIV-1 et conférant une résistance à l'étravirine lorsqu'elle est associée à au moins une autre mutation. D'autres mutations observées conféraient une résistance complète à l'éfavirenz et à la névirapine et dans 8,3% des cas une résistance au ténofovir et une résistance à la rilpivirine. Aghokeng et al., en 2009 trouvaient deux (sur 34 échantillons) cas de mutations sur la RT dont une mutation de K103N et une mutation de D67D/N ³⁵⁶. Une fréquence importante de polymorphismes naturels était observée sur la protéase. Les séquences de protéase du HIV-1 ont montré une résistance au saquinavir et une à la résistance combinée au nelfinavir, à l'indinavir et à l'atazanavir. Le schéma thérapeutique de 1^{ère} intention comprenait un IP, le plus souvent l'indinavir. Une bonne partie des mutations que

nous avons observé a également été décrite chez des patients suivi au bout de six mois d'initiation au traitement en Tchad³⁵³.

L'analyse de la diversité des sous-types a montré une prévalence plus élevée du sous type CRF11_CPX (33%), suivi du D (19%), du CRF45_CPX (14%). La diversité des sous types peut s'expliquer par la proximité avec le Cameroun. Plusieurs études, ont trouvé les mêmes sous types avec des fréquences différentes, avec soit le CRF02_AG et J ou le CRF11_cpx comme sous type prédominant^{353,354,356}.

Enfin, 50% des patients avaient un taux de TCD4 < 350 cellules/mm³ au moment du dépistage ce qui suggère que le diagnostic est tardif au Tchad comme dans de nombreux pays en développement.

En conclusion, le faible nombre d'échantillons et l'absence de résultats de référence obtenus sur un support classique de type plasma sanguin constituent la principale limite de cette étude. Nous pensons qu'une mauvaise conservation ayant détruit ou fragmenté l'ARN voire les anticorps pourrait expliquer les résultats négatifs obtenus en charge virale et en test sérologique Determine. Le faible volume d'échantillonnage (2 spots de 50µl) pourrait être une explication supplémentaire pour les échecs de génotypage de même que la mauvaise qualité des spots.

Le nouveau protocole DBS optimisé de la technologie HIV-1 Realtime Abbott semble néanmoins satisfaire aux critères de performance de l'OMS pour l'utilisation de DBS pour la surveillance de la CV. Une forte corrélation entre les résultats obtenus à partir de plasma frais et de DBS a été démontrée³⁰⁹.

Partie 2 : évaluation de l'efficacité du traitement antirétroviral dans les compartiments muqueux : profils de résistance aux antirétroviraux, influence du microbiote

1/ Efficacité dans le compartiment salivaire et génital et composition du microbiote vaginal

Introduction

Les sécrétions cervico-vaginales sont considérées comme le principal vecteur de la transmission du HIV-1 de la femme infectée à son partenaire sexuel et/ou à son enfant en cas de transmission périnatale. Le traitement antirétroviral réduit la quantité de virus dans les sécrétions génitales et permet de limiter le risque de transmission sans l'annuler totalement ²¹⁶.

Une excrétion génitale persistante de HIV-1 dans le contexte d'un TAR efficace au niveau sanguin (CV en dessous du seuil de détection) est probablement multifactorielle : mauvaise diffusion des ARV dans les tissus, facteurs d'inflammation locaux, dysbiose vaginale etc. potentialisant l'excrétion virale ³⁵⁷.

La résistance constitue également une préoccupation majeure au cours de la prise en charge thérapeutique de l'infection à HIV-1. Il a été démontré que l'utilisation des tests de résistance génotypiques à la découverte de séropositivité et au cours des échecs thérapeutiques permettait d'optimiser le choix du traitement. Ces tests sont communément pratiqués sur des échantillons de sang mais rarement sur des prélèvements muqueux de type sécrétions génitales, source potentielle de contamination. Il s'agit de la première étude au Mali sur les réservoirs muqueux (génitaux et salivaires) de patients infectés par HIV-1. Il s'agit de la même cohorte que celle décrite dans l'étude présentée plus haut dans l'article ¹³⁵⁸.

Objectifs

Les objectifs de cette étude étaient (i) d'évaluer l'efficacité du TAR sur le compartiment salivaire et génital de personnes nouvellement dépistées à Bamako, (ii) d'établir le profil de résistance primaire génotypique aux ARV dans les sécrétions génitales et (iii) d'étudier la composition du microbiote vaginal avant et après 1 an de TAR.

Patients et méthodes

Nous avons réalisé une étude de suivi longitudinal. Elle concernait des PVVIH nouvellement dépistés sur 3 sites de prise en charge du HIV-1 (CESAC, USAC commune¹ et la Clinique les Halles) à Bamako. Les patients ont été inclus du 1^{er} juin 2014 au 31 mai 2015. Nous avons étudié la réponse au TAR dans la salive et les sécrétions génitales de 119 personnes (24 hommes et 95 femmes) nouvellement dépistées séropositives au HIV-1. Pour cela nous avons évalué la charge virale dans le sang, au niveau génital et salivaire puis réalisé un test génotypique de résistance au laboratoire de Virologie du CHU de Saint Etienne. Les patients ont été suivi à 3, 6 et 12 mois.

Tous les patients ont donné leur consentement libre et éclairé avant leur inclusion. Nous avons obtenu l'approbation du comité d'éthique de l'INRSP suivant la décision 23/12/CE-INRSP.

Prélèvements :

- *Sperme* : il a été collecté après masturbation et recueil dans un récipient stérile. Les différentes fractions (plasma séminal et cellules mononuclées) ont été obtenues par centrifugation sur gradient de densité (Puresperm®). Ces fractions ont été aliquotées (2ml) et congelées à -80°C avant utilisation.
- *Sécrétions cervico-vaginales* : un prélèvement de sécrétions cervico-vaginal a été obtenu pour chaque femme à M0 et M12, par lavage avec 10 cc de sérum physiologique³⁵⁹. Les prélèvements ont été répartis en aliquots de 2ml et congelés à -80°C avant utilisation.
- *Salive totale* : un prélèvement de salive totale a été effectué à J0 et M12 pour chaque patient, les aliquots (2ml) obtenus ont été congelés à -80°C avant utilisation.
- *Sang* : les échantillons de sang veineux ont été prélevés sur deux tubes EDTA de 5ml à J0, M3, M6 et M12 pour chaque patient. Le plasma a été recueilli et conservé à -80°C avec le génotypage.

Méthodes :

Quantification de la charge virale de l'ARN du HIV-1 : les échantillons (sang, SCV, sperme et salive) ont été testés en utilisant le test Abbott-Real-Time HIV-1 combinant une extraction automatisée par l'appareil m2000sp et une amplification en temps réel par l'instrument m2000rt. L'extraction et la détection (en temps réel) de l'ARN ont été effectuées en utilisant respectivement les protocoles sur m2000sp et m2000rt selon les instructions du fabricant (Abbott Molecular Diagnostics).

Test de résistance génotypique du HIV-1 : l'étape d'extraction a été réalisée sur 200 µL d'échantillon (sang, SCV et sperme) en utilisant l'instrument NUCLISENS® easyMAG™ avec le protocole Specific B, tel que recommandé par le fabricant (bioMérieux). Le génotypage de résistance aux ARV a été effectué en utilisant la trousse ViroSeq HIV-1 sur les gènes de la protéase et de la transcriptase inverse (Celera Diagnostics, CA, USA). L'interprétation des mutations de pharmacorésistance ont été menées à l'aide du logiciel de génotypage ViroSeq HIV-1, V2.6, et les algorithmes d'interprétation des résistances génotypiques au HIV-1 de l'ANRS (<http://www.hivfrenchresistance.org/>).

Détermination du sous-type viral et analyse phylogénétique : les séquences nucléotidiques générées ont été utilisées pour l'analyse du sous-type, en utilisant la base de données de la Bibliothèque nationale de Los Alamos pour le HIV-1 (www.hiv.lanl.gov/). Le gène *pol* (protéase et de RT) obtenu des échantillons de patients et des souches de référence ont été alignés en utilisant le logiciel MUSCLE (<http://www.drive5.com/muscle/>) avec des ajustements manuels mineurs.

Analyse du microbiote vaginal

Préparation des librairies : tous les échantillons à séquencer ont été conservés à -80°C jusqu'à extraction. Chaque échantillon a été incubé 1 heure à 50°C en présence de 50µl de PK (eurobio) avant extraction automatisée sur le QiaSymphony (Qiagen) en utilisant le kit DSP mini (Qiagen). La région V3 de l'ADN codant pour l'ARN16s a ensuite été amplifiée avec la taq polymérase Platinum HiFi supermix (Invitrogen) et des amorces F338 – R533, décrites dans la littérature³⁶⁰ modifiées et bar-codées pour la technologie IonTorrent. Tous les échantillons ont enfin été purifiés à l'aide des colonnes GeneRead Size Selection Kit (Qiagen) et quantifiés sur

des puces Agilent high sensitivity DNA kit (Agilent genomics). Les bibliothèques ainsi constituées ont été conservées à -20°C jusqu'au séquençage.

Séquençage sur plateforme IonTorrent : la puce ion318 a été chargée à l'aide de l'IonChef (Thermo Fisher Scientific) avant d'être séquencées dans les 12 h suivantes sur la plateforme IonTorrent (Thermo Fisher Scientific). En moyenne 149689 séquences par échantillons ont été obtenues avant analyse.

Analyse des séquences de NGS : l'analyse des FASTQ obtenus après séquençage a été réalisée sur la version 1.40.5 de mothur en utilisant la base donnée Silva128. L'analyse a été faite au niveau du genre et un nombre moyen de 12970 séquences ont été assignées aux différents OTU.

Analyses statistiques : les variables continues ont été comparées en utilisant le test de Student(t). Les comparaisons entre les variables catégorielles ont été faites en utilisant le test chi2 et le test de Fisher, le cas échéant. La corrélation entre les valeurs quantitatives a été analysée en utilisant le test de corrélation de Spearman. Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

Résultats

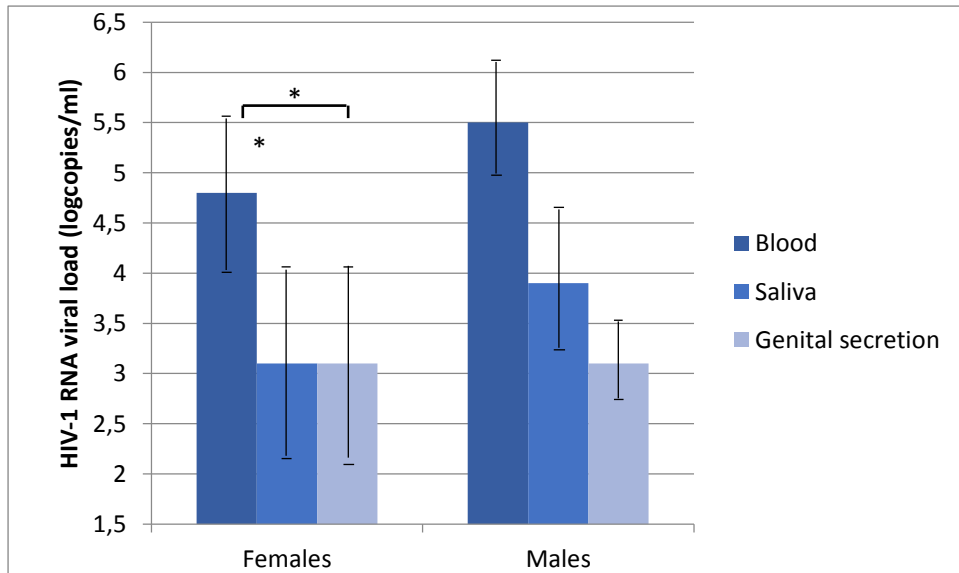
Patients inclus

Nous avons inclus 119 patients vivant avec le HIV-1, Soixante-cinq patients (54,6%) ont été correctement suivis après mise sous traitement à M3, M6 et M12. Dix décès ont été enregistrés (8,4%) pendant l'étude et 44 (37%) perdus de vue.

Données virologiques

Charge virale : au moment du diagnostic du HIV-1, l'ARN du HIV-1 a été recherché dans 78 sécrétions cervico vaginale (SCV), 8 échantillons de plasma sérial et 87 échantillons de salive. La détection était positive dans 84,7% (moyenne, $3,1 \pm 0,98$ logcopies / ml), 100% (moyenne, $3,9 \pm 0,82$ logcopies/ml) et 77,7% (moyenne, $3,1 \pm 1,20$ logcopies / ml) dans les SCV, le sperme et la salive, respectivement. La charge virale moyenne en ARN du HIV-1 dans le sang était de $4,93 \pm 0,85$ logcopies/ml

La valeur moyenne de l'ARN du HIV-1 était significativement plus élevée dans le sang que dans les sécrétions génitales et dans la salive, 4.91 ± 0.92 vs 3.16 ± 1.07 ($p=10^{-5}$ par le Test Student (*t*)) et 3.17 ± 0.99 logcopies/ml ($p=10^{-4}$), respectivement (Figure 38).



* $p < 0.05$ par Student (*t*) test

Figure 38. Valeur moyenne de l'ARN du HIV-1 dans le sang, les sécrétions génitales et la salive

Les charges virales de l'ARN du HIV-1 dans le sang et la salive étaient positivement corrélées chez les hommes et les femmes (Figure 39).

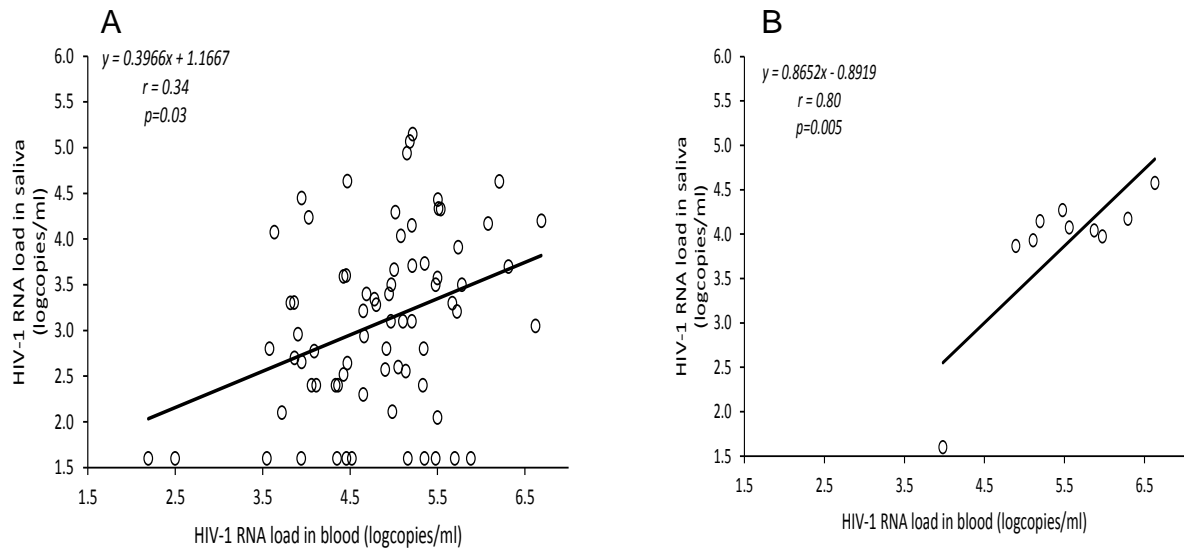


Figure 39. Analyse de la corrélation des charges d'ARN du HIV-1 entre les échantillons de sang et de salive chez les femmes (A) et les hommes (B)

Il n'y a pas de corrélation entre les charges virales de l'ARN du HIV-1 dans le sang et les sécrétions génitales (Figure 40).

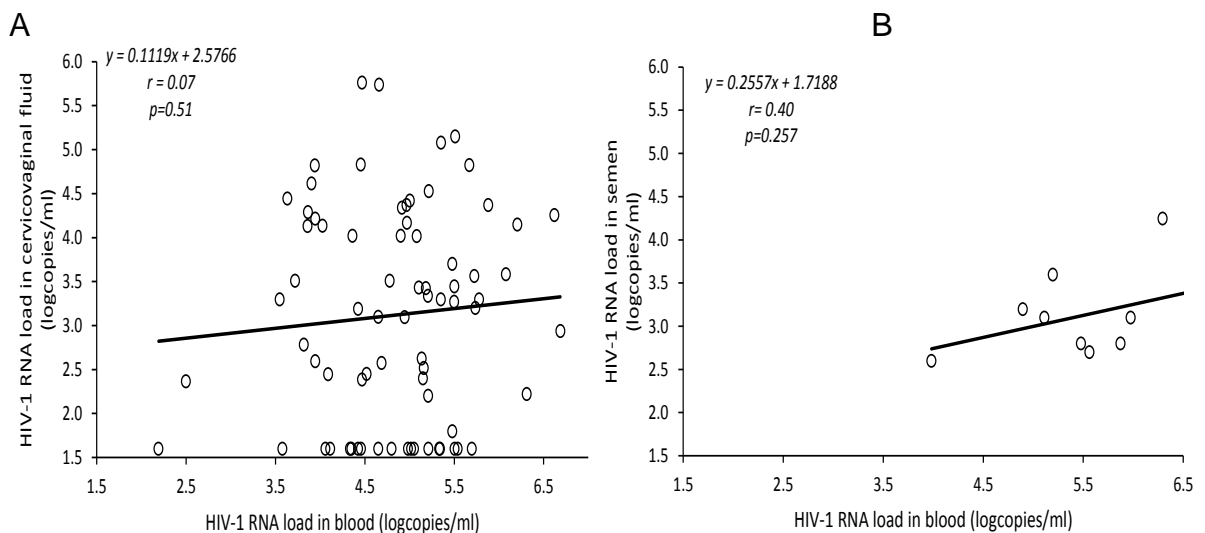


Figure 40. Analyse de la corrélation des charges d'ARN du HIV-1 entre le sang et le liquide cervico vaginal(A) et entre le sang et le sperme (B).

Sous-types viraux et analyse phylogénétique : le sous-type le plus fréquent était CRF02_AG (84,7%), suivi de A1 (3,5%), G (3,5%), CRF06_cpx (3,5%), B (1,2%), CRF13_cpx (1,2%), C (1,2%) et CRF26_A5U (1,2%). Soixante-sept séquences de sécrétions génitales ont également été analysées (64 SCV et 3 spermes). Un arbre phylogénétique a été construit avec 63, 25 et 2 séquences complètes de RT-protéase (1302 pb) obtenues à partir du sang, de la SCV et du sperme, respectivement Figure 41). Vingt (20) échantillons de sang et de sécrétions génitales

recueillis chez les mêmes personnes présentait des séquences similaires mais 7 étaient discordantes.

Mutations de résistance aux médicaments transmises : Des séquences de gènes de la transcriptase inverse et de la protéase ont été obtenues à partir de 27 SCV avant la mise sous traitement ARV, un seul présentait une TDRM (E138A) également retrouvée dans le sang correspondant. Une discordance a été retrouvée entre le sang et les SCV pour 4 femmes (tableau 10).

Suivi après l'initiation du traitement antirétroviral : Soixante-cinq patients sur 119 (54,6%) ont été correctement suivis après mise sous traitement à J0 et M12. Au 12^{ème} mois, la totalité de la salive testée était indétectable mais 10 SCV sur 36 (27,8%) restaient positives à la détection de l'ARN du HIV-1. Parmi celles-ci, sept femmes présentaient une détection positive de l'ARN du HIV-1 dans les SCV et négative dans l'échantillon de sang correspondant. Pour ces 7, le pourcentage de concordance entre le sang et les séquences dérivées de la SCV varie de 91 à 94%.

Evolution du microbiote vaginal au cours du suivi : La composition du microbiote vaginal a été étudiée chez 4 femmes à l'initiation et après 1 an de TAR. Pour les 4, une dysbiose est observée avant la mise sous traitement, mono microbienne (Figure 42B) ou poly microbienne (Figure 42A, C et D). Le genre *Lactobacillus* (flore normale) redevient majoritaire après traitement chez 3 personnes dont la charge virale est indétectable au niveau des SCV (A, B et C). Une dysbiose persiste chez la 4^{ème} dont la charge virale n'est pas contrôlée (D). Dans ce dernier cas on observe une modification profonde de la composition du microbiote.

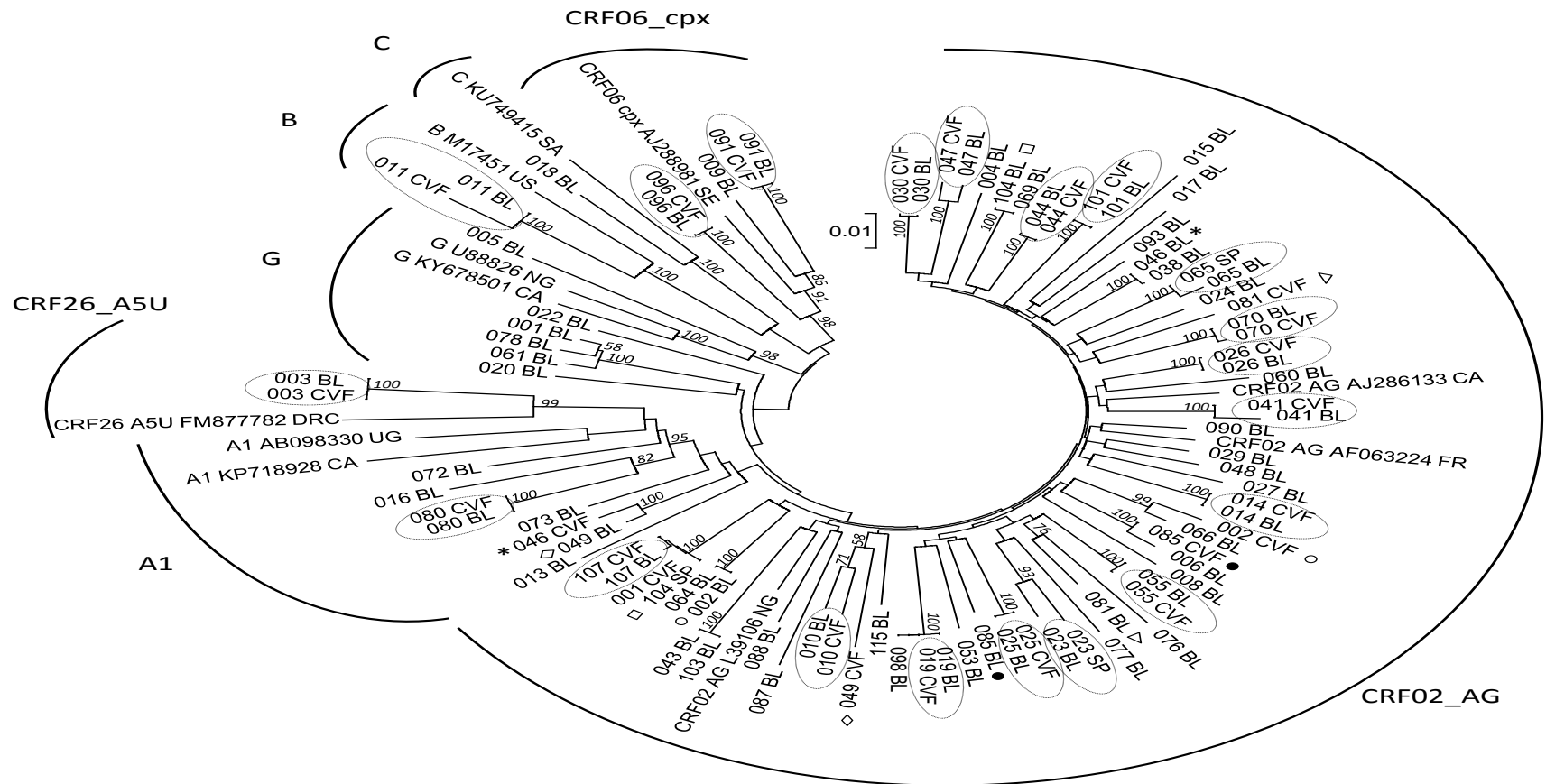


Figure 41. Analyse phylogénétique à partir des séquences du sang, des sécrétions cervico vaginales et des spermés obtenus au moment du dépistage.

Tableau 10 : caractéristiques des patients présentant des mutations de résistance initiale aux ARV (PDRM) dans le sang ou la sécrétion génitale au moment de l'initiation du traitement et 12 mois plus tard.

Patient ID	Genre	Age (ans)	TAR regime	Stade Clinique	PDRM de le sang/SCV	profil résistance aux Drugs	CD4 count (cells/mm ³)	A l'initiation du TAR		A 12 mois après le début du TAR	
								CV ARN HIV-1 (log ₁₀ copies/mL) Sang / SCV	CD4 count (cells/mm ³)	HIV-1 ARN (log ₁₀ copies/mL) Sang / SCV	
002	F	37	3TC ABC LPV	3	None / L74V	ddI ABC TDF ¹	9	4.70/2.60	81	1.7/<1.6	
013	F	36	TDF FTC EFV	3	V106I V179I / ND	ETR ²	4	5.78/3.30	429	<1.6/<1.6	
019	F	46	TDF FTC EFV	3	E138A / E138A	ETR ²	53	6.21/4.15	Deceased at M6		
027	F	27	TDF FTC EFV	3	K103N / ND	EFV NVP	452	4.90/4.02	802	<1.6/3.62	
038	F	24	3TC TDF EFV	2	K103N / ND	EFV NVP	74	3.75/3.51	57	5.36/2.84	
043	F	37	TDF FTC EFV	2	M184V T215Y K103E Y181C / ND	ZDV 3TC FTC EFV NVP ETR RPV	348	4.64/ND	Deceased at M3		
044	F	40	3TC TDF EFV	3	None / D67N	ZDV ¹ D4T ¹ ABC ¹ TDF ¹	209	5.14/2.42	230	<1.6/<1.6	
046	F	33	TDF FTC EFV	3	K103N / None	EFV NVP	113	5.48/3.70	124	<1.6/<1.6	
087	F	38	3TC TDF EFV	1	E138A / ND	RPV ETR ²	819	4.79/5.74	1305	<1.6/<1.6	
098	M	42	3TC TDF EFV	3	E138A / ND	RPV ETR ²	7	5.24/ND	342	<1.6/ND	
103	M	34	TDF FTC EFV	3	M184V Y181C / ND	3TC FTC EFV NVP	178	4.60/ND	Lost to follow-up		
104	M	54	3TC TDF LPV	3	V179T / None	ETR ¹	7	5.29/ND	376	4.41/ND	
115	F	39	3TC TDF EFV	1	K103N / ND	EFV NVP	189	5.56/ND	884	<1.6/ND	

¹Si associé à au moins 2 autres mutations; ²faible niveau ; ART: antiretroviral therapy; 3TC, lamivudine; d4T, stavudine; ddI, didanosine; EFV, efavirenz; ETR, etravirine; FTC, emtricitabine; LPV, lopinavir ; NVP; nevirapine; RPV, rilpivirine; TDF, tenofovir ; GS: genital secretion, sécrétion cervicovaginale (femme) ou sperme (male); ND: Non défini.

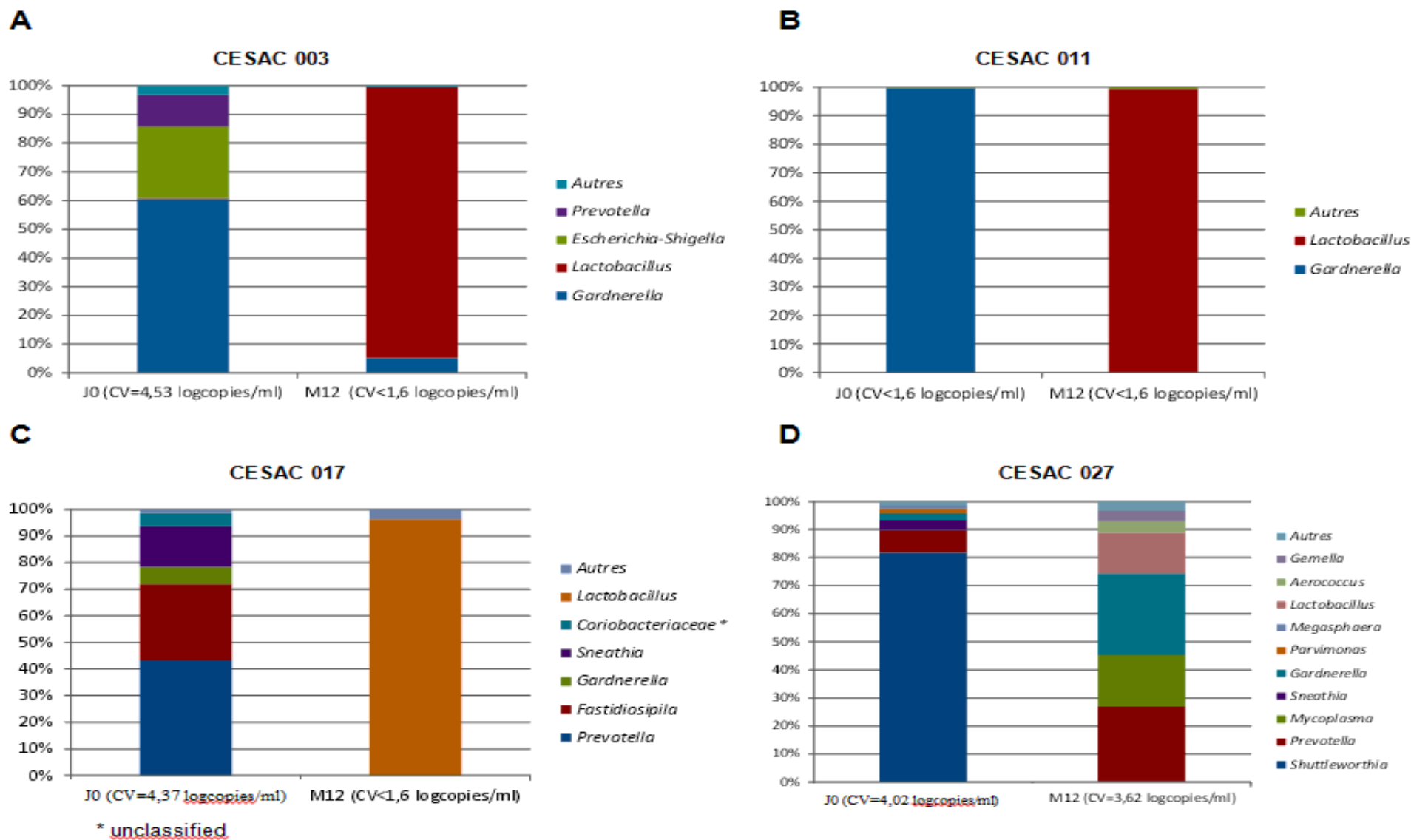


Figure 42. Analyse du microbiote vaginal avant et après initiation du traitement antirétroviral chez quatre femmes HIV-1+.

Discussion

Notre étude avait pour objectif principal d'étudier l'efficacité du TAR sur le réservoir salivaire et génital de personnes nouvellement dépistées séropositives vis-à-vis de HIV-1 à Bamako. Pour cela, des comparaisons de charge virale ainsi qu'un test de résistance génotypique ont été réalisées dans différents compartiments.

La charge virale ARN était significativement plus élevée dans le plasma que dans les autres compartiments. De plus, les charges virales de l'ARN du HIV-1 dans le sang et la salive étaient positivement corrélées chez les hommes et les femmes ce qui confirme des résultats antérieurs^{348 259}. Certaines études ont même rapporté de rares cas de CV plus élevée dans la salive que dans le sang et une CV détectable dans la salive mais indétectable dans le plasma²⁵⁹, ce que nous n'avons pas observé dans notre travail.

Il est possible qu'il n'y ait pas d'ARN de HIV-1 dans le compartiment salivaire chez certains patients en raison de l'absence de réplication localisée et il semble que la présence de virus soit liée à un passage passif à partir du compartiment sanguin. En effet, la proportion de positivité de l'ARN de HIV-1 salivaire est élevée lorsque la CV plasmatique l'est également (95% quand la CV sanguine est > 33 500 copies /ml)²⁵⁹. Ceci pourrait faire de la salive un échantillon de secours pour le monitoring de certaines personnes infectées. Le taux relativement faible de virus dans la salive peut être une explication de la rareté apparente de la transmission du virus par la salive. Il existe des propositions suggérant l'existence d'une activité antivirale dans l'environnement buccal empêchant la transmission du HIV-1²⁵⁹. Dans notre étude, au 12^{ème} mois, aucune détection positive d'ARN dans la salive n'a été retrouvée. Il faut cependant rester prudent en la matière, des travaux ont montré que des affections du tissu gingival de type parodontites pouvaient réactiver localement la réplication de HIV-1³⁶¹.

Contrairement à la salive, nous n'avons pas retrouvé de corrélation entre les charges virales de l'ARN du HIV-1 dans le sang et les sécrétions génitales. Tous les échantillons de spermes avaient une CV détectable contre 84,7% de SCV. La tendance montre que la proportion d'hommes présentant une excrétion génitale est plus élevée que les femmes. Ceci a été décrit de même que la faible concordance de CV entre le plasma et les compartiments génitaux dans les deux sexes³⁴⁸. Par

contre une autre étude trouva une corrélation significative entre le plasma et la CV génitale³⁵⁷.

La CV moyenne était plus élevée dans le plasma séminal (3,9 logcopies/ml) que dans les SCV (3,1 logcopies / ml) et la Salive (3,1 logcopies /ml). Par le passé, les chercheurs ont constaté que la CV provenant de sources non sanguines pouvait représenter 1 à 2 valeurs logarithmiques inférieures à la CV issue du plasma correspondants²⁵⁹.

Mais 27,8% des SCV restaient positives à la détection de l'ARN du HIV-1 après 12 mois de TAR. Parmi celles-ci, sept femmes présentaient une détection positive de l'ARN du HIV-1 dans les SCV et négative dans l'échantillon de sang correspondant. Pour ces 7, la concordance variait de 91 à 94% entre les séquences issues du sang et celles dérivées de la SCV.

Des résultats d'une étude de cohorte montraient que, 5% des patients présentaient un ARN de HIV-1 détectable dans le sperme, alors qu'il était indétectable concomitant dans le sang chez les mêmes patients sous traitement¹⁵⁹.

Notre étude apporte des arguments en faveur d'une compartimentation de HIV-1 dans le tractus génital de certaines femmes du fait (1) de discordances de valeurs de charges virales entre le sang et les SCV, (2) de profils différents de séquences de la RT et de la protéase entre les deux compartiments, et (3) de profils différents en termes de mutations de résistance.

Après 12 mois de traitement, 17.5% des femmes suivies présentaient une charge virale positive au niveau cervicovaginal alors que leur virémie était contrôlée au niveau sanguin. Ce taux est plus élevé que celui rapporté récemment à partir d'une cohorte de femmes en Afrique et en contradiction avec d'autres^{357,362}. Cette répllication peut être due à différents facteurs comme la faible diffusion des ARV dans le tractus génital, l'utilisation de contraceptifs oraux, une inflammation locale, la présence d'autres agents responsables d'IST ou d'une dysbiose vaginale. La composition du microbiote vaginal chez 4 personnes, montre une dysbiose au moment de la découverte de la séropositivité ce qui est en accord avec les données de la littérature associant dysbiose, inflammation locale et risque d'infection par HIV¹⁹⁵.

Après un an de traitement, il a été observé un retour à une population normale de type *Lactobacillus* chez 3 femmes dont la charge virale est contrôlée au niveau

vaginal. Ce genre bactérien est connu comme étant protecteur vis-à-vis de HIV-1¹⁹⁶. En revanche, une dysbiose persistante est observée chez la femme dont la réplication locale n'est pas contrôlée avec un changement notable de populations bactériennes pendant le traitement antirétroviral.

En ce qui concerne la résistance primaire aux ARV, une seule mutation de type TDRM (E138K) a été détectée dans le compartiment cervico vaginal avant la mise sous traitement alors qu'il y a eu 4 cas détectés dans le plasma. La mutation E138A peut préexister dans le réservoir proviral à une fréquence élevée avant l'exposition au médicament, à la suite de l'édition de l'APOBEC3³⁶³. Plusieurs essais cliniques de phase 3 ont montré que la mutations E138A apparaissait chez les patients en échec thérapeutique sous rilpivirine en association avec deux inhibiteurs INTI comme, l'emtricitabine et le ténofovir³⁶⁴. Au total 4 cas sur 5 présentaient une discordance en termes de mutation retrouvée dans le sang et les SCV. Ces discordances ont déjà été constatées entre le plasma et les compartiments génital³⁴⁸ ou salivaire²⁵⁹ où des mutations de résistance ont été observée, ce qui apporte des arguments supplémentaires en faveur d' une compartimentation chez certains PVVIH.

En conclusion notre étude suggère qu'il existe un réservoir potentiellement répliatif au niveau cervico-vaginal chez certaines femmes dont la virémie est contrôlée par le TAR. Nous montrons également une association entre la présence de virus et une dysbiose locale. Le risque de transmettre le virus à un partenaire est plus élevé chez ces personnes (ou à un nouveau-né en cas d'accouchement par voie basse). Nos résultats peuvent remettre en cause l'utilisation systématique de la charge virale sanguine pour apprécier ce risque d'excrétion virale au niveau cervico-vaginal.

2/ Profils de résistance de souches archivées dans le compartiment rectal d'hommes infectés par HIV-1 et sous traitement antirétroviral efficace (article 2)

Introduction

Les réservoirs cellulaires et tissulaires sont un obstacle majeur dans les stratégies de guérison fonctionnelle et d'éradication de l'infection par HIV-1. A ce titre, le tractus intestinal et en particulier le GALT joue un rôle majeur lors des premières étapes ainsi que pendant la phase chronique de l'infection. En absence de TAR les souches virales de HIV-1 présentent une plus grande diversité génétique dans le rectum que dans le sang d'un même individu¹⁴⁸. Même si les recommandations actuelles consistent à instaurer une trithérapie dans les jours qui suivent la découverte de séropositivité, la majorité de ces diagnostics ont lieu au cours de la phase chronique pour la plupart des PVVIH. Un certain nombre de mutations de résistance sont retrouvées archivées dans l'ADN cellulaire de patients sous traitement avec parfois des différences notables entre les sites anatomiques^{365,366}. Il existe peu de données sur les caractéristiques de la souche majoritaire archivée au niveau du tissu rectal après plusieurs années de traitement efficace au niveau sanguin (CV plasmatique indétectable). La question était de savoir si cette séquence archivée est proche de celle du virus prédominant au niveau plasmatique au moment de la découverte de séropositivité ou si elle est porteuse de mutations de résistance en relation avec le(s) traitement(s) instauré(s). Une autre question importante est celle de la capacité de réactivation de ces virus archivés, potentiellement porteurs de mutations de résistance à une ou plusieurs familles d'ARV. L'objectif de notre étude a été d'établir le profil de résistance génotypique sur le gène *pol* de souches issues de biopsies rectales d'hommes sous traitement antirétroviral depuis 1 an au moins et à 5 ans au plus et dont la charge virale est contrôlée au niveau sanguin. Ce profil a été comparé à celui de la souche majoritaire du virus amplifié au moment de la découverte de la séropositivité.

ARTICLE 2

The Genotyping Resistance Profile of the *Pol* Gene Detected in Blood of Newly Diagnosed HIV-Positive Men Is Durably Archived in the Gut Whatever the Time of Initiation of cART

Anne Emmanuelle Depincé^{a,b} Bodie Dussert^a Delphine Vergnon-Miszczycha^a
Abdelaye Keita^{a,f} Sylvie Pillet^{a,c} Elisabeth Botelho-Nevers^{a,d} Anne Frésard^d
Amandine Gagneux-Brunon^{a,d} Frédéric R Lucht^{a,d} Xavier Roblin^{a,e}
Bruno Pozzetto^{a,c} Stéphane Paul^{a,b} Thomas Bourlet^{a,c}

^aGroupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes – GIMAPEA 3064, CIC 1408, Université de Saint-Etienne, Université de Lyon, and ^bLaboratoire d'Immunologie, ^cService des Agents Infectieux et d'Hygiène, ^dService de Maladies Infectieuses et Tropicales, and ^eService d'Hépatologie-Gastroentérologie, Centre Hospitalo-Universitaire, Saint-Etienne, France; ^fLaboratoire de Bactériologie-Virologie, Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), Bamako, Mali

Keywords

HIV-1 · Combined antiretroviral therapy · Gut · Genotyping resistance assay

Abstract

Objective: To evaluate the mutational patterns on the *pol* gene of the main HIV-1 strain archived in cell genome of 10 chronically infected men according to their clinical and therapeutic history. The genotyping resistance profiles were compared between the first blood plasma available at the time of HIV diagnosis and rectal biopsies and PBMC sampled 1–5 years after the initiation of combined antiretroviral therapy (cART). **Methods:** HIV-1 RNA and cell-associated HIV-1 DNA were quantified by Abbott Real-Time HIV-1 and Generic HIV[®] DNA cell (Biocentric) assays. The mutations in protease and reverse transcriptase genes were assessed by the Trugene[®] assay (Siemens). The C2V3 region was amplified to determine the viral tropism. **Results:** In 9 patients, slight or

no differences were observed between the 3 resistance profiles. Those mostly detected were related to the resistance to nucleos(t)ide (D67N, L210W, T215A, T69D) and nonnucleoside (K103N, V106I, V179I) inhibitors. In 1 rilpivirine-treated patient, the M230I mutation was detected in PBMC. No change of viral tropism was observed between samples. **Conclusion:** These data suggest that resistance mutations harbored by the main HIV strain in plasma at the time of diagnosis are durably archived in DNA cells whatever the delay between infection and initiation of therapy in patients well controlled by cART.

© 2017 S. Karger AG, Basel

Introduction

The cellular reservoir is one of the major obstacles to a functional or sterilizing cure of HIV infection. In particular, the gut-associated lymphoid tissue (GALT) har-

KARGER

E-Mail karger@karger.com
www.karger.com/int

© 2017 S. Karger AG, Basel
0300-6526/17/0596-0256\$39.50/0

Prof. Thomas Bourlet
GIMAPEA 3064, Faculté de Médecine J. Liéfranc
Campus Santé Innovations, 10 rue de Marandière
FR-42270 Saint-Priest-en-Jarez (France)
E-Mail Thomas.Bourlet@chu-st-etienne.fr

Table 1. Demographic, immunological, and virological characteristics of the studied population

Pa-tient	Age, years	Clinical stage ^a	CD4 ⁺ T-cell count ^b , cells/mm ³	HIV RNA level ^b , logcopies/mL	HIV genotype	HIV RNA load decay ^c , months	First-line treatment	Biopsy		PBMC	
								HIV DNA level, logcopies/mL	qualitative HIV RNA detection	HIV DNA level, logcopies/mL	qualitative HIV RNA detection
1	30	B	248	3.91	B	6	FTC TDF EFV	4.08	+	3.23	-
2	56	A	843	3.45	B	3	3TC ABC ATV	3.06	+	2.41	-
3	54	C	152	5.77	B	2	FTC TDF DRV	4.43	+	4.21	+
4	50	B	435	4.01	B	3	FTC TDF DRV	3.73	+	3.04	+
5	47	B	257	5.52	B	3	FTC TDF DRV	4.59	+	3.40	-
6	68	C	74	6.29	CRF02_AG	15	FTC TDF DRV	3.50	-	3.61	-
7	49	A	1,025	6.35	B	4	FTC TDF DRV	3.78	+	2.44	+
8	52	C	14	5.43	B	5	FTC TDF DRV	3.40	+	2.93	+
9	58	C	36	5.23	B	4	FTC TDF DRV	3.42	+	3.26	+
10	64	C	20	5.13	B	4	FTC TDF DRV	4	+	3.21	+

FTC, emtricitabine; TDF, tenofovir; EFV, efavirenz; 3TC, lamivudine; ABC, abacavir; ATV, atazanavir; DRV, darunavir. ^a CDC classification. ^b At the time of HIV diagnosis. ^c Delay between antiretroviral therapy initiation and the first undetectable viral load value.

bors most of HIV-1 target cells and grows during the first weeks of HIV infection [1]. In the absence of combined antiretroviral therapy (cART), a greater viral genetic diversity in the rectum than in blood has been described, mostly because of a mucosal environment favoring a local replication [2]. It has been largely demonstrated that an early initiation of cART is associated with a smaller and less genetically diverse reservoir [3–5]. Although there is poor evidence of genetic evolution of viral populations under suppressive cART initiated during primary infection, the persistence of HIV archived sequences is observed, probably driven by the homeostatic proliferation of memory T cells [3]. In fact, even if early diagnosis and initiation of cART are highly recommended, most living HIV-infected people were detected positive very late in the course of the infection, before the “test and treat” era and mostly during the chronic phase of their infection [6]. Moreover, for some of them the initiation of cART was delayed compared to the time of diagnosis.

Different resistance to antiretroviral drug profiles of HIV-1 *pol* sequences are archived in DNA cells of patients who received numerous treatments [7, 8]. In addition, differences in the resistance profiles have been observed between anatomical sites including the gut, suggesting the participation of intestinal mucosa in HIV genotype selection [7, 9]. It has also been observed that successive drug-resistant variants selected during nonsuppressive therapy remain archived in the cellular reservoir after long-term suppressive cART [10]. To our knowledge, no data are available on the major HIV strain archived in the rectal reservoir of patients diagnosed during the chronic

phase of infection and who received an effective first-line therapy. Moreover, even if it has been previously suggested that the gut mucosal viral reservoir is not the major source of plasma viremia rebound after stopping cART [11], studies dealing with the risk of reactivation of resistant mutated strains from intestinal tissue are also missing.

In this work, our aim was to evaluate the mutational patterns on the *pol* gene of the main HIV-1 strain archived in the cell DNA of chronically infected men under suppressive cART and diagnosed HIV positive at various stages of infection. The genotyping resistance profiles between the first blood plasma available at the time of HIV diagnosis and rectal biopsies and PBMC sampled 1–5 years after the initiation of cART were compared.

Materials and Methods

Patients

An ancillary work of a previous study [12] was conducted in 10 HIV-1 chronically infected consenting men followed up at the Infectious Diseases Department of the University Hospital of Saint-Etienne, France. The protocol was reviewed and approved by the national CPP Sud-Est I Ethical Committee. The patients had been under cART for more than 1 but less than 5 years, without any viral escape during this period. Their characteristics are depicted in Table 1. At the time of HIV seropositivity diagnosis (called time zero, T₀), stages of clinical infection were A, B, and C for 2, 3 and 5 men, respectively. At T₀, the median HIV RNA load in blood plasma was 5.23 (range: 3.45–6.35) log₁₀ copies/mL. The median delay between blood plasma (T₀) and rectal biopsy and PBMC samples (both obtained at T₁) was of 47 months (range: 12–158).

Table 2. Resistance mutations and V3 loop sequences analyzed in blood plasma, PBMC, and rectal biopsy samples

Pa-tient	Delay between HIV diag. and therapy, days	Delay between genotyping assays ⁵ , months	Time with plasma HIV RNA <40 copies/mL, months	RT/protease gene			V3 loop gene		
				resistance mutations blood RNA ^a	rectal biopsy	PBMC	homology ^b , %	homology ^b , %	tropism ^c , RNA/biopsy
1	1,530	96	90	Protease: K20M M36I D60E I62V L63P H69Q RT: V106I V179I	Protease: K20M M36I D60E I62V L63P H69Q RT: V106I V179I	Protease: K20M M36I D60E I62V L63P H69Q RT: V106I V179I	98.5	80	R5/R5
2	3,102	158	155	Protease: none RT: D67N T69D L210W T215D	Protease: I62V RT: D67N T69D L210W T215D	Protease: I62V RT: D67N T69D L210W T215D	99	76	R5/R5
3	12	31	29	Protease: I15V RT: D67N T69D L210W T215A K101E	Protease: I15V RT: D67N T69D L210W T215A K101E	Protease: I15V RT: D67N T69D L210W T215A K101E	96	71	R5/R5
4	730	76	69	Protease: L63P RT: none	Protease: L63P RT: none	Protease: L63P RT: none	96.5	80	R5/R5
5	2	57	54	Protease: I62V L63P RT: none	Protease: I62V L63P A71V RT: none	Protease: I62V L63P RT: none	97	ND	ND
6	6	47	32	Protease: L10I K20I H69K L89M RT: none	Protease: M36I H69K L89M RT: none	Protease: M36I H69K L89M RT: none	97	ND	ND
7	0	12	8	Protease: L63P I64V RT: K103N	Protease: L63P I64V RT: K103N	ND	98.5	ND	ND
8	7	44	39	Protease: I62V RT: none	Protease: I62V RT: none	Protease: I62V Q58E A71T RT: none	96.5	78.5	R5/R5
9	6	44	40	Protease: M36I, I64V RT: D67N T69D L210W T215W	Protease: I64V RT: D67N T69D L210W T215D	Protease: I64V RT: D67N T69D L210W	99.5	75.5	R5/R5
10	3	47	43	Protease: L33V, L63P, I64V RT: none	Protease: L33V, L63P, I64V RT: L210W	Protease: L33V, L63P, I64V RT: L210W M230I	96	79	R5/R5

Italics indicate discrepant mutations between samples. ND, not done. ^a The blood plasma was sampled at the time of HIV seropositivity diagnosis. ^b Between RNA and biopsy sequences. ^c Determined by the Geno2Pheno algorithm.

Total Cell-Associated HIV-1 DNA Quantification

Total DNA was extracted from PBMC and biopsies using the QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen, Courtaboeuf, France). The cell-associated HIV-1 DNA was quantified by using the Generic HIV[®] DNA cell protocol (Biocentric, Bandol, France). The quantification of the glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase (GAPDH) gene was undertaken to estimate the amount of cells tested. The results were expressed in log₁₀ copies per million of cells.

HIV-1 RNA Viral Load Quantification in Blood Plasma

The viral load was determined by using the Abbott Real-Time HIV-1 Assay (Abbott Molecular Diagnostics, Rungis, France) combining an automated extraction by the m2000sp apparatus and a real-time amplification by the m2000rt instrument.

Antiretroviral Drug Resistance Mutations Assay

The antiretroviral drug resistance mutations in protease and reverse transcriptase (RT) genes were assessed in parallel using the Trugene[®] assay (Siemens, Saint-Denis, France) according to the manufacturer's instructions for RNA (blood samples) omitting the reverse transcription step for DNA (PBMC and biopsy samples). The viral susceptibility to drugs was determined according to the ANRS resistance algorithm (<http://www.hivfrenchresistance.org>).

Intracellular HIV-1 RNA Detection

Total RNA was extracted from PBMC and biopsies using RNA Blood Mini and RNeasy kits (Qiagen), respectively. HIV-1 RNA was detected by real-time PCR using the Generic HIV[®] assay (Biocentric).

gp120 Gene Amplification and Tropism Determination

The C2V3 coding region was amplified according to the ANRS AC11 Resistance Study Group protocol (<http://www.hivfrenchresistance.org>). The coreceptor used was predicted using the bioinformatic tool Geno2Pheno with a 10% false-positive rate and the combined 11/25 and net charge rule for HIV-1 non-B subtypes (<http://coreceptor.geno2pheno.org/>) [13].

Results

Efficacy of cART in Blood Compartments

The median delay between HIV diagnosis (T0) and initiation of cART was 6.5 days (range: 0–3,102). The time to obtain HIV RNA undetectability in blood plas-

ma, defined as the period between initiation of cART and the first viral load value <40 copies/mL, was 4 months [2–15]. No viral rebound was observed during the study period except 1 blip in patient 4 at month 18 after starting cART.

HIV RNA and DNA Loads in PBMC and Rectal Biopsies (Sampled at T1)

Rectal biopsies and PBMC samples were obtained at a median of 47 months (range: 12–158) after HIV diagnosis. The median values of total HIV DNA in the rectum and PBMC were 3.75 (3.06–4.59) and 3.25 (2.41–4.21) log₁₀ copies/10⁶ cells, respectively (Table 1). HIV RNA was found positive in 9 biopsies and 6 PBMC fractions out of the 10 tested.

Resistance Profiles on Protease and RT Genes from Initial Blood and Distant Tissue Samples

The homology between protease and RT sequences from plasma at T0 and rectal tissue at T1 sampled in the same patient ranged from 96 to 99.5% (Table 2).

The same resistance patterns were obtained in the 3 tested samples for 3 patients. Mutations conferring possible resistance to the protease inhibitors saquinavir/tritonavir and tipranavir (K20M, M36I, I62V, H69Q) and to the nonnucleoside RT inhibitor etravirine (V106I, V179I) were detected in patient 1. Thymidine analog mutations (TAMs) D67N, L210W, T215A, and T69D conferring resistance to the nucleoside RT inhibitors zidovudine, didanoside, stavudine, abacavir, and tenofovir were detected in patient 3. No mutation, except the L63P minor mutation, was found in patient 4. The same profiles were also obtained in blood plasma and rectal biopsy of patient 7 (PBMC fraction not available) exhibiting the K103N mutation, conferring a high level of resistance to efavirenz and nevirapine.

In 6 patients, slight differences were observed between resistance profiles: minor L10I, K20I, and/or M36I (patients 6 and 9), I62V (patient 2), Q58E and A71T (patient 8), and A71V (patient 5) mutations in the protease gene. The T215D revertant mutation was detected in the T1 rectal tissue while T215W was present in the T0 blood plasma sample of patient 9. The T210W mutation was observed in the biopsy but not in the initial blood sample of patient 10; what is also worthy of note is the presence of the M230I mutation related to resistance to rilpivirine in the PBMC fraction of this patient. This man received 2 successive cART regimens, the current one associating emtricitabine, tenofovir, and rilpivirine.

Sequences of gp120 and Viral Tropism Analysis from Initial Blood and Distant Tissue Samples

The homology between C2V3 coding sequences from T0 plasma and T1 rectal tissue sampled in the same patient ranged from 71 to 80%. No change of viral tropism was observed between the initial blood sample and the rectal biopsy (all being CCR5 tropic).

Discussion

The rectal mucosa can integrate HIV-1 strains resistant to antiretroviral treatment selected during therapy and participates to the failure to reach optimal local drug concentrations [7, 9, 10]. Josefsson et al. [3] showed that HIV-1 DNA integrated in GALT-infected T cells remains stable during suppressive cART when sequences between plasma sampled at the time of initiation of cART and GALT biopsies obtained 8–12 years after starting therapy were compared. In our study, the resistance pattern of the *pol* gene in rectal tissue and PBMC – obtained between 12 and 158 months after HIV diagnosis – of men under an effective first-line cART regimen was compared to the one obtained from the first blood plasma sampled at the time of HIV diagnosis. Our data bring complementary information since we found that the transmitted mutational profile present at the time of HIV diagnosis remains stable and detectable after a period of 1–5 years – before and after the start of cART – in 9 out of 10 men, despite a long period without therapy in some men (patient 1 and 2). In addition, intracellular HIV RNA was detected positive in 6 rectal biopsies. This might reflect a local defective viral production rather than a complete replication related to cell-to-cell transmission. Slight differences observed between samples in some patients were for minor mutations on the protease gene not related to the current cART regimen. Interestingly, the only detected resistance mutation potentially related to therapy was M230I conferring resistance to rilpivirine. One explanation could be the moderate rate of diffusion in the rectum of this nonnucleoside RT inhibitor, as recently reported for the long-acting form of this drug [14].

It has been previously demonstrated that no significant evolution of the HIV-1 *env* gene occurs in PBMC or GALT of people initiating cART during the early phase of HIV infection by using single genome amplification technology [5]. We observed lower percentages of homology in the *env* than in the *pol* gene when comparing sequences from the initial plasma sample with those from the PBMC and biopsies (data not shown). However, the estimated

coreceptor usage remained the same (CCR5 in all tested men). In fact, the Sanger technology only detects the main strain and does not allow for deciphering whether the obtained sequences or mutations belong to the same virus. These discrepancies between *pol* and *env* genes may also be due, at least in part, to different selective pressures from antiretroviral agents on the *pol* gene and from the host environment on *env*. In addition, recombination can occur in *env* during antiretroviral therapy, contributing to a specific evolution of this gene, as recently described [15]. We also did not find any evidence of archived mutations either in the gut or in PBMC related to the period of decay of viral load after the initiation of cART. This finding is in agreement with Bergroth et al. [16], who did not find any M184V mutation in the plasma of chronically infected patients during the decay period after starting a triple therapy regimen including 3TC. In this study, the archived *pol* DNA sequences were not explored. These findings suggest that a triple regimen composed of 2 nucleos(t)ide inhibitors and 1 nonnucleoside or 1 protease inhibitor (such as darunavir) that exhibit a high rate of tissue diffusion is able to circumvent the selection of resistance mutations during the first weeks after initiating cART [17].

As a whole, our study conducted in patients diagnosed during the chronic phase of infection demonstrates that the main strain present in blood plasma at the time of diagnosis is durably archived in rectal and PBMC reservoirs, as was shown in PBMC of patients enrolled in the French PRIMO cohort [18]. Even if it has been suggested that the gut reservoir was not the major source of rebound plasma viremia after stopping cART [11], more data are expected on the potential risk of reactivation of archived-resistant strains, especially in the era of the development of HIV cure strategies.

Acknowledgments

The authors thank all patients who took part in this study and Veronique Ronat for her assistance. This work was supported by grants from the University of Lyon, the University of Saint-Etienne, and Saint-Etienne Metropole.

Disclosure Statement

The authors declare no conflicts of interest.

References

- Ananworanich J, Schuetz A, Vandergeeten C, Sereti I, de Souza M, Rerknimitr R, Dewar R, Marovich M, van Griensven F, Sekaly R, Pinyakorn S, Phanuphak N, Trichavaroj R, Rutvisuttinunt W, Chomchey N, Paris R, Peel S, Valcour V, Maldarelli F, Chomont N, Michael N, Phanuphak P, Kim JH; RV254/SEARCH 010 Study Group: Impact of multi-targeted antiretroviral treatment on gut T cell depletion and HIV reservoir seeding during acute HIV infection. *PLoS One* 2012;7:e33948.
- Avettand-Fenoel V, Hocqueloux L, Müller-Trutwin M, Prazuck T, Melard A, Chaix ML, Agoute E, Michau C, Rouzioux C: Greater diversity of HIV DNA in the rectum compared to variants in the blood in patients without HAART. *J Med Virol* 2011;83:1499–1507.
- Josefsson L, Von Stockenstrom S, Faria NR, Sinclair E, Bacchetti P, Killian M, Epling L, Tan A, Ho T, Lemey P, Shao W, Hunt PW, Somsouk M, Wylie W, Douek DC, Loeb L, Custer J, Hoh R, Poole L, Deeks SG, Hecht F, Palmer S: The HIV-1 reservoir in eight patients on long-term suppressive antiretroviral therapy is stable with few genetic changes over time. *Proc Natl Acad Sci USA* 2013; 110:e4997–e4996.
- Jain V, Hartogensis W, Bacchetti P, Hunt PW, Hatano H, Sinclair E, Epling L, Lee TH, Busch MP, McCune JM, Pilcher CD, Hecht FM, Deeks SG: Antiretroviral therapy initiated within 6 months of HIV infection is associated with lower T-cell activation and smaller HIV reservoir size. *J Infect Dis* 2013;208: 1202–1211.
- Evering TH, Mehandru S, Racz P, Tenner-Racz C, Poles MA, Figueroa A, Mohri H, Markowitz M: Absence of HIV-1 evolution in the gut associated lymphoid tissue from patients on combination antiviral therapy initiated during primary infection. *PLoS Pathog* 2012; 8:e1002506.
- UNAIDS. Report on the global AIDS epidemic 2013. http://www.unaids.org/en/resources/documents/2013/20130923_UNAIDS_Global_Report_2013.
- Katzenstein TL, Petersen AB, Storgaard M, Obel N, Jensen-Fangel S, Nielsen C, Jørgensen LB: Phylogeny and resistance profiles of HIV-1 POL sequences from rectal biopsies and blood. *J Med Virol* 2010;82:1103–1109.
- van Marle G, Church DL, Nunweiler KD, Cannon K, Wainberg MA, Gill MJ: Higher levels of Zidovudine resistant HIV in the colon compared to blood and other gastrointestinal compartments in HIV infection. *Retrovirology* 2010;13:74.
- Monno L, Punzi G, Scarabaggio T, Saracino A, Brindicci G, Fiore JR, Iambrenghi OC, Di Stefano M, Pastore G, Angarano G: Mutational patterns of paired blood and rectal biopsies in HIV-1 infected on HAART. *J Med Virol* 2003;70:1–9.
- Verhofstede C, Noë A, Demecheleer E, De Cabooter N, Van Wanzele F, Van Der Gucht B, Vogelaers D, Plum J: Drug-resistant variants that evolve during nonsuppressive therapy persist in HIV-1-infected peripheral blood mononuclear cells after long-term highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2004;35:473–483.
- Lerner P, Guadalupe M, Donovan R, Hung J, Flamm J, Prindville T, Sankaran-Walters S, Syvanen M, Wong JK, George MD, Dandekar S: The gut mucosal viral reservoir in HIV-1 infected patients is not the major source of rebound plasma viremia following interruption of highly active antiretroviral therapy. *J Virol* 2011;85:4772–4782.
- Depincé-Berger AE, Vergnon-Miszczycha D, Girard A, Frésard A, Botelho-Nevers E, Lambert C, Del Tedesco E, Genin C, Pozzetto B, Lucht F, Roblin X, Bourlet T, Paul S: Major influence of CD4 count at the initiation of cART on viral and immunological reservoir constitution in HIV-1 infected patients. *Retrovirology* 2016;13:44.

- 13 Raymond S, Delobel P, Mavigner M, Cazabat M, Souyris C, Ericmas S, Sandres-Sauné K, Pasquier C, Marchou B, Massip P, Izopet J: Genotypic prediction of HIV-1 CRF02_AG tropism. *J Clin Microbiol* 2009;47:2292–2294.
- 14 Jackson AG, Else LJ, Mesquita PM, Egan D, Back DJ, Karolla Z, Ringner-Nackter L, Higgs CJ, Herold BC, Gazzard BG, Boitro M: A compartmental pharmacokinetic evaluation of long-acting raltegravir in HIV-negative volunteers for pre-exposure prophylaxis. *Clin Pharmacol Ther* 2014;96:314–323.
- 15 Shi B, Kitchen C, Weiser B, Mayers D, Foley B, Kemal K, Anastos K, Suchard M, Parker M, Brunner C, Burger A: Evolution and recombination of genes encoding HIV-1 drug resistance and tropism during antiretroviral therapy. *Virology* 2010;15:5–20.
- 16 Bergroth T, Elkici H, Gislén M, Loes SK, Goh LE, Freedman A, Lampe F, Johnson MA, Sonnerborg A: Selection of drug-resistant HIV-1 during the early phase of viral decay is uncommon in treatment-naïve patients initiated on a three- or four-drug antiretroviral regimen including lamivudine. *J Med Virol* 2009; 81:1–8.
- 17 Thompson CG, Cohen MS, Kashuba A: Antiretroviral pharmacology in mucosal tissues. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2013;63:S240–S247.
- 18 Ghosn J, Pellegrin I, Goujard C, Deveau C, Viard JP, Gallimand J, Harzic M, Tamalet C, Meyer L, Rouzioux C, Chais ML, French PR1-MO Cohort Study Group (ANRS C09 06): HIV-1 resistant strains acquired at the time of primary infection massively fuel the cellular reservoir and persist for lengthy periods of time. *AIDS* 2006;20:159–170.

Conclusion

Une grande similarité génétique a été observée entre les souches archivées dans l'ADN des biopsies rectales et des PBMC et celles issues du plasma prélevé lors de la prise en charge initiale. Nous n'avons pas trouvé dans l'ADN des biopsies ou des PBMC de mutations liées aux molécules utilisées dans les schémas de trithérapie, en particuliers celles qui auraient pu être générées/archivées au cours de la phase de décroissance de la virémie. Ceci est probablement dû à la puissance des drogues utilisées en première ligne et à leur bonne capacité de diffusion tissulaire. Néanmoins la capacité de réactivation de cet ADN archivé, potentiellement porteur de mutations transmises (résistance primaire) reste une question importante à étudier.

Discussion et conclusion générale

L'objectif de notre travail était d'évaluer la résistance primaire de personnes nouvellement dépistées séropositives vis-à-vis de HIV-1 à Bamako, mais aussi d'étudier l'efficacité du TAR sur les réservoirs salivaire, génital et rectal.

Nos résultats ont permis de constater que les patients sont diagnostiqués tardivement donc en stade d'immunodépression avancée aussi bien au Mali qu'au Tchad, avec respectivement 39% et 37% seulement des patients dépistés au stade 1 de l'OMS. Cette situation a un impact bien sûr au niveau individuel avec un risque de morbidité et mortalité accru (8,4% de décès dans notre étude du Mali) mais aussi au niveau collectif (risque de transmission à un ou des partenaire(s) avant le diagnostic). Dans ce contexte d'immunodépression il a été également suggéré que l'ethnicité africaine est associée de manière indépendante à une reconstitution de CD4 plus faible au cours de la multi-thérapie que chez l'ethnie caucasienne ³⁶⁷.

Dans nos travaux, nous n'avons pas de données sur la réticence ou l'adhérence au dépistage de l'infection par HIV, éléments qui conditionnent la réussite du premier « 90 ». Il est rapporté dans la littérature que le défaut de dépistage concerne principalement les personnes jeunes et les hommes²⁰³. On estime qu'en Afrique subsaharienne, 10% seulement des jeunes hommes et 15% des jeunes femmes (15-24 ans) connaissent leur statut vis-à-vis de HIV-1 ²⁹⁰. Un autre problème important mis en évidence dans nos études est le nombre élevé de personnes perdues de vue au cours du suivi après le dépistage. Ce taux de PDV constaté en suivi de 12 mois, était de 37% dans l'étude de Bamako, et de 11,25% au Tchad en 3 mois. Ces PDV concernait exclusivement les femmes. Cet état de fait impacte l'atteinte du 2^{ème} « 90 ». Des études ont montré que les femmes sont plus réticentes que les hommes à commencer un traitement et moins adhérentes au TAR ^{368,369}. Une expérience camerounaise faisait ressortir que sur 49% de patients non observant les femmes étaient majoritaire (61,9%). Les principales raisons avancées pour la non observance étaient : l'oubli (32,9%), la rupture de stock de médicaments (14%), les occupations de la vie courante (12,8%)³⁷⁰. Le taux de perdus de vue était en particulier très élevé (72,3%) au cours de la période d'accès discontinue ou « non gratuite » de la multi-thérapie, mais avec un suivi renforcé, les niveaux de perdus de vue revenaient à 10%. Les patients traités par TAR et perdus de vue sont supposés sélectionner rapidement des souches HIV-1 résistantes au traitement et développer des infections

opportunistes fatales au cours des mois suivants ³⁷¹. Il s'agit donc d'un problème dont l'origine est probablement multifactorielle (difficulté d'accès à un centre de santé, précarité défaut d'information/éducation, crainte de la stigmatisation...). Dans notre expérience, le profil des PDV était des femmes majoritairement travailleuses du sexe et probablement non adhérentes par crainte de stigmatisation.

L'amélioration de l'adhérence au système de soins passe aussi par la simplification des modalités et des tests de dépistage : réalisation d'auto-prélèvements et utilisation de TDR, de systèmes de type POC ou de support de type DBS. A ce sujet, nous avons travaillé sur des échantillons de DBS dans une étude menée au Tchad pour évaluer la faisabilité des tests de charge virale et de génotypage de résistance sur ce type de support. Les résultats de charge virale ont été infructueux pour 17% des DBS du fait d'une mauvaise conservation de l'ARN ou d'une erreur de diagnostic sur le statut HIV-1 lors du dépistage. Le rendement s'est révélé beaucoup plus modeste avec les tests de résistance génotypique avec un défaut de sensibilité notoire et déjà rapporté dans la littérature³⁰⁹. Les résultats disponibles ont montré un taux élevé de résistance primaire (29%) ce qui pourrait être dû à la présence conjointe d'ARN et d'ADN viral dans le DBS et la détection de mutations archivées (non détectables dans un test génotypique classique sur plasma). Il a été montré que des niveaux élevés d'ADN de HIV-1 pouvait rendre faussement positive la détection de l'ARN du HIV-1 dans 35% des cas environ. L'ADN du HIV-1 associé aux cellules est libéré dans le liquide d'élution de DBS de manière quantitative et par conséquent amplifié lorsque les niveaux d'ADN sont élevés. Le seuil au-delà duquel l'ADN du HIV-1 contamine fréquemment la quantification de l'ARN a été estimé entre 800 à 1 000 copies d'ADN³⁷². L'utilisation de DBS offre néanmoins les avantages d'un échantillon stable et facile à collecter par piqure au bout du doigt, à transporter (sans chaîne du froid) avec un risque infectieux minimal, et avec une préparation ne nécessitant pas de centrifugation. Ces supports sont utilisables sur la plupart des plates-formes disponibles dans les laboratoires placés au niveau central ³⁷²(hôpitaux et institut de recherche des grandes villes). Le DBS peut ainsi être utilisée pour renforcer la surveillance de la CV afin d'atteindre la dernière cible 90 des objectifs de l'ONUSIDA (90-90-90) pour aider à mettre fin à l'épidémie du SIDA.

A Bamako, le taux de succès thérapeutique observé (charge virale sanguine indétectable) s'est avéré très satisfaisant, près de 90%, dans le groupe de personnes qui a été suivi pendant un an. Cela signifie que la prise en charge est efficace

lorsque les PVVIH adhèrent au programme (3^{ème} « 90 »). Il faut toutefois rester prudent et compléter ce travail par une étude à durée plus longue, car certaines mutations de type TAMs et d'autres conférant une résistance à l'étravirine étaient décrites comme plus fréquentes entre 12 et 24 mois de TAR³⁷³. Ceci plaide pour un suivi régulier par CV et test de résistance génotypique (si disponible) afin de diagnostiquer un échappement virologique et de pouvoir rapidement changer une ou plusieurs molécules. Il se pose aussi la question de la disponibilité et du coût des molécules de 2^{ème} et 3^{ème} ligne ainsi que des ruptures de stock régulières, observées mais ayant eu peu d'impact à court terme sur le succès thérapeutique.

Un autre aspect important dans la prise en charge de l'infection et dans le cadre du plan 90-90-90 est la surveillance de la résistance primaire et acquise vis-à-vis des ARV. A ce titre, la mise en place de réseaux de surveillance de la résistance primaire aux ARV permet de suivre l'évolution des taux en fonction des régions mais aussi d'aider les décideurs à mettre en place des schémas thérapeutiques appropriés en première intention, en particulier dans les régions où les tests de résistance génotypique ne sont pas disponibles en routine. En 2008, le taux de TDRM était de 7,9% au Mali, elle passa à 11,5% en 2010 et une légère baisse était rapportée en 2013 (9,9%)⁴⁷⁻⁴⁹. Nous avons observé une augmentation du taux de TDRM à 15,3% avec la mutation K103N comme mutation principale (12,9%) associée à d'autres conférant la résistance croisée à tous les INNTI dont l'étravirine et rilpivirine, qui sont des drogues non encore utilisées au Mali. Par contre nous avons retrouvé très peu de mutation aux INTI (M184V en majorité, à 3,5%). Ce faible taux avait été déjà décrit dans une étude antérieure menée en 2010⁴⁸. Il convient de noter que l'une des femmes décédées dans notre étude présentait des mutations multiples (M184V, T215Y, K103E, Y181C) au départ. Cette mutation conférait une résistance à deux médicaments sur trois du schéma thérapeutique qu'elle suivait. En Afrique Centrale, une étude rapporte un taux de TDRM de 7,3% en 2011³⁷⁴. Ces mêmes auteurs trouvaient une prévalence de résistances aux IP de 1,1% en Afrique alors que nous n'avons pas détecté de mutation aux IP au Mali, confirmant les données récentes de l'OMS. Peut être l'une des conséquences de l'utilisation limitée des IP au Mali expliquerai cette non observance de mutation aux IP. Au Tchad nous avons eu 7/24 (29,16%) séquences porteuses de TDRM, la V106I (20,6%) et la K103N (8,3%) principalement. Nous n'avons pas trouvé d'autres données sur la résistance primaire au Tchad. Toutefois, le nombre modeste d'échantillons séquencés et la présence

possible d'ADN viral « parasite » sur les DBS (discuté plus haut) ne permet pas de tirer des conclusions définitives quant à la résistance primaire au Tchad. Une étude de plus grande envergure est en cours de mise en place pour vérifier ces premiers résultats. Le polymorphisme peut jouer un rôle important dans la résistance aux ARV. Des mutations de polymorphisme (V90I, V106I, V179T, V179E) ont été observées sur les quasi espèces de HIV obtenus. Les études menées sur la sensibilité du HIV-1 aux antirétroviraux dans le contexte de la diversité des sous-types, trouvent que la plupart des mutations de résistance majeures du sous-type B ont également été trouvées dans des sous-types non-B³⁷⁵. Certaines mutations de polymorphisme présentes sur le gène de la protéase de sous-types non-B ne semblent pas impacter l'efficacité des IP : c'est le cas de la V82I, la M46I/L par exemple³⁴². Même si la majorité des études disponibles suggèrent que tous les sous-types de HIV-1 présentent une sensibilité similaire aux antiviraux, certains d'entre eux semblent avoir une plus grande propension à développer une résistance à certains médicaments³⁷⁶. Certaines substitutions qui semblent influencer différemment sur les virus non-B sont (1) les mutations sur le gène de la transcriptase inverse G196E, A98G / S et V75M, et (2) les mutations sur le gène de la protéase M89I / V et I93L. Les principales différences, entre sous types B et non B portaient sur :

- la V106M qui impacte l'efficacité des INNTI,
- une fréquence plus élevée de la mutation de résistance K65R chez le sous-type C plus que celle observée habituellement avec le sous-type B,
- la L89I / V, qui impacte l'efficacité des IP est présente sur les sous-types C, F, G et CRF01_AE. L'émergence de la D30N (provoque une résistance de haut niveau au NFV) est également favorisée dans les sous-types B et D³⁷⁵.

Une autre partie de notre travail a porté sur l'effet du TAR sur les réservoirs muqueux. En ce qui concerne les spermes, nous avons eu des difficultés à collecter ces échantillons, ce qui ne nous n'a pas permis d'étudier correctement l'effet du TAR sur le compartiment génital masculin. Ces difficultés étaient surtout liées à des troubles érectiles et à des problèmes d'asthénie.

Pour les sécrétions cervico-vaginales, nous avons constaté une compartimentation du virus chez certaines femmes traitées présentant une excrétion virale au niveau vaginal avec une charge virale plasmatique indétectable et/ou des séquences génétiques différentes sur le gène *pol* entre le virus isolé dans la muqueuse et celui

provenant du sang. En particulier dans l'étude menée à Bamako, 27,8% des SCV présentaient une charge virale ARN positive après un an de trithérapie. Dans une étude de cohorte réalisée entre 2004 et 2013 dans 7 pays d'Afrique australe chez des patients suivis entre 12 et 48 mois, seulement 6% de CV détectable a été retrouvé sur un échantillon de SCV de 1114 femmes³⁵⁷.

Ceci peut être dû à une mauvaise pénétration des médicaments antirétroviraux dans le tractus génital et/ou à des co-facteurs comme l'inflammation, d'autres microorganismes provoquant des IST ou une dysbiose³⁵⁷. A ce sujet, nous avons montré que cette dernière était systématiquement retrouvée chez les 4 femmes testées avant mise sous TAR. Elle persistait chez l'une d'elles dont la charge virale était restée détectable après un an de traitement. En revanche un traitement efficace au niveau génital semble restaurer un microbiote normal majoritairement composé de *Lactobacillus*. D'autres facteurs associés à l'excrétion, tels que les ulcérations génitales peuvent augmenter la perméabilité vasculaire, permettant la transmigration de la circulation sanguine vers le compartiment cervico-vaginal ou activer la réplication du HIV par infiltration de lymphocytes et de monocytes activés et production de médiateurs inflammatoires localement dans le tractus génital. Cette compartimentation entre les populations virales du sang périphérique et du tractus génital a été décrite chez des personnes naïves de TAR³⁷⁷. Certaines femmes sous ARV présentent donc un risque de transmettre le virus, potentiellement résistant, malgré un TAR efficace au niveau sanguin³⁵⁷.

En conclusion, nos travaux apportent des informations nouvelles sur le déroulement des différentes étapes de la prise en charge de l'infection par HIV dans les pays en développement : dépistage, adhérence au programme, utilité des DBS, efficacité du traitement. Ainsi la faible adhésion au traitement, objectivée par le fort taux de perdus de vue, peut constituer un obstacle majeur à la réalisation du plan 90/90/90 de l'ONUSIDA. Nous apportons également des données nouvelles sur la prévalence de la résistance primaire qui plaident en faveur de l'utilisation généralisée en routine des tests de charge virale, de l'accessibilité aux différentes classes d'antirétroviraux, de leur utilisation rationnelle et du développement d'un réseau de surveillance de la résistance aux ARV dans les pays à ressources limitées. Enfin, nous avons obtenu pour la première fois dans une étude menée en Afrique Subsaharienne des données d'efficacité de traitement sur les réservoirs muqueux mettant en évidence l'existence

d'une compartimentation du virus notamment au niveau génital chez certaines personnes sous ARV. Mais aussi le rôle potentiel du microbiote vaginal sur une excrétion virale persistante, ce qui pose le problème du risque résiduel de transmission par des personnes sous trithérapie incitant à un dépistage et un traitement des infections génitales dans leur ensemble.

L'intensification des campagnes d'information, d'éducation et de prévention, la prise en charge des populations vulnérables et la lutte contre la stigmatisation sont des priorités et des préalables indispensables à la réalisation des objectifs d'éradication de l'infection par HIV à court ou moyen terme.

Références Bibliographique

1. Anon. UNAIDS_FactSheet_fr.pdf. Available at: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_fr.pdf. Accessed August 9, 2018.
2. Anon. UNAIDS Global report 2010 | Rapport ONUSIDA sur l'épidémie mondiale de sida 2010. Available at: http://www.unaids.org/globalreport/Global_report_fr.htm. Accessed August 9, 2018.
3. Anon. Prévalence du VIH, total (% de la population âgée de 15 à 49 ans) | Data. Available at: https://donnees.banquemondiale.org/indicateur/SH.DYN.AIDS.ZS?end=2016&name_desc=false&start=1990&view=chart. Accessed August 9, 2018.
4. Anon. 20170720_Data_book_2017_en.pdf. Available at: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/20170720_Data_book_2017_en.pdf. Accessed August 9, 2018.
5. Anon. publication_keypopulations_actionplan_fr.pdf. Available at: https://www.theglobalfund.org/media/1267/publication_keypopulations_actionplan_fr.pdf?u=636488963990000000. Accessed August 9, 2018.
6. Baral S, Sifakis F, Cleghorn F, Beyrer C. Elevated risk for HIV infection among men who have sex with men in low- and middle-income countries 2000-2006: a systematic review. *PLoS Med* 2007; **4**: e339.
7. Baral SD, Poteat T, Strömdahl S, Wirtz AL, Guadamuz TE, Beyrer C. Worldwide burden of HIV in transgender women: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis* 2013; **13**: 214–22.
8. Landoh DE, Maboudou AA, Deku K, Pitche PV. Distribution of new HIV infections among key risk population groups in Togo. *Pan Afr Med J* 2014; **19**: 341.
9. Anon. La balance a penché – ONUSIDA annonce que 19,5 millions de personnes restent en vie grâce aux traitements et le taux de mortalité due au SIDA a été divisé par deux depuis 2005. Available at: http://www.unaids.org/fr/resources/presscentre/pressreleaseandstatementarchive/2017/july/20170720_PR_Global_AIDS_Update_2017. Accessed August 23, 2018.
10. Abdool Karim Q, Sibeko S, Baxter C. Preventing HIV infection in women: a global health imperative. *Clin Infect Dis* 2010; **50 Suppl 3**: S122-129.
11. de Oliveira T, Kharsany ABM, Gräf T, *et al.* Transmission networks and risk of HIV infection in KwaZulu-Natal, South Africa: a community-wide phylogenetic study. *The Lancet HIV* 2017; **4**: e41–50.
12. Mtetwa S, Busza J, Chidiya S, Mungofa S, Cowan F. 'You are wasting our drugs': health service barriers to HIV treatment for sex workers in Zimbabwe. *BMC Public Health* 2013; **13**: 698.
13. Anon. La prévention du VIH au sein des populations clés. Available at: http://www.unaids.org/fr/resources/presscentre/featurestories/2016/november/20161121_keyops. Accessed August 9, 2018.
14. Anon. UNAIDS - KEY POPULATIONS ATLAS. Available at: <http://www.aidsinfoonline.org/kpatlas/#/home>. Accessed August 9, 2018.
15. Mathers BM, Degenhardt L, Ali H, *et al.* HIV prevention, treatment, and care services for people who inject drugs: a systematic review of global, regional, and national coverage. *Lancet* 2010; **375**: 1014–28.
16. Anon. 20121120_UNAIDS_Global_Report_2012_with_annexes_fr.pdf. Available at: http://files.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epidemiology/2012/gr2012/20121120_UNAIDS_Global_Report_2012_with_annexes_fr.pdf. Accessed August 9, 2018.
17. Anon. transcriptases_143.pdf. Available at:

- http://vih.org/sites/default/files/transcriptases_143.pdf. Accessed August 23, 2018.
18. Sharp PM, Hahn BH. Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harb Perspect Med* 2011; **1**: a006841.
 19. Aghokeng AF, Ayouba A, Mpoudi-Ngole E, *et al.* Extensive survey on the prevalence and genetic diversity of SIVs in primate bushmeat provides insights into risks for potential new cross-species transmissions. *Infect Genet Evol* 2010; **10**: 386–96.
 20. Schröder M, Bowie AG. An arms race: innate antiviral responses and counteracting viral strategies. *Biochem Soc Trans* 2007; **35**: 1512–4.
 21. Plantier J-C, Leoz M, Dickerson JE, *et al.* A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med* 2009; **15**: 871–2.
 22. Lange A, Ferguson NM. Antigenic Diversity, Transmission Mechanisms, and the Evolution of Pathogens Antia R, ed. *PLoS Computational Biology* 2009; **5**: e1000536.
 23. Zhang H, Tully DC, Hoffmann FG, He J, Kankasa C, Wood C. Restricted Genetic Diversity of HIV-1 Subtype C Envelope Glycoprotein from Perinatally Infected Zambian Infants Ndhlovu LC, ed. *PLoS ONE* 2010; **5**: e9294.
 24. Clavel F, Hoggan MD, Willey RL, Strebel K, Martin MA, Repaske R. Genetic recombination of human immunodeficiency virus. *J Virol* 1989; **63**: 1455–9.
 25. An W, Telesnitsky A. HIV-1 genetic recombination: experimental approaches and observations. *AIDS Rev* 2002; **4**: 195–212.
 26. Coffin JM. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995; **267**: 483–9.
 27. Robertson DL, Anderson JP, Bradac JA, *et al.* HIV-1 nomenclature proposal. *Science* 2000; **288**: 55–6.
 28. van der Kuyl AC, Cornelissen M. Identifying HIV-1 dual infections. *Retrovirology* 2007; **4**: 67.
 29. Rousseau CM, Learn GH, Bhattacharya T, *et al.* Extensive intrasubtype recombination in South African human immunodeficiency virus type 1 subtype C infections. *J Virol* 2007; **81**: 4492–500.
 30. Kozaczynska K, Cornelissen M, Reiss P, Zorgdrager F, van der Kuyl AC. HIV-1 sequence evolution in vivo after superinfection with three viral strains. *Retrovirology* 2007; **4**: 59.
 31. Brenner BG, Oliveira M, Doualla-Bell F, *et al.* HIV-1 subtype C viruses rapidly develop K65R resistance to tenofovir in cell culture: *AIDS* 2006; **20**: F9–13.
 32. Bolivar H, Geffin R, Manzi G, *et al.* The Challenge of HIV-1 Genetic Diversity: Discordant CD4+ T-Cell Count and Viral Load in an Untreated Patient Infected With a Subtype F Strain: *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2009; **52**: 659–61.
 33. Cohen MS, Gay CL, Busch MP, Hecht FM. The Detection of Acute HIV Infection. *The Journal of Infectious Diseases* 2010; **202**: S270–7.
 34. Louwagie J, Janssens W, Mascola J, *et al.* Genetic diversity of the envelope glycoprotein from human immunodeficiency virus type 1 isolates of African origin. *J Virol* 1995; **69**: 263–71.
 35. Stebbing J, Moyle G. The clades of HIV: their origins and clinical significance. *AIDS Rev* 2003; **5**: 205–13.
 36. Kanki PJ, Peeters M, Guéye-Ndiaye A. Virology of HIV-1 and HIV-2: implications for Africa. *AIDS* 1997; **11 Suppl B**: S33–42.
 37. Clavel F, Guyader M, Guétard D, Sallé M, Montagnier L, Alizon M. Molecular cloning and polymorphism of the human immune deficiency virus type 2. *Nature* 1986; **324**: 691–5.
 38. Marlink R, Kanki P, Thior I, *et al.* Reduced rate of disease development after HIV-2 infection as compared to HIV-1. *Science* 1994; **265**: 1587–90.

39. Adjé-Touré CA, Cheingsong R, Garcia-Lerma JG, *et al.* Antiretroviral therapy in HIV-2-infected patients: changes in plasma viral load, CD4⁺ cell counts, and drug resistance profiles of patients treated in Abidjan, Côte d' Ivoire. *AIDS* 2003; **17**: S49–54.
40. Motomura K, Chen J, Hu W-S. Genetic Recombination between Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) and HIV-2, Two Distinct Human Lentiviruses. *Journal of Virology* 2008; **82**: 1923–33.
41. Abecasis AB, Lemey P, Vidal N, *et al.* Recombination confounds the early evolutionary history of human immunodeficiency virus type 1: subtype G is a circulating recombinant form. *J Virol* 2007; **81**: 8543–51.
42. Peeters M, Chaix M-L. Origine et diversité génétique du virus de l'immunodéficience humaine : d'où vient-il, où va-t-il ? 2013; **17**: 13.
43. Hemelaar J, Gouws E, Ghys PD, Osmanov S, WHO-UNAIDS Network for HIV Isolation and Characterisation. Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. *AIDS* 2011; **25**: 679–89.
44. Rambaut A, Robertson DL, Pybus OG, Peeters M, Holmes EC. Human immunodeficiency virus. Phylogeny and the origin of HIV-1. *Nature* 2001; **410**: 1047–8.
45. Kuiken C. Genetic Analysis Reveals Epidemiologic Patterns in the Spread of Human Immunodeficiency Virus. *American Journal of Epidemiology* 2000; **152**: 814–22.
46. Sylla M, Chamberland A, Boileau C, *et al.* Characterization of drug resistance in antiretroviral-treated patients infected with HIV-1 CRF02_AG and AGK subtypes in Mali and Burkina Faso. *Antivir Ther (Lond)* 2008; **13**: 141–8.
47. Maiga AI, Fofana DB, Maiga AC, *et al.* Transmitted antiretroviral drug resistance in newly HIV-infected and untreated patients in Ségou and Bamako, Mali. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2013; **29**: 182–6.
48. Haidara A, Chamberland A, Sylla M, *et al.* High level of primary drug resistance in Mali. *HIV Med* 2010; **11**: 404–11.
49. Derache A, Maiga A-I, Traore O, *et al.* Evolution of genetic diversity and drug resistance mutations in HIV-1 among untreated patients from Mali between 2005 and 2006. *J Antimicrob Chemother* 2008; **62**: 456–63.
50. Fleury HJ. VIH-1, sous-types et CRF : différences dans la réponse aux traitements et la résistance aux antirétroviraux. : 7.
51. Imamichi H, Koita O, Dabita D, *et al.* Identification and characterization of CRF02_AG, CRF06_cpx, and CRF09_cpx recombinant subtypes in Mali, West Africa. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2009; **25**: 45–55.
52. Montavon C, Toure-Kane C, Nkengasong JN, *et al.* CRF06-cpx: a new circulating recombinant form of HIV-1 in West Africa involving subtypes A, G, K, and J. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2002; **29**: 522–30.
53. Anon. HIV Circulating Recombinant Forms (CRFs). Available at: <https://hfv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>. Accessed August 23, 2018.
54. Sepkowitz KA. AIDS--the first 20 years. *N Engl J Med* 2001; **344**: 1764–72.
55. Markowitz M, Mohri H, Mehandru S, *et al.* Infection with multidrug resistant, dual-tropic HIV-1 and rapid progression to AIDS: a case report. *Lancet* 2005; **365**: 1031–8.
56. Davis CW, Doms RW. HIV Transmission: Figure 1.: Closing All the Doors. *The Journal of Experimental Medicine* 2004; **199**: 1037–40.
57. Haase AT. Early events in sexual transmission of HIV and SIV and opportunities for interventions. *Annu Rev Med* 2011; **62**: 127–39.
58. Marsh M, Helenius A. Virus entry: open sesame. *Cell* 2006; **124**: 729–40.
59. Maréchal V, Prevost MC, Petit C, Perret E, Heard JM, Schwartz O. Human immunodeficiency virus type 1 entry into macrophages mediated by macropinocytosis. *J Virol* 2001; **75**: 11166–77.

60. Engering A, Geijtenbeek TBH, van Vliet SJ, *et al.* The dendritic cell-specific adhesion receptor DC-SIGN internalizes antigen for presentation to T cells. *J Immunol* 2002; **168**: 2118–26.
61. Shacklett BL, Greenblatt RM. Immune responses to HIV in the female reproductive tract, immunologic parallels with the gastrointestinal tract, and research implications. *Am J Reprod Immunol* 2011; **65**: 230–41.
62. Igakura T, Stinchcombe JC, Goon PKC, *et al.* Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. *Science* 2003; **299**: 1713–6.
63. Jolly C, Sattentau QJ. Human immunodeficiency virus type 1 virological synapse formation in T cells requires lipid raft integrity. *J Virol* 2005; **79**: 12088–94.
64. Igakura T, Stinchcombe JC, Goon PKC, *et al.* Spread of HTLV-I between lymphocytes by virus-induced polarization of the cytoskeleton. *Science* 2003; **299**: 1713–6.
65. Jolly C, Sattentau QJ. Human immunodeficiency virus type 1 virological synapse formation in T cells requires lipid raft integrity. *J Virol* 2005; **79**: 12088–94.
66. Sol-Foulon N, Sourisseau M, Porrot F, *et al.* ZAP-70 kinase regulates HIV cell-to-cell spread and virological synapse formation. *EMBO J* 2007; **26**: 516–26.
67. Alfsen A, Yu H, Magérus-Chatinet A, Schmitt A, Bomsel M. HIV-1-infected Blood Mononuclear Cells Form an Integrin- and Agrin-dependent Viral Synapse to Induce Efficient HIV-1 Transcytosis across Epithelial Cell Monolayer. *Molecular Biology of the Cell* 2005; **16**: 4267–79.
68. Haggerty CM, Pitt E, Siliciano RF. The latent reservoir for HIV-1 in resting CD4+ T cells and other viral reservoirs during chronic infection: insights from treatment and treatment-interruption trials. *Current Opinion in HIV and AIDS* 2006; **1**: 62–8.
69. Medzhitov R, Littman D. HIV immunology needs a new direction. *Nature* 2008; **455**: 591.
70. Chun TW, Carruth L, Finzi D, *et al.* Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature* 1997; **387**: 183–8.
71. Wong JK, Hezareh M, Günthard HF, *et al.* Recovery of replication-competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia. *Science* 1997; **278**: 1291–5.
72. Rouzioux C, Avettand-Fenoel V, Autran B. Immune responses and latent tissue reservoirs during the course of HIV-1 infection. *Virologie* 2013; **17**: 157–68.
73. Estaquier J, Hurtrel B. [Mesenteric lymph nodes, a sanctuary for the persistence of HIV. Escape mechanisms]. *Med Sci (Paris)* 2008; **24**: 1055–60.
74. Bailey JR, Sedaghat AR, Kieffer T, *et al.* Residual human immunodeficiency virus type 1 viremia in some patients on antiretroviral therapy is dominated by a small number of invariant clones rarely found in circulating CD4+ T cells. *J Virol* 2006; **80**: 6441–57.
75. Keele BF, Tazi L, Gartner S, *et al.* Characterization of the follicular dendritic cell reservoir of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 2008; **82**: 5548–61.
76. Louache F, Henri A, Bettaieb A, *et al.* Role of human immunodeficiency virus replication in defective in vitro growth of hematopoietic progenitors. *Blood* 1992; **80**: 2991–9.
77. Sahu GK, Paar D, Frost SDW, Smith MM, Weaver S, Cloyd MW. Low-level plasma HIVs in patients on prolonged suppressive highly active antiretroviral therapy are produced mostly by cells other than CD4 T-cells. *J Med Virol* 2009; **81**: 9–15.
78. Chomont N, El-Far M, Ancuta P, *et al.* HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat Med* 2009; **15**: 893–900.
79. Delobel P, Sandres-Sauné K, Cazabat M, *et al.* Persistence of distinct HIV-1 populations in blood monocytes and naive and memory CD4 T cells during prolonged suppressive HAART. *AIDS* 2005; **19**: 1739–50.
80. Varol C, Yona S, Jung S. Origins and tissue-context-dependent fates of blood monocytes. *Immunol Cell Biol* 2009; **87**: 30–8.

81. McElrath MJ, Steinman RM, Cohn ZA. Latent HIV-1 infection in enriched populations of blood monocytes and T cells from seropositive patients. *J Clin Invest* 1991; **87**: 27–30.
82. Sonza S, Maerz A, Deacon N, Meanger J, Mills J, Crowe S. Human immunodeficiency virus type 1 replication is blocked prior to reverse transcription and integration in freshly isolated peripheral blood monocytes. *J Virol* 1996; **70**: 3863–9.
83. Aquaro S, Caliò R, Balzarini J, Bellocchi MC, Garaci E, Perno CF. Macrophages and HIV infection: therapeutical approaches toward this strategic virus reservoir. *Antiviral Res* 2002; **55**: 209–25.
84. Sharova N, Swingler C, Sharkey M, Stevenson M. Macrophages archive HIV-1 virions for dissemination in trans. *EMBO J* 2005; **24**: 2481–9.
85. Sonza S, Mutimer HP, Oelrichs R, *et al.* Monocytes harbour replication-competent, non-latent HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy. *AIDS* 2001; **15**: 17–22.
86. Zhu T, Muthui D, Holte S, *et al.* Evidence for human immunodeficiency virus type 1 replication in vivo in CD14(+) monocytes and its potential role as a source of virus in patients on highly active antiretroviral therapy. *J Virol* 2002; **76**: 707–16.
87. Crowe S, Zhu T, Muller WA. The contribution of monocyte infection and trafficking to viral persistence, and maintenance of the viral reservoir in HIV infection. *J Leukoc Biol* 2003; **74**: 635–41.
88. Shen R, Richter HE, Clements RH, *et al.* Macrophages in vaginal but not intestinal mucosa are monocyte-like and permissive to human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 2009; **83**: 3258–67.
89. Mohan M, Aye PP, Borda JT, Alvarez X, Lackner AA. CCAAT/enhancer binding protein beta is a major mediator of inflammation and viral replication in the gastrointestinal tract of simian immunodeficiency virus-infected rhesus macaques. *Am J Pathol* 2008; **173**: 106–18.
90. Igarashi T, Brown CR, Endo Y, *et al.* Macrophage are the principal reservoir and sustain high virus loads in rhesus macaques after the depletion of CD4+ T cells by a highly pathogenic simian immunodeficiency virus/HIV type 1 chimera (SHIV): Implications for HIV-1 infections of humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2001; **98**: 658–63.
91. McElrath MJ, Smythe K, Randolph-Habecker J, *et al.* Comprehensive Assessment of HIV Target Cells in the Distal Human Gut Suggests Increasing HIV Susceptibility Toward the Anus: *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2013; **63**: 263–71.
92. Geijtenbeek TB, Kwon DS, Torensma R, *et al.* DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell* 2000; **100**: 587–97.
93. Cimarelli A, Duclos CA, Gessain A, *et al.* Quantification of HTLV-II proviral copies by competitive polymerase chain reaction in peripheral blood mononuclear cells of Italian injecting drug users, central Africans, and Amerindians. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1995; **10**: 198–204.
94. Zhang J, Perelson AS. Contribution of follicular dendritic cells to persistent HIV viremia. *J Virol* 2013; **87**: 7893–901.
95. Bernstein HB, Plasterer MC, Schiff SE, Kitchen CMR, Kitchen S, Zack JA. CD4 expression on activated NK cells: ligation of CD4 induces cytokine expression and cell migration. *J Immunol* 2006; **177**: 3669–76.
96. Cochrane A, Hughes GJ, Seaton RA, Simmonds P. First evidence of HIV infection of CD8 lymphocytes expressing CD4 during primary HIV-1 infection. *AIDS* 2005; **19**: 1237–9.
97. Brenchley JM, Hill BJ, Ambrozak DR, *et al.* T-cell subsets that harbor human immunodeficiency virus (HIV) in vivo: implications for HIV pathogenesis. *J Virol* 2004; **78**: 1160–8.
98. Brooks DG, Kitchen SG, Kitchen CM, Scripture-Adams DD, Zack JA. Generation of HIV latency during thymopoiesis. *Nat Med* 2001; **7**: 459–64.

99. Moir S, Lapointe R, Malaspina A, *et al.* CD40-Mediated induction of CD4 and CXCR4 on B lymphocytes correlates with restricted susceptibility to human immunodeficiency virus type 1 infection: potential role of B lymphocytes as a viral reservoir. *J Virol* 1999; **73**: 7972–80.
100. Zhang J, Scadden DT, Crumpacker CS. Primitive hematopoietic cells resist HIV-1 infection via p21. *J Clin Invest* 2007; **117**: 473–81.
101. Carter CC, Onafuwa-Nuga A, McNamara LA, *et al.* HIV-1 infects multipotent progenitor cells causing cell death and establishing latent cellular reservoirs. *Nat Med* 2010; **16**: 446–51.
102. Zack JA, Arrigo SJ, Weitsman SR, Go AS, Haislip A, Chen IS. HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell* 1990; **61**: 213–22.
103. Maldarelli F, Palmer S, King MS, *et al.* ART suppresses plasma HIV-1 RNA to a stable set point predicted by pretherapy viremia. *PLoS Pathog* 2007; **3**: e46.
104. Persaud D, Zhou Y, Siliciano JM, Siliciano RF. Latency in human immunodeficiency virus type 1 infection: no easy answers. *J Virol* 2003; **77**: 1659–65.
105. Stevenson M, Stanwick TL, Dempsey MP, Lamonica CA. HIV-1 replication is controlled at the level of T cell activation and proviral integration. *EMBO J* 1990; **9**: 1551–60.
106. Chun TW, Davey RT, Ostrowski M, *et al.* Relationship between pre-existing viral reservoirs and the re-emergence of plasma viremia after discontinuation of highly active anti-retroviral therapy. *Nat Med* 2000; **6**: 757–61.
107. Lambotte O, Taoufik Y, de Goër MG, Wallon C, Goujard C, Delfraissy JF. Detection of infectious HIV in circulating monocytes from patients on prolonged highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2000; **23**: 114–9.
108. Han Y, Lassen K, Monie D, *et al.* Resting CD4⁺ T cells from human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-infected individuals carry integrated HIV-1 genomes within actively transcribed host genes. *J Virol* 2004; **78**: 6122–33.
109. Lassen K, Han Y, Zhou Y, Siliciano J, Siliciano RF. The multifactorial nature of HIV-1 latency. *Trends Mol Med* 2004; **10**: 525–31.
110. Lenasi T, Contreras X, Peterlin BM. Transcriptional interference antagonizes proviral gene expression to promote HIV latency. *Cell Host Microbe* 2008; **4**: 123–33.
111. Hermankova M, Siliciano JD, Zhou Y, *et al.* Analysis of human immunodeficiency virus type 1 gene expression in latently infected resting CD4⁺ T lymphocytes in vivo. *J Virol* 2003; **77**: 7383–92.
112. Van Lint C. Role of chromatin in HIV-1 transcriptional regulation. *Adv Pharmacol* 2000; **48**: 121–60.
113. Bertin A, Mangenot S. [Structure and dynamic of the nucleosome core particle]. *Med Sci (Paris)* 2008; **24**: 715–9.
114. Peterson CL, Laniel M-A. Histones and histone modifications. *Curr Biol* 2004; **14**: R546-551.
115. Ray-Gallet D, Gérard A, Polo S, Almouzni G. [Variations on the topic of the ‘histone code’]. *Med Sci (Paris)* 2005; **21**: 384–9.
116. Williams SA, Greene WC. Regulation of HIV-1 latency by T-cell activation. *Cytokine* 2007; **39**: 63–74.
117. du Chéné I, Basyuk E, Lin Y-L, *et al.* Suv39H1 and HP1gamma are responsible for chromatin-mediated HIV-1 transcriptional silencing and post-integration latency. *EMBO J* 2007; **26**: 424–35.
118. Girard A, Rochereau N, Roblin X, Genin C, Paul S. Rôle et ciblage de l’intégrine $\alpha 4\beta 7$ dans la physiopathologie des MICI et de l’infection par le VIH. *médecine/sciences* 2015; **31**: 895–903.

119. Patki AH, Zielske SP, Sieg SF, Lederman MM. Preferential S phase entry and apoptosis of CD4(+) T lymphocytes of HIV-1-infected patients after in vitro cultivation. *Clin Immunol* 2000; **97**: 241–7.
120. Lenardo MJ, Angleman SB, Bounkeua V, *et al.* Cytopathic killing of peripheral blood CD4(+) T lymphocytes by human immunodeficiency virus type 1 appears necrotic rather than apoptotic and does not require env. *J Virol* 2002; **76**: 5082–93.
121. Bolton DL, Hahn B-I, Park EA, Lehnhoff LL, Hornung F, Lenardo MJ. Death of CD4(+) T-cell lines caused by human immunodeficiency virus type 1 does not depend on caspases or apoptosis. *J Virol* 2002; **76**: 5094–107.
122. Meyaard L, Otto SA, Jonker RR, Mijster MJ, Keet RP, Miedema F. Programmed death of T cells in HIV-1 infection. *Science* 1992; **257**: 217–9.
123. Wolthers KC, Bea G, Wisman A, *et al.* T cell telomere length in HIV-1 infection: no evidence for increased CD4+ T cell turnover. *Science* 1996; **274**: 1543–7.
124. Pitcher CJ, Quittner C, Peterson DM, *et al.* HIV-1-specific CD4+ T cells are detectable in most individuals with active HIV-1 infection, but decline with prolonged viral suppression. *Nat Med* 1999; **5**: 518–25.
125. Metroka CE, Cunningham-Rundles S, Krim M, *et al.* Generalized lymphadenopathy in homosexual men: an update of the New York experience. *Ann N Y Acad Sci* 1984; **437**: 400–11.
126. Mathur-Wagh U, Enlow RW, Spigland I, *et al.* Longitudinal study of persistent generalised lymphadenopathy in homosexual men: relation to acquired immunodeficiency syndrome. *Lancet* 1984; **1**: 1033–8.
127. Roederer M, Dubs JG, Anderson MT, Raju PA, Herzenberg LA, Herzenberg LA. CD8 naive T cell counts decrease progressively in HIV-infected adults. *J Clin Invest* 1995; **95**: 2061–6.
128. Nokta MA, Li X, Nichols J, Pou A, Asmuth D, Pollard RB. Homeostasis of Naive and Memory T Cell Subpopulations in Peripheral Blood and Lymphoid Tissues in the Context of Human Immunodeficiency Virus Infection. *The Journal of Infectious Diseases* 2001; **183**: 1336–42.
129. Bucy RP, Hockett RD, Derdeyn CA, *et al.* Initial increase in blood CD4+ lymphocytes after HIV antiretroviral therapy reflects redistribution from lymphoid tissues. *Journal of Clinical Investigation* 1999; **103**: 1391–8.
130. Schacker TW, Nguyen PL, Beilman GJ, *et al.* Collagen deposition in HIV-1 infected lymphatic tissues and T cell homeostasis. *Journal of Clinical Investigation* 2002; **110**: 1133–9.
131. Mohan T, Bhatnagar S, Gupta DL, Rao DN. Current understanding of HIV-1 and T-cell adaptive immunity: progress to date. *Microb Pathog* 2014; **73**: 60–9.
132. Emilie D, Peuchmaur M, Maillot MC, *et al.* Production of interleukins in human immunodeficiency virus-1-replicating lymph nodes. *Journal of Clinical Investigation* 1990; **86**: 148–59.
133. Boyle MJ, Berger MF, Tschuchnigg M, *et al.* Increased expression of interferon-gamma in hyperplastic lymph nodes from HIV-infected patients. *Clin Exp Immunol* 1993; **92**: 100–5.
134. Galanaud P. The in vivo expression of cytokine genes in humans. *J Lipid Mediat Cell Signal* 1994; **9**: 37–41.
135. Trumpfheller C, Tenner-Racz K, Racz P, Fleischer B, Frosch S. Expression of macrophage inflammatory protein (MIP)-1alpha, MIP-1beta, and RANTES genes in lymph nodes from HIV+ individuals: correlation with a Th1-type cytokine response. *Clin Exp Immunol* 1998; **112**: 92–9.
136. Veazey RS, DeMaria M, Chalifoux LV, *et al.* Gastrointestinal tract as a major site of CD4+ T cell depletion and viral replication in SIV infection. *Science* 1998; **280**: 427–31.

137. Haase AT. Population biology of HIV-1 infection: viral and CD4+ T cell demographics and dynamics in lymphatic tissues. *Annu Rev Immunol* 1999; **17**: 625–56.
138. Pantaleo G, Graziosi C, Demarest JF, *et al.* HIV infection is active and progressive in lymphoid tissue during the clinically latent stage of disease. *Nature* 1993; **362**: 355–8.
139. Martinot AJ, Meythaler M, Pozzi L-A, *et al.* Acute SIV infection in sooty mangabey monkeys is characterized by rapid virus clearance from lymph nodes and absence of productive infection in germinal centers. *PLoS ONE* 2013; **8**: e57785.
140. Burton GF, Keele BF, Estes JD, Thacker TC, Gartner S. Follicular dendritic cell contributions to HIV pathogenesis. *Semin Immunol* 2002; **14**: 275–84.
141. Mowat AM, Viney JL. The anatomical basis of intestinal immunity. *Immunol Rev* 1997; **156**: 145–66.
142. Mattapallil JJ, Douek DC, Hill B, Nishimura Y, Martin M, Roederer M. Massive infection and loss of memory CD4+ T cells in multiple tissues during acute SIV infection. *Nature* 2005; **434**: 1093–7.
143. Mehandru S, Dandekar S. Role of the gastrointestinal tract in establishing infection in primates and humans. *Curr Opin HIV AIDS* 2008; **3**: 22–7.
144. Lawrence P, Zimmer A, Paul S. Infection muqueuse par le virus VIH-1: mécanismes, conséquences, perspectives de vaccination. *Revue Francophone des Laboratoires* 2009; **2009**: 45–54.
145. Yukl SA, Gianella S, Sinclair E, *et al.* Differences in HIV burden and immune activation within the gut of HIV-positive patients receiving suppressive antiretroviral therapy. *J Infect Dis* 2010; **202**: 1553–61.
146. Miller CJ, Vogel P, Alexander NJ, Dandekar S, Hendrickx AG, Marx PA. Pathology and localization of simian immunodeficiency virus in the reproductive tract of chronically infected male rhesus macaques. *Lab Invest* 1994; **70**: 255–62.
147. van Marle G, Gill MJ, Kolodka D, McManus L, Grant T, Church DL. Compartmentalization of the gut viral reservoir in HIV-1 infected patients. *Retrovirology* 2007; **4**: 87.
148. Avettand-Fenoel V, Hocqueloux L, Müller-Trutwin M, *et al.* Greater diversity of HIV DNA variants in the rectum compared to variants in the blood in patients without HAART. *J Med Virol* 2011; **83**: 1499–507.
149. Cumont MC, Monceaux V, Viollet L, *et al.* TGF-beta in intestinal lymphoid organs contributes to the death of armed effector CD8 T cells and is associated with the absence of virus containment in rhesus macaques infected with the simian immunodeficiency virus. *Cell Death Differ* 2007; **14**: 1747–58.
150. Poles MA, Boscardin WJ, Elliott J, *et al.* Lack of decay of HIV-1 in gut-associated lymphoid tissue reservoirs in maximally suppressed individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2006; **43**: 65–8.
151. Pudney J, Anderson D. Orchitis and human immunodeficiency virus type 1 infected cells in reproductive tissues from men with the acquired immune deficiency syndrome. *Am J Pathol* 1991; **139**: 149–60.
152. Nuovo GJ, Becker J, Simsir A, Margiotta M, Khalife G, Shevchuk M. HIV-1 nucleic acids localize to the spermatogonia and their progeny. A study by polymerase chain reaction in situ hybridization. *Am J Pathol* 1994; **144**: 1142–8.
153. Gupta P, Leroux C, Patterson BK, *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 shedding pattern in semen correlates with the compartmentalization of viral Quasi species between blood and semen. *J Infect Dis* 2000; **182**: 79–87.
154. Leruez-Ville M, de Almeida M, Tachet A, *et al.* Assisted reproduction in HIV-1-serodifferent couples: the need for viral validation of processed semen. *AIDS* 2002; **16**: 2267–73.

155. Quayle AJ, Xu C, Mayer KH, Anderson DJ. T lymphocytes and macrophages, but not motile spermatozoa, are a significant source of human immunodeficiency virus in semen. *J Infect Dis* 1997; **176**: 960–8.
156. Pearce-Pratt R, Phillips DM. Studies of adhesion of lymphocytic cells: implications for sexual transmission of human immunodeficiency virus. *Biol Reprod* 1993; **48**: 431–45.
157. Pillai SK, Good B, Pond SK, *et al.* Semen-specific genetic characteristics of human immunodeficiency virus type 1 env. *J Virol* 2005; **79**: 1734–42.
158. Sheth PM, Kovacs C, Kemal KS, *et al.* Persistent HIV RNA shedding in semen despite effective antiretroviral therapy. *AIDS* 2009; **23**: 2050–4.
159. Marcelin A-G, Tubiana R, Lambert-Niclot S, *et al.* Detection of HIV-1 RNA in seminal plasma samples from treated patients with undetectable HIV-1 RNA in blood plasma. *AIDS* 2008; **22**: 1677–9.
160. Gupta P, Collins KB, Ratner D, *et al.* Memory CD4(+) T cells are the earliest detectable human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1)-infected cells in the female genital mucosal tissue during HIV-1 transmission in an organ culture system. *J Virol* 2002; **76**: 9868–76.
161. Coombs RW, Reichelderfer PS, Landay AL. Recent observations on HIV type-1 infection in the genital tract of men and women. *AIDS* 2003; **17**: 455–80.
162. Hartigan-O'Connor DJ, Abel K, Van Rompay KKA, Kanwar B, McCune JM. SIV replication in the infected rhesus macaque is limited by the size of the preexisting TH17 cell compartment. *Sci Transl Med* 2012; **4**: 136ra69.
163. Fischer-Smith T, Croul S, Adeniyi A, *et al.* Macrophage/microglial accumulation and proliferating cell nuclear antigen expression in the central nervous system in human immunodeficiency virus encephalopathy. *Am J Pathol* 2004; **164**: 2089–99.
164. Williams KC, Corey S, Westmoreland SV, *et al.* Perivascular macrophages are the primary cell type productively infected by simian immunodeficiency virus in the brains of macaques: implications for the neuropathogenesis of AIDS. *J Exp Med* 2001; **193**: 905–15.
165. Takahashi K, Wesselingh SL, Griffin DE, McArthur JC, Johnson RT, Glass JD. Localization of HIV-1 in human brain using polymerase chain reaction/in situ hybridization and immunocytochemistry. *Ann Neurol* 1996; **39**: 705–11.
166. Blankson JN, Persaud D, Siliciano RF. The challenge of viral reservoirs in HIV-1 infection. *Annu Rev Med* 2002; **53**: 557–93.
167. Cosenza MA, Zhao M-L, Si Q, Lee SC. Human brain parenchymal microglia express CD14 and CD45 and are productively infected by HIV-1 in HIV-1 encephalitis. *Brain Pathol* 2002; **12**: 442–55.
168. Thompson KA, Churchill MJ, Gorry PR, *et al.* Astrocyte specific viral strains in HIV dementia. *Ann Neurol* 2004; **56**: 873–7.
169. Churchill M, Nath A. Where does HIV hide? A focus on the central nervous system. *Curr Opin HIV AIDS* 2013; **8**: 165–9.
170. Letendre S, Marquie-Beck J, Capparelli E, *et al.* Validation of the CNS Penetration-Effectiveness rank for quantifying antiretroviral penetration into the central nervous system. *Arch Neurol* 2008; **65**: 65–70.
171. Casey LM, Lan Y, Cho E-S, Maltby KM, Gridley T, Jiang R. Jag2-Notch1 signaling regulates oral epithelial differentiation and palate development. *Developmental Dynamics* 2006; **235**: 1830–44.
172. Murray PA. Periodontal diseases in patients infected by human immunodeficiency virus. *Periodontology 2000* 1994; **6**: 50–67.
173. Robinson P, Adegboye A, Rowland R, Yeung S, Johnson N. Periodontal diseases and HIV infection. *Oral Diseases* 2002; **8**: 144–50.
174. Torres SR, Garzino-Demo A, Meiller TF, Meeks V, Jabra-Rizk MA. Salivary histatin-5 and oral fungal colonisation in HIV+ individuals. *Mycoses* 2009; **52**: 11–5.

175. Cobb CM, Ferguson BL, Keselyak NT, Holt LA, MacNeill SR, Rapley JW. A TEM/SEM study of the microbial plaque overlying the necrotic gingival papillae of HIV-seropositive, necrotizing ulcerative periodontitis. *J Periodont Res* 2003; **38**: 147–55.
176. Arthos J, Cicala C, Martinelli E, *et al.* HIV-1 envelope protein binds to and signals through integrin $\alpha 4\beta 7$, the gut mucosal homing receptor for peripheral T cells. *Nature Immunology* 2008; **9**: 301–9.
177. Mataftsi M, Skoura L, Sakellari D. HIV infection and periodontal diseases: an overview of the post-HAART era: HIV infection and periodontal diseases. *Oral Diseases* 2011; **17**: 13–25.
178. Vacharaksa A, Asrani AC, Gebhard KH, *et al.* Oral keratinocytes support non-replicative infection and transfer of harbored HIV-1 to permissive cells. *Retrovirology* 2008; **5**: 66.
179. Kumar RB, Maher DM, Herzberg MC, Southern PJ. Expression of HIV receptors, alternate receptors and co-receptors on tonsillar epithelium: implications for HIV binding and primary oral infection. *Viol J* 2006; **3**: 25.
180. Kohli A, Islam A, Moyes DL, *et al.* Oral and Vaginal Epithelial Cell Lines Bind and Transfer Cell-Free Infectious HIV-1 to Permissive Cells but Are Not Productively Infected Palaniyar N, ed. *PLoS ONE* 2014; **9**: e98077.
181. Dorosko SM, Connor RI. Primary Human Mammary Epithelial Cells Endocytose HIV-1 and Facilitate Viral Infection of CD4⁺ T Lymphocytes. *Journal of Virology* 2010; **84**: 10533–42.
182. Blasi M, Balakumaran B, Chen P, *et al.* Renal epithelial cells produce and spread HIV-1 via T-cell contact: *AIDS* 2014; **28**: 2345–53.
183. Chen P, Chen BK, Mosoian A, *et al.* Virological Synapses Allow HIV-1 Uptake and Gene Expression in Renal Tubular Epithelial Cells. *Journal of the American Society of Nephrology* 2011; **22**: 496–507.
184. Bruggeman LA, Ross MD, Tanji N, *et al.* Renal epithelium is a previously unrecognized site of HIV-1 infection. *J Am Soc Nephrol* 2000; **11**: 2079–87.
185. Marras D, Bruggeman LA, Gao F, *et al.* Replication and compartmentalization of HIV-1 in kidney epithelium of patients with HIV-associated nephropathy. *Nature Medicine* 2002; **8**: 522–6.
186. Canaud G, Dejuq-Rainsford N, Avettand-Fenoel V, *et al.* The Kidney as a Reservoir for HIV-1 after Renal Transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology* 2014; **25**: 407–19.
187. Kong L, Maya W, Moreno-Fernandez ME, *et al.* Low-level HIV infection of hepatocytes. *Virology Journal* 2012; **9**: 157.
188. Tuyama AC, Hong F, Saiman Y, *et al.* Human immunodeficiency virus (HIV)-1 infects human hepatic stellate cells and promotes collagen I and monocyte chemoattractant protein-1 expression: Implications for the pathogenesis of HIV/hepatitis C virus-induced liver fibrosis. *Hepatology* 2010; **52**: 612–22.
189. Hashimoto M, Nasser H, Bhuyan F, *et al.* Fibrocytes Differ from Macrophages but Can Be Infected with HIV-1. *The Journal of Immunology* 2015; **195**: 4341–50.
190. Wira CR, Rodriguez-Garcia M, Patel MV. The role of sex hormones in immune protection of the female reproductive tract. *Nature Reviews Immunology* 2015; **15**: 217–30.
191. Vitali D, Wessels JM, Kaushic C. Role of sex hormones and the vaginal microbiome in susceptibility and mucosal immunity to HIV-1 in the female genital tract. *AIDS Res Ther* 2017; **14**: 39.
192. Ferreira VH, Kafka JK, Kaushic C. Influence of Common Mucosal Co-Factors on HIV Infection in the Female Genital Tract. *American Journal of Reproductive Immunology* 2014; **71**: 543–54.
193. Buvé A, Jaspers V, Crucitti T, Fichorova RN. The vaginal microbiota and susceptibility

- to HIV: *AIDS* 2014; **28**: 2333–44.
194. Huang B, Fettweis JM, Brooks JP, Jefferson KK, Buck GA. The Changing Landscape of the Vaginal Microbiome. *Clinics in Laboratory Medicine* 2014; **34**: 747–61.
195. Eastment MC, McClelland RS. Vaginal microbiota and susceptibility to HIV: *AIDS* 2018; **32**: 687–98.
196. Klatt NR, Cheu R, Birse K, *et al.* Vaginal bacteria modify HIV tenofovir microbicide efficacy in African women. *Science* 2017; **356**: 938–45.
197. Dillon SM, Lee EJ, Kotter CV, *et al.* An altered intestinal mucosal microbiome in HIV-1 infection is associated with mucosal and systemic immune activation and endotoxemia. *Mucosal Immunol* 2014; **7**: 983–94.
198. Mutlu EA, Keshavarzian A, Losurdo J, *et al.* A compositional look at the human gastrointestinal microbiome and immune activation parameters in HIV infected subjects. *PLoS Pathog* 2014; **10**: e1003829.
199. Vujkovic-Cvijin I, Dunham RM, Iwai S, *et al.* Dysbiosis of the Gut Microbiota Is Associated with HIV Disease Progression and Tryptophan Catabolism. *Science Translational Medicine* 2013; **5**: 193ra91-193ra91.
200. Lozupone CA, Rhodes ME, Neff CP, Fontenot AP, Campbell TB, Palmer BE. HIV-induced alteration in gut microbiota: Driving factors, consequences, and effects of antiretroviral therapy. *Gut Microbes* 2014; **5**: 562–70.
201. Mukherjee PK, Chandra J, Retuerto M, *et al.* Oral Mycobiome Analysis of HIV-Infected Patients: Identification of *Pichia* as an Antagonist of Opportunistic Fungi Hogan DA, ed. *PLoS Pathogens* 2014; **10**: e1003996.
202. Cai Y, Sugimoto C, Arainga M, *et al.* Preferential Destruction of Interstitial Macrophages over Alveolar Macrophages as a Cause of Pulmonary Disease in Simian Immunodeficiency Virus–Infected Rhesus Macaques. *The Journal of Immunology* 2015; **195**: 4884–91.
203. Anon. En finir avec le sida - Progresser vers les cibles 90-90-90 - Synthèse. : 24.
204. Anon. JC2686_WAD2014report_fr.pdf. Available at: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/JC2686_WAD2014report_fr.pdf. Accessed August 10, 2018.
205. Anon. L'ONUSIDA alerte que les progrès ralentissent et que le temps est compté pour atteindre les objectifs de 2020 en matière de VIH. Available at: <http://www.unaids.org/fr/resources/presscentre/pressreleaseandstatementarchive/2018/july/mi-les-to-go>. Accessed August 15, 2018.
206. Fakoya I, Álvarez-Del Arco D, Monge S, *et al.* HIV testing history and access to treatment among migrants living with HIV in Europe. *Journal of the International AIDS Society* 2018; **21**: e25123.
207. Anon. Fiche d'information 2016, STATISTIQUES MONDIALES 2015, Personnes vivant avec le VIH, Personnes vivant avec le VIH qui ont accès à la thérapie antirétrovirale, Nouvelles infections à VIH, Décès liés au sida, VIH/tuberculose, Investissements - UNAIDS_FactSheet_fr.pdf. Available at: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_fr.pdf. Accessed December 24, 2016.
208. Anon. 9789242500462_fre.pdf. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/44740/9789242500462_fre.pdf?sequence=1. Accessed August 22, 2018.
209. World Health Organization. *Consolidated guidelines on HIV testing services: 5Cs: consent, confidentiality, counselling, correct results, and connection*. 2015. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK316021/>. Accessed August 29, 2018.
210. Anon. 9789242512632-fre.pdf. Available at:

- <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/260135/9789242512632-fre.pdf?sequence=1>. Accessed August 22, 2018.
211. Anon. 9789241509893_fre.pdf. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/206448/9789241509893_fre.pdf;jsessionid=A705084B7A83F2C4CC31B6A23D2B8740?sequence=1. Accessed September 2, 2018.
212. Craig JK, Gupta P. HIV-1 in genital compartments: vexing viral reservoirs. *Curr Opin HIV AIDS* 2006; **1**: 97–102.
213. Wong JK, Yukl SA. Tissue reservoirs of HIV: *Current Opinion in HIV and AIDS* 2016; **11**: 362–70.
214. Taylor S, Davies S. Antiretroviral drug concentrations in the male and female genital tract: implications for the sexual transmission of HIV. *Curr Opin HIV AIDS* 2010; **5**: 335–43.
215. Else LJ, Taylor S, Back DJ, Khoo SH. Pharmacokinetics of antiretroviral drugs in anatomical sanctuary sites: the male and female genital tract. *Antiviral Therapy* 2011; **16**: 1149–67.
216. Launay O, Tod M, Tschöpe I, *et al.* Residual HIV-1 RNA and HIV-1 DNA production in the genital tract reservoir of women treated with HAART: the prospective ANRS EP24 GYNODYN study. *Antiviral Therapy* 2011; **16**: 843–52.
217. Yukl SA, Shergill AK, McQuaid K, *et al.* Effect of raltegravir-containing intensification on HIV burden and T-cell activation in multiple gut sites of HIV-positive adults on suppressive antiretroviral therapy. *AIDS* 2010; **24**: 2451–60.
218. Depincé AE, Dussert E, Vergnon-Miszczucha D, *et al.* The Genotyping Resistance Profile of the *Pol* Gene Detected in Blood of Newly Diagnosed HIV-Positive Men Is Durably Archived in the Gut Whatever the Time of Initiation of cART. *Intervirology* 2016; **59**: 256–61.
219. Delaugerre C. Barrière génétique à la résistance des antirétroviraux. *Médecine et Maladies Infectieuses* 2010; **40**: S1–10.
220. Tang MW, Shafer RW. HIV-1 Antiretroviral Resistance: Scientific Principles and Clinical Applications. *Drugs* 2012; **72**: e1–25.
221. Aoki M, Das D, Hayashi H, *et al.* Mechanism of Darunavir (DRV)'s High Genetic Barrier to HIV-1 Resistance: A Key V32I Substitution in Protease Rarely Occurs, but Once It Occurs, It Predisposes HIV-1 To Develop DRV Resistance Prasad VR, ed. *mBio* 2018; **9**. Available at: <http://mbio.asm.org/lookup/doi/10.1128/mBio.02425-17>. Accessed September 3, 2018.
222. Santos AFA, Tebit DM, Lalonde MS, *et al.* Effect of Natural Polymorphisms in the HIV-1 CRF02_AG Protease on Protease Inhibitor Hypersusceptibility. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2012; **56**: 2719–25.
223. Lawrence P, Lutz M-F, Saoudin H, *et al.* Analysis of Polymorphism in the Protease and Reverse Transcriptase Genes of HIV Type 1 CRF02-AG Subtypes From Drug-Naive Patients From Saint-Etienne, France: *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2006; **42**: 396–404.
224. Blanc A, Bonnet F, Brun-Vezinet F, *et al.* Groupe d'experts pour la prise en charge du VIH. 2016: 15.
225. Netgen. Les tests de résistance aux antirétroviraux en pratique clinique. *Revue Médicale Suisse*. Available at: <https://www.revmed.ch/RMS/2003/RMS-2453/23292>. Accessed August 22, 2018.
226. Araújo LAL, Junqueira DM, de Medeiros RM, Matte MCC, Almeida SE de M. Naturally occurring resistance mutations to HIV-1 entry inhibitors in subtypes B, C, and CRF31_BC. *J Clin Virol* 2012; **54**: 6–10.
227. Vercauteren J, Vandamme A-M. Algorithms for the interpretation of HIV-1 genotypic drug resistance information. *Antiviral Research* 2006; **71**: 335–42.

228. Singh Y, Mars M. HIV Drug-Resistant Patient Information Management, Analysis, and Interpretation. *JMIR Research Protocols* 2012; **1**: e3.
229. Hofstra LM, Sauvageot N, Albert J, *et al.* Transmission of HIV Drug Resistance and the Predicted Effect on Current First-line Regimens in Europe. *Clinical Infectious Diseases* 2016; **62**: 655–63.
230. Castor D, Low A, Evering T, *et al.* Transmitted drug resistance and phylogenetic relationships among acute and early HIV-1-infected individuals in New York City. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012; **61**: 1–8.
231. Mbisa JL, Fearnhill E, Dunn DT, *et al.* Evidence of Self-Sustaining Drug Resistant HIV-1 Lineages Among Untreated Patients in the United Kingdom. *Clin Infect Dis* 2015; **61**: 829–36.
232. Brenner B, Wainberg MA, Salomon H, *et al.* Resistance to antiretroviral drugs in patients with primary HIV-1 infection. Investigators of the Quebec Primary Infection Study. *Int J Antimicrob Agents* 2000; **16**: 429–34.
233. Chen M, Ma Y, Su Y, *et al.* HIV-1 genetic characteristics and transmitted drug resistance among men who have sex with men in Kunming, China. *PLoS ONE* 2014; **9**: e87033.
234. Waters JM, O’Neal W, White KL, *et al.* Mutations in the thumb-connection and RNase H domain of HIV type-1 reverse transcriptase of antiretroviral treatment-experienced patients. *Antivir Ther (Lond)* 2009; **14**: 231–9.
235. Bracciale L, Colafigli M, Zazzi M, *et al.* Prevalence of transmitted HIV-1 drug resistance in HIV-1-infected patients in Italy: evolution over 12 years and predictors. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2009; **64**: 607–15.
236. Fabeni L, Alteri C, Orchi N, *et al.* Recent Transmission Clustering of HIV-1 C and CRF17_BF Strains Characterized by NNRTI-Related Mutations among Newly Diagnosed Men in Central Italy. *PLoS ONE* 2015; **10**: e0135325.
237. Barbour JD, Wrin T, Grant RM, *et al.* Evolution of phenotypic drug susceptibility and viral replication capacity during long-term virologic failure of protease inhibitor therapy in human immunodeficiency virus-infected adults. *J Virol* 2002; **76**: 11104–12.
238. Clavel F, Hance AJ. HIV drug resistance. *N Engl J Med* 2004; **350**: 1023–35.
239. Hofstra LM, Sauvageot N, Albert J, *et al.* Transmission of HIV drug resistance and the predicted effect on current first-line regimens in Europe. *Clin Infect Dis* 2015.
240. Somda A, Sangare L, Soro M, *et al.* Surveillance of transmitted drug-resistant HIV among young pregnant women in Ouagadougou, Burkina Faso. *Clin Infect Dis* 2012; **54 Suppl 4**: S317-319.
241. Nii-Trebi NI, Ibe S, Barnor JS, *et al.* HIV-1 Drug-Resistance Surveillance among Treatment-Experienced and -Naïve Patients after the Implementation of Antiretroviral Therapy in Ghana Barbour JD, ed. *PLoS ONE* 2013; **8**: e71972.
242. Kantor R, Bettendorf D, Bosch RJ, *et al.* HIV-1 RNA Levels and Antiretroviral Drug Resistance in Blood and Non-Blood Compartments from HIV-1–Infected Men and Women enrolled in AIDS Clinical Trials Group Study A5077 Ambrose Z, ed. *PLoS ONE* 2014; **9**: e93537.
243. Hassan AS, Mwaringa SM, Obonyo CA, *et al.* Low Prevalence of Transmitted HIV Type 1 Drug Resistance Among Antiretroviral-Naïve Adults in a Rural HIV Clinic in Kenya. *AIDS Research and Human Retroviruses* 2013; **29**: 129–35.
244. Wadonda-Kabondo N, Banda R, Moyo K, *et al.* Prevalence of transmitted HIV drug resistance among newly diagnosed antiretroviral therapy-naïve pregnant women in Lilongwe and Blantyre, Malawi. *Clin Infect Dis* 2012; **54 Suppl 4**: S324-327.
245. Archer RH, Dykes C, Gerondelis P, *et al.* Mutants of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) reverse transcriptase resistant to nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors demonstrate altered rates of RNase H cleavage that correlate with HIV-1 replication fitness in

- cell culture. *J Virol* 2000; **74**: 8390–401.
246. Yebra G, de Mulder M, Holguín Á. Description of HIV-1 group M molecular epidemiology and drug resistance prevalence in Equatorial Guinea from migrants in Spain. *PLoS ONE* 2013; **8**: e64293.
247. Maiga AI, Fofana DB, Maiga AC, *et al.* Transmitted Antiretroviral Drug Resistance in Newly HIV-Infected and Untreated Patients in Ségou and Bamako, Mali. *AIDS Research and Human Retroviruses* 2013; **29**: 182–6.
248. Dam E, Quercia R, Glass B, *et al.* Gag mutations strongly contribute to HIV-1 resistance to protease inhibitors in highly drug-experienced patients besides compensating for fitness loss. *PLoS Pathog* 2009; **5**: e1000345.
249. Ragupathy V, Zhao J, Wood O, *et al.* Identification of new, emerging HIV-1 unique recombinant forms and drug resistant viruses circulating in Cameroon. *Virol J* 2011; **8**: 185.
250. Eron JJ, Cooper DA, Steigbigel RT, *et al.* Efficacy and safety of raltegravir for treatment of HIV for 5 years in the BENCHMRK studies: final results of two randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Infect Dis* 2013; **13**: 587–96.
251. Malet I, Fourati S, Charpentier C, *et al.* The HIV-1 integrase G118R mutation confers raltegravir resistance to the CRF02_AG HIV-1 subtype. *J Antimicrob Chemother* 2011; **66**: 2827–30.
252. Gianella S, Smith DM, Vargas MV, *et al.* Shedding of HIV and Human Herpesviruses in the Semen of Effectively Treated HIV-1-Infected Men Who Have Sex With Men. *Clinical Infectious Diseases* 2013; **57**: 441–7.
253. Solas C, Lafeuillade A, Halfon P, Chadapaud S, Hittinger G, Lacarelle B. Discrepancies between protease inhibitor concentrations and viral load in reservoirs and sanctuary sites in human immunodeficiency virus-infected patients. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; **47**: 238–43.
254. Liuzzi G, Chirianni A, Zaccarelli M, *et al.* Differences between semen and plasma of nucleoside reverse transcriptase resistance mutations in HIV-infected patients, using a rapid assay. *In Vivo* 2004; **18**: 509–12.
255. Soulie C, Descamps D, Grudé M, *et al.* Antiretroviral-naïve and -treated HIV-1 patients can harbour more resistant viruses in CSF than in plasma. *J Antimicrob Chemother* 2015; **70**: 566–72.
256. Béguelin C, Vázquez M, Bertschi M, *et al.* Viral escape in the CNS with multidrug-resistant HIV-1. *J Int AIDS Soc* 2014; **17**: 19745.
257. Osborne BJW, Sheth PM, Yi TJ, *et al.* Impact of Antiretroviral Therapy Duration and Intensification on Isolated Shedding of HIV-1 RNA in Semen. *Journal of Infectious Diseases* 2013; **207**: 1226–34.
258. Kemal KS, Ramirez CM, Burger H, *et al.* Recombination between variants from genital tract and plasma: evolution of multidrug-resistant HIV type 1. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2012; **28**: 1766–74.
259. Balamane M, Winters MA, Dalai SC, *et al.* Detection of HIV-1 in Saliva: Implications for Case-Identification, Clinical Monitoring and Surveillance for Drug Resistance. *The Open Virology Journal* 2010; **4**: 88–93.
260. Fonner VA, Dalglish SL, Kennedy CE, *et al.* Effectiveness and safety of oral HIV preexposure prophylaxis for all populations. *AIDS* 2016; **30**: 1973–83.
261. Adams LM, Balderson BH. HIV providers' likelihood to prescribe pre-exposure prophylaxis (PrEP) for HIV prevention differs by patient type: a short report. *AIDS Care* 2016; **28**: 1154–8.
262. McCormack S, Dunn DT, Desai M, *et al.* Pre-exposure prophylaxis to prevent the acquisition of HIV-1 infection (PROUD): effectiveness results from the pilot phase of a pragmatic open-label randomised trial. *The Lancet* 2016; **387**: 53–60.

263. Wong NS, Kwan TH, Tsang OTY, *et al.* Pre-exposure prophylaxis (PrEP) for MSM in low HIV incidence places: should high risk individuals be targeted? *Sci Rep* 2018; **8**: 11641.
264. Auerbach JD, Kinsky S, Brown G, Charles V. Knowledge, attitudes, and likelihood of pre-exposure prophylaxis (PrEP) use among US women at risk of acquiring HIV. *AIDS Patient Care STDS* 2015; **29**: 102–10.
265. Anon. UNAIDS_JC2764_en.pdf. Available at: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_JC2764_en.pdf. Accessed August 13, 2018.
266. Abdool Karim Q, Abdool Karim SS, Frohlich JA, *et al.* Effectiveness and safety of tenofovir gel, an antiretroviral microbicide, for the prevention of HIV infection in women. *Science* 2010; **329**: 1168–74.
267. Marrazzo JM, Ramjee G, Richardson BA, *et al.* Tenofovir-Based Preexposure Prophylaxis for HIV Infection among African Women. *New England Journal of Medicine* 2015; **372**: 509–18.
268. Memmi M, Bourlet T, Pozzetto B. Use of vaginal rings charged with antiviral drugs for preventing HIV infection in women. *Future Virology* 2014; **9**: 227–30.
269. Anon. Two Large Studies Show IPM’s Monthly Vaginal Ring Helps Protect Women Against HIV | International Partnership For Microbicides. Available at: <https://www.ipmglobal.org/publications/two-large-studies-show-ipm%E2%80%99s-monthly-vaginal-ring-helps-protect-women-against-hiv>. Accessed August 13, 2018.
270. Clark JT, Clark MR, Shelke NB, *et al.* Engineering a Segmented Dual-Reservoir Polyurethane Intravaginal Ring for Simultaneous Prevention of HIV Transmission and Unwanted Pregnancy Tachedjian G, ed. *PLoS ONE* 2014; **9**: e88509.
271. Smith DK, Grohskopf LA, Black RJ, *et al.* Antiretroviral postexposure prophylaxis after sexual, injection-drug use, or other nonoccupational exposure to HIV in the United States: recommendations from the U.S. Department of Health and Human Services. *MMWR Recomm Rep* 2005; **54**: 1–20.
272. Cardo DM, Culver DH, Ciesielski CA, *et al.* A case-control study of HIV seroconversion in health care workers after percutaneous exposure. Centers for Disease Control and Prevention Needlestick Surveillance Group. *N Engl J Med* 1997; **337**: 1485–90.
273. Baeten JM, Heffron R, Kidoguchi L, *et al.* Integrated Delivery of Antiretroviral Treatment and Pre-exposure Prophylaxis to HIV-1–Serodiscordant Couples: A Prospective Implementation Study in Kenya and Uganda Siegfried N, ed. *PLOS Medicine* 2016; **13**: e1002099.
274. Anon. 2016PreventionGapReportssummary_en.pdf. Available at: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/2016PreventionGapReportssummary_en.pdf. Accessed August 13, 2018.
275. Gardner EM, McLees MP, Steiner JF, Del Rio C, Burman WJ. The spectrum of engagement in HIV care and its relevance to test-and-treat strategies for prevention of HIV infection. *Clin Infect Dis* 2011; **52**: 793–800.
276. Shelton JD. HIV/AIDS. ARVs as HIV prevention: a tough road to wide impact. *Science* 2011; **334**: 1645–6.
277. Wamai RG, Morris BJ, Bailis SA, *et al.* Male circumcision for HIV prevention: current evidence and implementation in sub-Saharan Africa. *Journal of the International AIDS Society* 2011; **14**: 49.
278. Gray RH, Kigozi G, Serwadda D, *et al.* Male circumcision for HIV prevention in men in Rakai, Uganda: a randomised trial. *The Lancet* 2007; **369**: 657–66.
279. Bailey RC, Moses S, Parker CB, *et al.* Male circumcision for HIV prevention in young men in Kisumu, Kenya: a randomised controlled trial. *The Lancet* 2007; **369**: 643–56.
280. Ganor Y, Zhou Z, Bodo J, *et al.* The adult penile urethra is a novel entry site for HIV-1

- that preferentially targets resident urethral macrophages. *Mucosal Immunology* 2013; **6**: 776–86.
281. Zhou Z, Barry de Longchamps N, Schmitt A, *et al.* HIV-1 efficient entry in inner foreskin is mediated by elevated CCL5/RANTES that recruits T cells and fuels conjugate formation with Langerhans cells. *PLoS Pathog* 2011; **7**: e1002100.
282. Weiss HA, Quigley MA, Hayes RJ. Male circumcision and risk of HIV infection in sub-Saharan Africa: a systematic review and meta-analysis: *AIDS* 2000; **14**: 2361–70.
283. Anon. infopack_fr_4.pdf. Available at: http://www.who.int/hiv/pub/malecircumcision/infopack_fr_4.pdf. Accessed August 14, 2018.
284. Pinkham S, Stoicescu C, Myers B. Developing Effective Health Interventions for Women Who Inject Drugs: Key Areas and Recommendations for Program Development and Policy. *Advances in Preventive Medicine* 2012. Available at: <https://www.hindawi.com/journals/apm/2012/269123/>. Accessed August 9, 2018.
285. Anon. JC2322_BackgroundCurrentLandscapeCriminalisationHIV_en.pdf. Available at: http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/JC2322_BackgroundCurrentLandscapeCriminalisationHIV_en.pdf. Accessed August 9, 2018.
286. Rich ML, Miller AC, Niyigena P, *et al.* Excellent clinical outcomes and high retention in care among adults in a community-based HIV treatment program in rural Rwanda. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2012; **59**: e35-42.
287. Geng EH, Bangsberg DR, Musinguzi N, *et al.* Understanding reasons for and outcomes of patients lost to follow-up in antiretroviral therapy programs in Africa through a sampling-based approach. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2010; **53**: 405–11.
288. Rosen S, Fox MP, Gill CJ. Patient Retention in Antiretroviral Therapy Programs in Sub-Saharan Africa: A Systematic Review Sepulveda-Amor J, ed. *PLoS Medicine* 2007; **4**: e298.
289. Anon. 18947_5.pdf.
290. Anon. OMS | Les services de prise en charge de l'infection à VIH négligent les adolescents. WHO. Available at: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2013/hiv-adolescents-20131125/fr/>. Accessed August 15, 2018.
291. Roberts T, Cohn J, Bonner K, Hargreaves S. Scale-up of Routine Viral Load Testing in Resource-Poor Settings: Current and Future Implementation Challenges. *Clin Infect Dis* 2016; **62**: 1043–8.
292. Anon. AIDSinfo | UNAIDS. Available at: <http://aidsinfo.unaids.org/>. Accessed August 9, 2018.
293. Msellati P, Ndongo FA, Hejoaka F, Nacro B. Impediments to HIV testing in HIV-infected children and teenagers in Africa: look for them where they are! *Médecine et Santé Tropicales* 2016; **1-2-3**: 10–14.
294. Wu G, Zaman MH. Low-cost tools for diagnosing and monitoring HIV infection in low-resource settings. *Bull World Health Organ* 2012; **90**: 914–20.
295. Drain PK, Rousseau C. Point-of-care diagnostics: extending the laboratory network to reach the last mile. *Current Opinion in HIV and AIDS* 2017; **12**: 175–81.
296. Louni F, Le Gac S, Rumi S, Lefebvre Roque A, Yazdanpanah Y, Bouvet E. A-22: La généralisation des TROD VIH ne risque-t-elle pas d'augmenter le sous-diagnostic des hépatites virales ? *Médecine et Maladies Infectieuses* 2014; **44**: 24.
297. Sarr A. Dépistage communautaire par tests rapides (TROD) VIH en France sur une période de trois ans, 2012-2014. 2015: 7.
298. Tonen-Wolyec S, Filali M, Mboup S, Bélec L. HIV self-testing in Africa: stakes and challenges. *Médecine et Santé Tropicales* 2018; **4-5-6**: 144–149.
299. Pant Pai N, Sharma J, Shivkumar S, *et al.* Supervised and Unsupervised Self-Testing for HIV in High- and Low-Risk Populations: A Systematic Review Weiser SD, ed. *PLoS Medicine* 2013; **10**: e1001414.

300. Choko AT, MacPherson P, Webb EL, *et al.* Uptake, Accuracy, Safety, and Linkage into Care over Two Years of Promoting Annual Self-Testing for HIV in Blantyre, Malawi: A Community-Based Prospective Study Bangsberg DR, ed. *PLOS Medicine* 2015; **12**: e1001873.
301. Thirumurthy H, Masters SH, Mavedzenge SN, Maman S, Omanga E, Agot K. Promoting male partner HIV testing and safer sexual decision making through secondary distribution of self-tests by HIV-negative female sex workers and women receiving antenatal and post-partum care in Kenya: a cohort study. *Lancet HIV* 2016; **3**: e266-274.
302. Anon. A71_41Rev1-fr.pdf. Available at: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA71/A71_41Rev1-fr.pdf. Accessed August 17, 2018.
303. Lecher S, Williams J, Fonjungo PN, *et al.* Progress with Scale-Up of HIV Viral Load Monitoring — Seven Sub-Saharan African Countries, January 2015–June 2016. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report* 2016; **65**: 1332–5.
304. Johannessen A, Garrido C, Zahonero N, *et al.* Dried blood spots perform well in viral load monitoring of patients who receive antiretroviral treatment in rural Tanzania. *Clin Infect Dis* 2009; **49**: 976–81.
305. Hirtz C, Lehmann S. Blood sampling using “dried blood spot”: a clinical biology revolution underway? *Annales de Biologie Clinique* 2015; **73**: 25–37.
306. Anon. 9789242507072_fre.pdf. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/137338/9789242507072_fre.pdf?sequence=1. Accessed August 23, 2018.
307. Smit PW, Sollis KA, Fiscus S, *et al.* Systematic Review of the Use of Dried Blood Spots for Monitoring HIV Viral Load and for Early Infant Diagnosis Paxton WA, ed. *PLoS ONE* 2014; **9**: e86461.
308. Mbida AD, Sosso S, Flori P, *et al.* Measure of viral load by using the Abbott Real-Time HIV-1 assay on dried blood and plasma spot specimens collected in 2 rural dispensaries in Cameroon. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2009; **52**: 9–16.
309. Taieb F, Tran Hong T, Ho HT, *et al.* First field evaluation of the optimized CE marked Abbott protocol for HIV RNA testing on dried blood spot in a routine clinical setting in Vietnam Sandstrom P, ed. *PLOS ONE* 2018; **13**: e0191920.
310. Fajardo E, Metcalf CA, Chaillet P, *et al.* Prospective Evaluation of Diagnostic Accuracy of Dried Blood Spots from Finger Prick Samples for Determination of HIV-1 Load with the NucliSENS Easy-Q HIV-1 Version 2.0 Assay in Malawi. *Journal of Clinical Microbiology* 2014; **52**: 1343–51.
311. Zeh C, Ndiege K, Inzaule S, *et al.* Evaluation of the performance of Abbott m2000 and Roche COBAS Ampliprep/COBAS Taqman assays for HIV-1 viral load determination using dried blood spots and dried plasma spots in Kenya Sandstrom P, ed. *PLOS ONE* 2017; **12**: e0179316.
312. Chang J, de Sousa A, Sabatier J, *et al.* Performance characteristics of finger-stick dried blood spots (DBS) on the determination of human immunodeficiency virus (HIV) treatment failure in a pediatric population in Mozambique Ceccherini-Silberstein F, ed. *PLOS ONE* 2017; **12**: e0181054.
313. Aitken SC, Wallis CL, Stevens W, de Wit TR, Schuurman R. Stability of HIV-1 Nucleic Acids in Dried Blood Spot Samples for HIV-1 Drug Resistance Genotyping Paxton WA, ed. *PLOS ONE* 2015; **10**: e0131541.
314. Lillie TA, Baer J, Adams D, Zhao J, Wolf RC. Think global, act local: the experience of Global Fund and PEPFAR joint cascade assessments to harmonize and strengthen key population HIV programmes in eight countries. *Journal of the International AIDS Society* **21**: e25125.

315. Biello KB, Oldenburg CE, Safren SA, *et al.* Multiple syndemic psychosocial factors are associated with reduced engagement in HIV care among a multinational, online sample of HIV-infected MSM in Latin America. *AIDS Care* 2016; **28 Suppl 1**: 84–91.
316. Lancaster KE, Cernigliaro D, Zulliger R, Fleming PF. HIV care and treatment experiences among female sex workers living with HIV in sub-Saharan Africa: A systematic review. *Afr J AIDS Res* 2016; **15**: 377–86.
317. Anon. WHO-HIV-2017.34-eng.pdf. Available at: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/258506/WHO-HIV-2017.34-eng.pdf?sequence=1>. Accessed August 9, 2018.
318. The Lancet HIV. U=U taking off in 2017. *The Lancet HIV* 2017; **4**: e475.
319. Deering KN, Bhattacharjee P, Mohan HL, *et al.* Violence and HIV risk among female sex workers in Southern India. *Sex Transm Dis* 2013; **40**: 168–74.
320. Decker MR, Wirtz AL, Pretorius C, *et al.* Estimating the impact of reducing violence against female sex workers on HIV epidemics in Kenya and Ukraine: a policy modeling exercise. *Am J Reprod Immunol* 2013; **69 Suppl 1**: 122–32.
321. Reza-Paul S, Lorway R, O'Brien N, *et al.* Sex worker-led structural interventions in India: a case study on addressing violence in HIV prevention through the Ashodaya Samithi collective in Mysore. *Indian J Med Res* 2012; **135**: 98–106.
322. Anon. 9789242503937_fre.pdf. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/112764/9789242503937_fre.pdf?sequence=1. Accessed August 17, 2018.
323. Anon. OMS | Réseau de laboratoires. WHO. Available at: <http://www.who.int/hiv/topics/drugresistance/laboratory/fr/#map>. Accessed August 23, 2018.
324. Boyle DS, Lehman DA, Lillis L, *et al.* Rapid Detection of HIV-1 Proviral DNA for Early Infant Diagnosis Using Recombinase Polymerase Amplification. *mBio* 2013; **4**. Available at: <http://mbio.asm.org/cgi/doi/10.1128/mBio.00135-13>. Accessed August 30, 2018.
325. Haleyur Giri Setty MK, Hewlett IK. Point of Care Technologies for HIV. *AIDS Research and Treatment* 2014; **2014**: 1–20.
326. Ndlovu Z, Fajardo E, Mbofana E, *et al.* Multidisease testing for HIV and TB using the GeneXpert platform: A feasibility study in rural Zimbabwe Yotebieng M, ed. *PLOS ONE* 2018; **13**: e0193577.
327. Meggi B, Vojnov L, Mabunda N, *et al.* Performance of point-of-care birth HIV testing in primary health care clinics: An observational cohort study Hsiao N, ed. *PLOS ONE* 2018; **13**: e0198344.
328. Scott L, Gous N, Carmona S, Stevens W. Laboratory evaluation of the Liat HIV Quant (IQuum) whole-blood and plasma HIV-1 viral load assays for point-of-care testing in South Africa. *J Clin Microbiol* 2015; **53**: 1616–21.
329. Albert H, Nathavitharana RR, Isaacs C, Pai M, Denkinger CM, Boehme CC. Development, roll-out and impact of Xpert MTB/RIF for tuberculosis: what lessons have we learnt and how can we do better? *Eur Respir J* 2016; **48**: 516–25.
330. Zida S. Développement d'approches PCR et implémentation pour l'amélioration de l'accès au diagnostic moléculaire des maladies infectieuses dans les pays à ressources limitées. : 116.
331. Anon. L'ONUSIDA révèle que près de 21 millions de personnes séropositives sont désormais sous traitement. Available at: http://www.unaids.org/fr/resources/presscentre/pressreleaseandstatementarchive/2017/november/20171121_righttohealth_report. Accessed September 9, 2018.
332. Shepard RN, Schock J, Robertson K, *et al.* Quantitation of human immunodeficiency virus type 1 RNA in different biological compartments. *J Clin Microbiol* 2000; **38**: 1414–8.

333. Bourlet T, Cazorla C, Berthelot P, *et al.* Compartmentalization of HIV-1 according to antiretroviral therapy: viral loads are correlated in blood and semen but poorly in blood and saliva. *AIDS* 2001; **15**: 284–5.
334. Tachet A, Dulioust E, Salmon D, *et al.* Detection and quantification of HIV-1 in semen: identification of a subpopulation of men at high potential risk of viral sexual transmission. *AIDS* 1999; **13**: 823–31.
335. Ball JK, Curran R, Irving WL, Dearden AA. HIV-1 in semen: determination of proviral and viral titres compared to blood, and quantification of semen leukocyte populations. *J Med Virol* 1999; **59**: 356–63.
336. Chan DJ, Ray JE. Quantification of antiretroviral drugs for HIV-1 in the male genital tract: current data, limitations and implications for laboratory analysis. *J Pharm Pharmacol* 2007; **59**: 1451–62.
337. Eron JJ, Vernazza PL, Johnston DM, *et al.* Resistance of HIV-1 to antiretroviral agents in blood and seminal plasma: implications for transmission. *AIDS* 1998; **12**: F181-189.
338. Barau C, Delaugerre C, Braun J, *et al.* High concentration of raltegravir in semen of HIV-infected men: results from a substudy of the EASIER-ANRS 138 trial. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; **54**: 937–9.
339. Del Romero J, Castilla J, Hernando V, Rodriguez C, Garcia S. Combined antiretroviral treatment and heterosexual transmission of HIV-1: cross sectional and prospective cohort study. *BMJ* 2010; **340**: c2205–c2205.
340. Halfon P, Giorgetti C, Khiri H, *et al.* Semen may harbor HIV despite effective HAART: another piece in the puzzle. *PLoS ONE* 2010; **5**: e10569.
341. Zhang M, Foley B, Schultz A-K, *et al.* The role of recombination in the emergence of a complex and dynamic HIV epidemic. *Retrovirology* 2010; **7**: 25.
342. Vergne L, Stuyver L, Van Houtte M, Butel C, Delaporte E, Peeters M. Natural polymorphism in protease and reverse transcriptase genes and in vitro antiretroviral drug susceptibilities of non-B HIV-1 strains from treatment-naïve patients. *Journal of Clinical Virology* 2006; **36**: 43–9.
343. Sungkanuparph S, Manosuthi W, Kiertiburanakul S, Saekang N, Pairoj W, Chantratita W. Prevalence and risk factors for developing K65R mutations among HIV-1 infected patients who fail an initial regimen of fixed-dose combination of stavudine, lamivudine, and nevirapine. *Journal of Clinical Virology* 2008; **41**: 310–3.
344. Anon. Principaux repères sur le VIH/sida. Available at: <http://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/hiv-aids>. Accessed August 9, 2018.
345. Manasa J, Katzenstein D, Cassol S, Newell M-L, de Oliveira, for the Southern Africa T. Primary Drug Resistance in South Africa: Data from 10 Years of Surveys. *AIDS Research and Human Retroviruses* 2012; **28**: 558–65.
346. Afonso JM, Bello G, Guimarães ML, Sojka M, Morgado MG. HIV-1 genetic diversity and transmitted drug resistance mutations among patients from the North, Central and South regions of Angola. *PLoS ONE* 2012; **7**: e42996.
347. Nii-Trebi NI, Ibe S, Barnor JS, *et al.* HIV-1 drug-resistance surveillance among treatment-experienced and -naïve patients after the implementation of antiretroviral therapy in Ghana. *PLoS ONE* 2013; **8**: e71972.
348. Kantor R, DeLong A, Balamane M, *et al.* HIV diversity and drug resistance from plasma and non-plasma analytes in a large treatment programme in western Kenya. *J Int AIDS Soc* 2014; **17**: 19262.
349. Rusine J, Jurriaans S, van de Wijgert J, *et al.* Molecular and phylogeographic analysis of human immunodeficiency virus type 1 strains infecting treatment-naïve patients from Kigali, Rwanda. *PLoS ONE* 2012; **7**: e42557.
350. Imade GE, Sagay AS, Chaplin B, *et al.* Short Communication: Transmitted HIV Drug

- Resistance in Antiretroviral-Naive Pregnant Women in North Central Nigeria. *AIDS Research and Human Retroviruses* 2014; **30**: 127–33.
351. Landier J, Akonde A, Pizzocolo C, *et al.* Switch to second-line ART in West African routine care: incidence and reasons for switching. *AIDS Care* 2011; **23**: 75–8.
352. Granich R, Gupta S, Hersh B, *et al.* Trends in AIDS Deaths, New Infections and ART Coverage in the Top 30 Countries with the Highest AIDS Mortality Burden; 1990-2013. *PLoS ONE* 2015; **10**: e0131353.
353. Koyalta D, Charpentier C, Beassamda J, *et al.* High Frequency of Antiretroviral Drug Resistance among HIV-Infected Adults Receiving First-Line Highly Active Antiretroviral Therapy in N'Djamena, Chad. *Clinical Infectious Diseases* 2009; **49**: 155–9.
354. Adawaye C, Fokam J, Kamangu E, *et al.* Virological response, HIV-1 drug resistance mutations and genetic diversity among patients on first-line antiretroviral therapy in N'Djamena, Chad: findings from a cross-sectional study. *BMC Research Notes* 2017; **10**. Available at: <https://bmcrsnotes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s13104-017-2893-1>. Accessed September 9, 2018.
355. Taieb F, Tram TH, Ho HT, *et al.* Evaluation of Two Techniques for Viral Load Monitoring Using Dried Blood Spot in Routine Practice in Vietnam (French National Agency for AIDS and Hepatitis Research 12338). *Open Forum Infect Dis* 2016; **3**: ofw142.
356. Aghokeng AF, Vergne L, Mpoudi-Ngole E, *et al.* Evaluation of transmitted HIV drug resistance among recently-infected antenatal clinic attendees in four Central African countries. *Antivir Ther (Lond)* 2009; **14**: 401–11.
357. King CC, Ellington SR, Davis NL, *et al.* Prevalence, Magnitude, and Correlates of HIV-1 Genital Shedding in Women on Antiretroviral Therapy. *The Journal of Infectious Diseases* 2017; **216**: 1534–40.
358. Keita A, Sereme Y, Pillet S, *et al.* Impact of HIV-1 primary drug resistance on the efficacy of a first-line antiretroviral regimen in the blood of newly diagnosed individuals in Bamako, Mali. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 2018. Available at: <https://academic.oup.com/jac/advance-article/doi/10.1093/jac/dky382/5115408>. Accessed October 19, 2018.
359. Andréoletti L, Grésenguet G, Chomont N, *et al.* Comparison of washing and swabbing procedures for collecting genital fluids to assess shedding of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) RNA in asymptomatic HIV-1-infected women. *J Clin Microbiol* 2003; **41**: 449–52.
360. Yan M, Pamp SJ, Fukuyama J, *et al.* Nasal Microenvironments and Interspecific Interactions Influence Nasal Microbiota Complexity and *S. aureus* Carriage. *Cell Host & Microbe* 2013; **14**: 631–40.
361. González O, Ebersole J, Huang C. Oral infectious diseases: a potential risk factor for HIV virus recrudescence? *Oral Diseases* 2009; **15**: 313–27.
362. Grignolo S, Bruzzone B, Gabbi L, *et al.* Vaginal HIV-1 shedding among HIV-1 infected women in the current era of combined antiretroviral therapy: A cross sectional study. *Virulence* 2017; **8**: 101–8.
363. Fourati S, Malet I, Lambert S, *et al.* E138K and M184I mutations in HIV-1 reverse transcriptase coemerge as a result of APOBEC3 editing in the absence of drug exposure. *AIDS* 2012; **26**: 1619–24.
364. Xu H-T, Asahchop EL, Oliveira M, *et al.* Compensation by the E138K mutation in HIV-1 reverse transcriptase for deficits in viral replication capacity and enzyme processivity associated with the M184I/V mutations. *J Virol* 2011; **85**: 11300–8.
365. Katzenstein TL, Petersen AB, Storgaard M, *et al.* Phylogeny and resistance profiles of HIV-1 POL sequences from rectal biopsies and blood. *Journal of Medical Virology* 2010; **82**: 1103–9.

366. Monno L, Punzi G, Scarabaggio T, *et al.* Mutational patterns of paired blood and rectal biopsies in HIV-infected patients on HAART. *J Med Virol* 2003; **70**: 1–9.
367. Guillaume C, N’Guyen Y, Brodard V, Bani-Sadr F, Jaussaud R, Andreoletti L. African ethnicity can influence immunological responses to highly active antiretroviral therapy and immunological success at 48 months: a retrospective pilot study. *International Journal of Infectious Diseases* 2013; **17**: e1259–62.
368. Rosin C, Elzi L, Thurnheer C, *et al.* Gender inequalities in the response to combination antiretroviral therapy over time: the Swiss HIV Cohort Study: HIV/AIDS and women. *HIV Medicine* 2015; **16**: 319–25.
369. Puskas CM, Forrest JI, Parashar S, *et al.* Women and Vulnerability to HAART Non-Adherence: A Literature Review of Treatment Adherence by Gender from 2000 to 2011. *Current HIV/AIDS Reports* 2011; **8**: 277–87.
370. Essomba EN, Adiogo D, Kedy DC, Amang B, Lehman LG, Coppieters Y. Facteurs associés à la non observance thérapeutique des sujets adultes infectés par le VIH sous antirétroviraux dans un hôpital de référence à Douala. *Pan African Medical Journal* 2015; **20**. Available at: <http://www.panafrican-med-journal.com/content/article/20/412/full/>. Accessed September 14, 2018.
371. Djarma O, Nguyen Y, Renois F, Djimassal A, Banisadr F, Andreoletti L. Continuous free access to HAART could be one of the potential factors impacting on loss to follow-up in HAART-eligible patients living in a resource-limited setting: N’djamena, Chad. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene* 2014; **108**: 735–8.
372. Zida S, Tuailon E, Barro M, *et al.* Estimation of HIV-1 DNA Level Interfering with Reliability of HIV-1 RNA Quantification Performed on Dried Blood Spots Collected from Successfully Treated Patients Caliendo AM, ed. *Journal of Clinical Microbiology* 2016; **54**: 1641–3.
373. Messou E, Chaix M-L, Gabillard D, *et al.* Increasing Rate of TAMs and Etravirine Resistance in HIV-1–Infected Adults Between 12 and 24 Months of Treatment: The VOLTART Cohort Study in Côte d’Ivoire, West Africa. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2013; **64**: 211–9.
374. Stadeli KM, Richman DD. Rates of emergence of HIV drug resistance in resource-limited settings: a systematic review. *Antiviral Therapy* 2012; **18**: 115–23.
375. Martinez-Cajas JL, Pai NP, Klein MB, Wainberg MA. Differences in resistance mutations among HIV-1 non-subtype B infections: a systematic review of evidence (1996–2008). *Journal of the International AIDS Society* 2009; **12**: 11.
376. Wainberg MA. HIV-1 subtype distribution and the problem of drug resistance. *AIDS* 2004; **18 Suppl 3**: S63-68.
377. Andreoletti L, Skrabal K, Perrin V, *et al.* Genetic and phenotypic features of blood and genital viral populations of clinically asymptomatic and antiretroviral-treatment-naïve clade A human immunodeficiency virus type 1-infected women. *J Clin Microbiol* 2007; **45**: 1838–42.

Annexes

Soutenance de Thèse

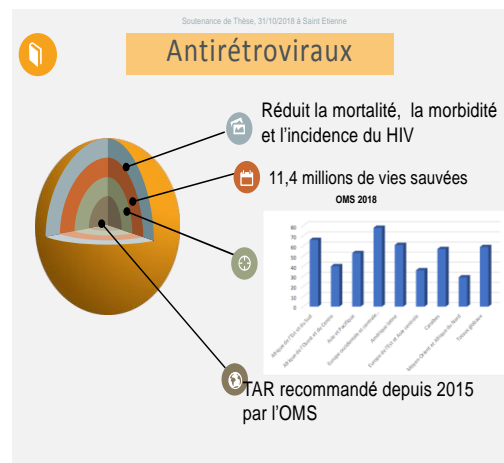
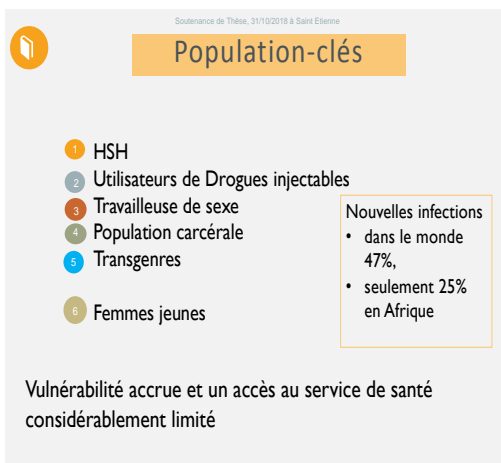
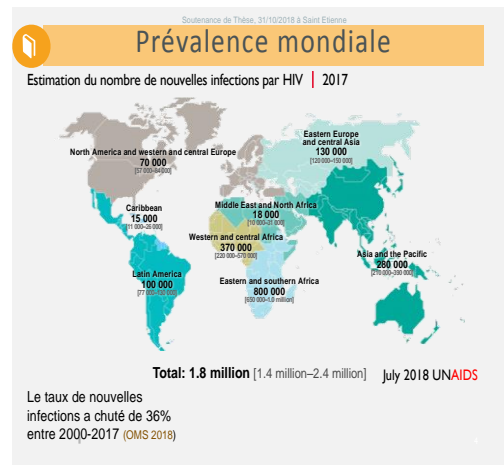
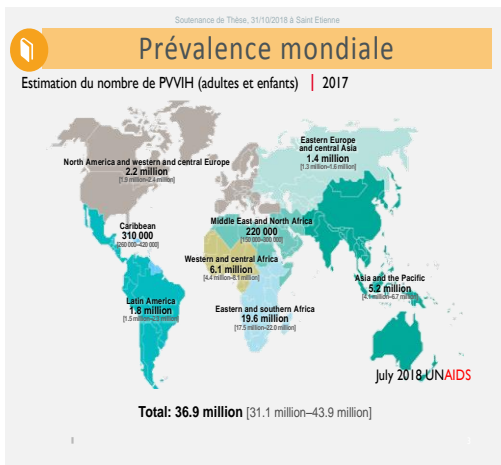
Prise en charge de l'infection par HIV-1
dans les pays en développement :
aspects diagnostiques et évaluation
immuno-virologique de l'efficacité
thérapeutique dans le sang et les
compartiments muqueux

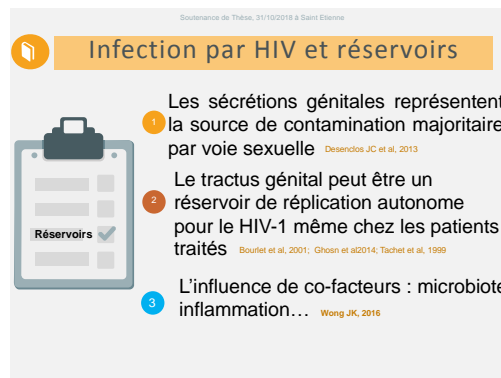
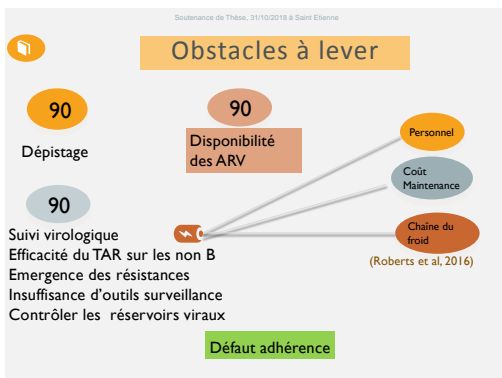
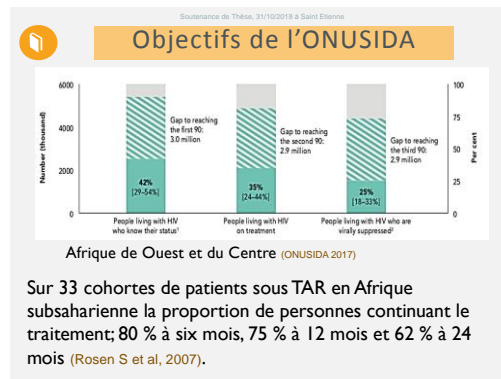
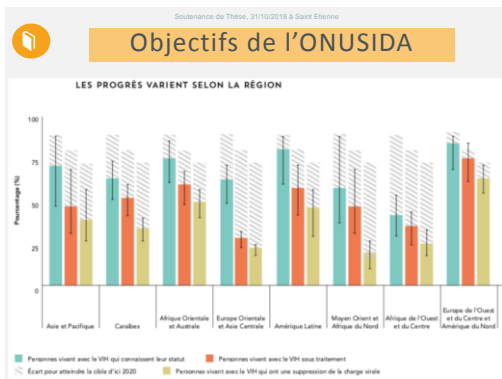
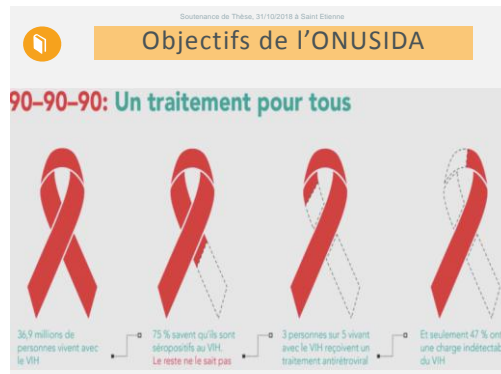
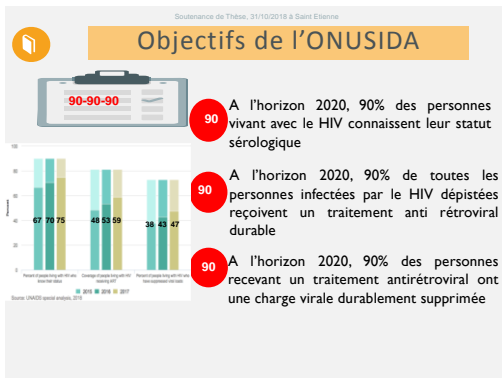
Saint Etienne, le 31 octobre 2018

Abdelaye KEITA

Plan de présentation

-  Introduction
-  Objectifs
-  Patients et Méthodes
-  Résultats
-  Discussion
-  Conclusions





Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Approches de lutte contre le HIV

EVALUATION DES TENDANCES
Indicateurs : rétention, suppression de la CV
Surveillance régulière
OMS 2018

ATTEINTE DES POPULATION-CLES
Former, informer et sensibiliser les différentes populations clés et les soignants
Proposer des réponses à la violence à base communautaire
Utiliser des pairs éducateurs
Roca-Pail et al, 2012

DONNEES DE LA CASCADE
Disponibles pour la population générale et les populations clés
Exportation des modèles performants
Wijayanti et al, 2016

TROD, DBS à tous les niveaux du système de santé
Auto test communautaire
OMS 2015; Dhalin et al, 2017

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Mutations de résistance aux ARV

RESISTANCE
La résistance constitue une préoccupation majeure lors de la prise en charge thérapeutique de l'infection à HIV avec des ARV à barrière génétique faible
Perronec et al, 2013
Les mutations associées à la résistance semblent les mêmes entre les sous-types B et non B
Sylla et al, 2008

POLYMORPHISME
Les mutations K20I et M36I pourraient augmenter la capacité réplcatrice
Hogquin et al, 2006

L'impact sur l'efficacité thérapeutique des mutations du gène pol au niveau des souches non-B n'est pas complètement élucidé
Wernberg et al, 2004 et Martinez et al, 2009

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Mutations de résistance aux ARV

Evaluation et surveillance régulières de la résistance du HIV aux ARV par l'OMS

Legend:
Completed and results reported
Completed
Ongoing
Planned
Not applicable

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Mutations de résistance aux ARV

WHO pre-treatment HIV drug resistance in 11 countries reporting national survey data to WHO, 2014-2016

Résistance aux INNTI en Afrique de l'Est (29%, IC à 95%, 17-42) et en Asie (11%, IC à 95%, 2-20). OMS 2017

Au Mali, TDRM de 9,9 % Maïga, et al 2010

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Suivi de la résistance

- 1 La surveillance virologique (CV et génotype) n'a pas suivi la décentralisation de la prise en charge du HIV
- 2 Les tests de résistance sont peu disponibles dans les pays à ressources limitées comme le Mali
- 3 Peu d'études sur la résistance dans les réservoirs muqueux de patients infectés par des sous-types non B

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Prise en charge du HIV au Mali

Prévalence du VIH selon la région

Prévalence Nationale: 1,1%

FEMMES: Mali 1,3 %

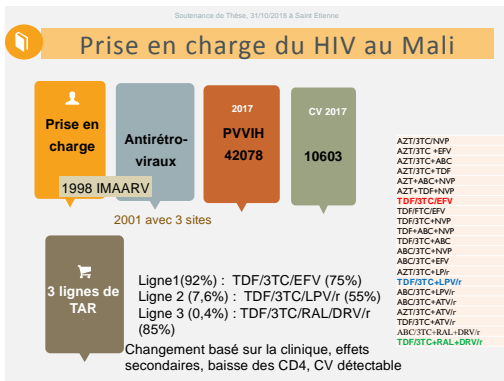
HOMMES: Mali 0,8 %

Regions: Tombouctou, Kidal, Gao, Koulikoro (1,5%), Kayer (1,3%), Ségou (1,4%), Mopti (0,8%), Bamako (1,7%), Sikasso (1,2%)

EDSM 2012-2013

3. Hôpitaux CHU IR
2-CSREF, Privé - Associatif
1-CSCOM/CCDV

1-TROD
2-Confirmation, soins et DBS; CD4
3- Elisa, WB, PCR



Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

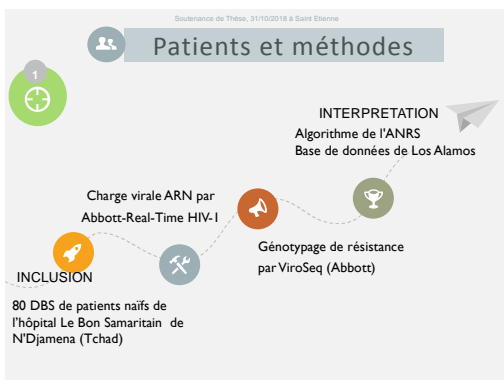
Objectifs

- Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne
- ## Objectifs
- 1 Evaluer l'utilisation du **DBS** pour la mesure de la charge virale sanguine et le génotype de résistance
 - 2 Evaluer l'**efficacité** de la **prise en charge thérapeutique** pendant un an chez des personnes nouvellement dépistées HIV-1 positif
 - 3 Evaluer l'impact du traitement antirétroviral sur HIV-1 dans les **réservoirs** muqueux

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

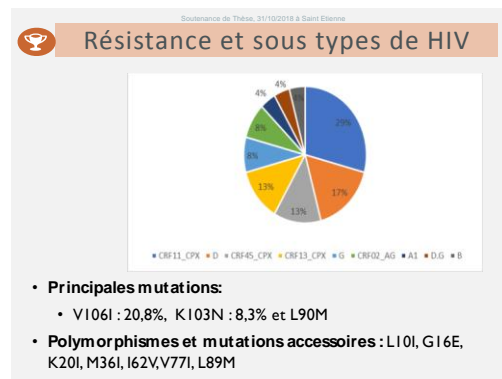
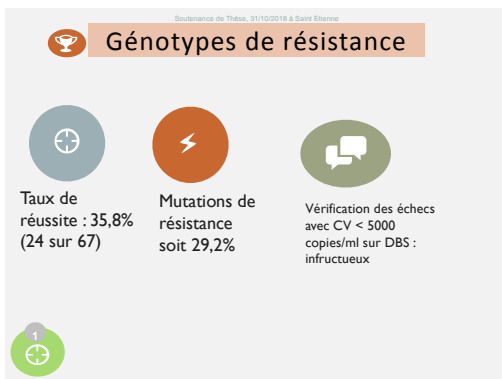
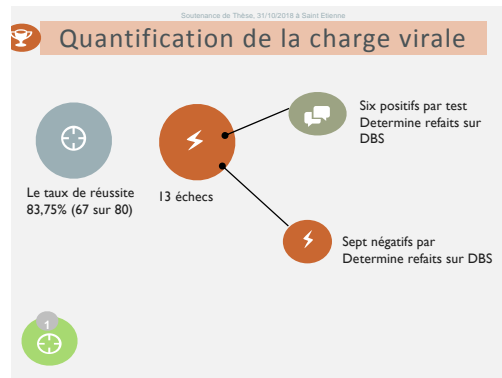
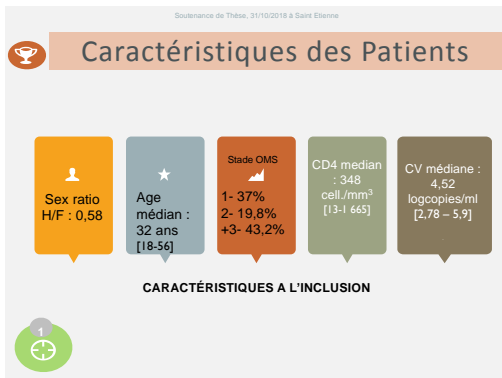
Objectif 1

Evaluer l'utilisation du **DBS** pour la mesure de la charge virale sanguine et le génotype de résistance



Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

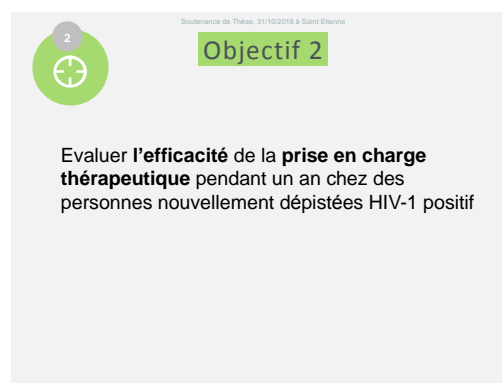
Résultats

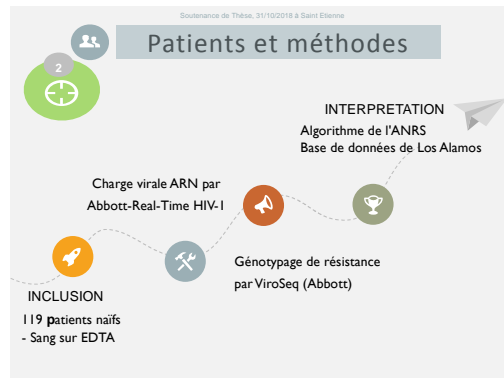
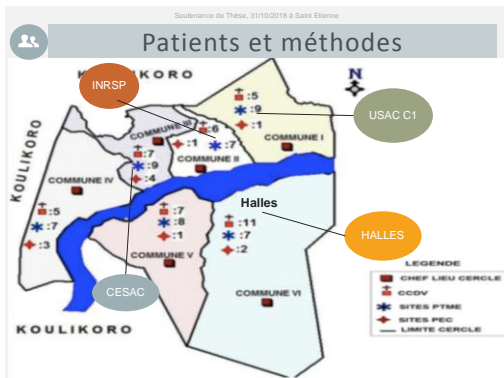


Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

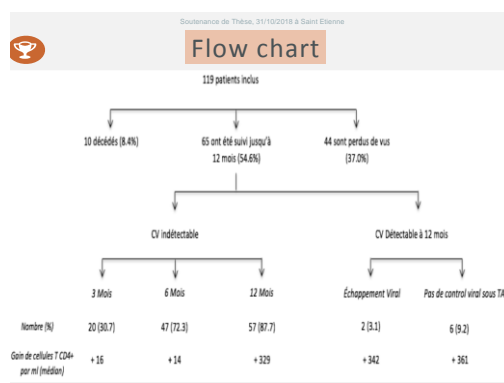
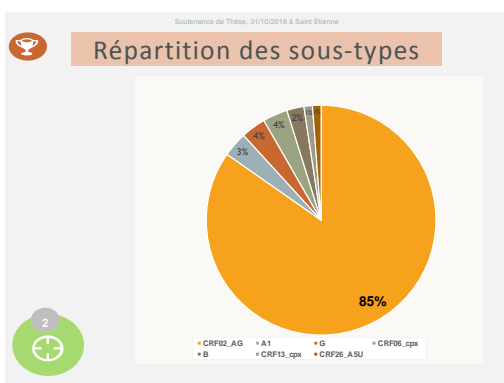
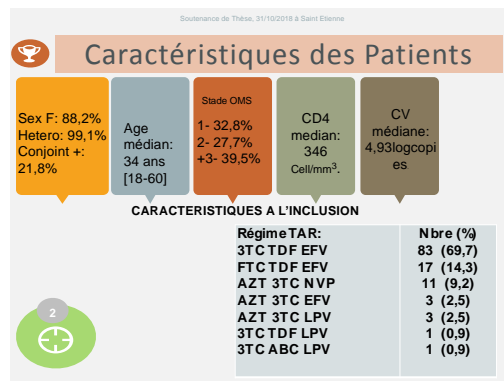
Les différents profils de résistance

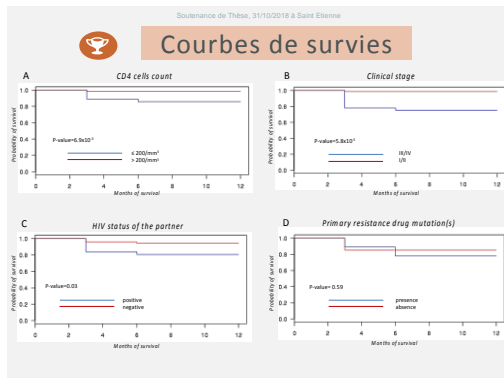
ID	Sous type	CD4 cells/mm ³	Sexe	Age	Charge virale (Log/ml)	Mutations observées		Résistance	
						Gène de la Protéase	Gène de la RT	Complete	Possibilité
10	B	422	M	35	4,44		K103E		TDF
16	CRF45_CPX	280	F	25	4,28	K20I	M36I L89M	V179D	RPV
18	A1	164	F	43	4,37	L10I	M36I L89M L90M		SOV IDV ATV
31	CRF11_CPX	267	F	23	5,26	L10I	M36I V77I L89M		
33	D	198	M	37	3,63	K20R	M36I	V106I	
42	D	64	M	38	5,36	K20I	M36I V77I L89M	V106I	
46	CRF45_CPX	224	F	33	4,73	L10I	K20I M36I L89M		SOV
51	CRF13_CPX	92	M	40	4,99	K20I	M36I L89M	V106I	
56	D	1049	M	53	4,97	M36I	I82V	V106I	
60	D	22	M	30	5,79	K20R	M36I	V106I	
63	D.G	45	M	45	5,7	K20I	M36I I82V L89M		SOV
70	CRF02_AG	63	F	32	5,56	K20I	M36I L89M	K103N	
79	CRF11_CPX	247	F	39	5,95	I82V	V77I	K103N	





Résultats





Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Taux de résistance primaire : 15,9%

A l'initiation du TAR

Patient ID	Genre	Age (ans)	Régime TAR	Stade Clinic	PDRM	Profil de Résistance au ARV
013	F	36	TDF FTC EFV	3	V106I V179I /	ETR ⁺
019	F	46	TDF FTC EFV	3	E138A	ETR ⁺
027	F	27	TDF FTC EFV	3	K103N	EFV NVP
038	F	24	3TC TDF EFV	2	K103N	EFV NVP
043	F	37	TDF FTC EFV	2	M184V T215Y K103E Y181C	ZDV 3TC FTC EFV NVP ETR RPV
046	F	33	TDF FTC EFV	3	K103N	EFV NVP
087	F	38	3TC TDF EFV	1	E138A	RPV ETR ⁺
098	M	42	3TC TDF EFV	3	E138A	RPV ETR ⁺
103	M	34	TDF FTC EFV	3	M184V Y181C	3TC FTC EFV NVP
104	M	54	3TC TDF LPV	3	V179T	ETR ⁺
115	F	39	3TC TDF EFV	1	K103N	EFV NVP

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Devenir des patients résistants après 12 mois

Patient ID	A l'initiation du TAR			Après 12 mois de TAR		
	Régime TAR	PDRM	Taux CD4 (cell/mm ³)	CV-ARN du HIV-1 (log ₁₀ copies/mL)	Taux CD4 (cell/mm ³)	CV-ARN HIV-1 (log ₁₀ copies/mL) blood
013	TDF FTC EFV	V106I V179I /	4	5.78	429	<1.6
019	TDF FTC EFV	E138A	53	6.21		DCD à M6
027	TDF FTC EFV	K103N	452	4.90	802	<1.6
038	3TC TDF EFV	K103N	74	3.75	57	β.36
043	TDF FTC EFV	M184V T215Y K103E Y181C	348	4.64		DCD à M3
046	TDF FTC EFV	K103N	113	5.48	124	<1.6
087	3TC TDF EFV	E138A	819	4.79	1305	<1.6
098	3TC TDF EFV	E138A	7	5.24	342	<1.6
103	TDF FTC EFV	M184V Y181C	178	4.60		Perdu de vue
104	3TC TDF LPV	V179T	7	5.29	376	4.41
115	3TC TDF EFV	K103N	189	5.56	884	<1.6

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Taux de résistance acquise : 3,1%

Patient ID	A l'initiation du traitement ARV		Charge virale ARN HIV-1 (log ₁₀ copies/mL)			Test de Génotypage				
	Sexe	Âge (an)	Régime TAR	Gain: CD4+ sé. Avant TAR	Durée du TAR (mois): Trois, Six, Douze		Mutation avant TAR/ et à 12 mois	Profil de résistance à 12 mois		
<i>Paix de control viral</i>										
011	F	29	3TC TDF EFV	-823	5.70	3.88	2.22	3.92	Non/non	Sauvage
015	F	34	3TC TDF EFV	-427	3.98	3.81	1.85	4.38	Non/K55E	TDF
038	F	24	3TC TDF EFV	183	6.14	3.75	1.85	5.36	K103N/K103N	EFV NVP
060	F	38	3TC TDF EFV	26	4.35	2.80	1.90	3.91	Non/non	Sauvage
117	M	26	3TC TDF EFV	363	5.14	3.98	3.82	3.82	Non/non	Sauvage
118	M	25	3TC TDF EFV	804	5.60	2.42	ND	1.88	Non/NA	Inconnu
<i>Rabond viral</i>										
002	F	37	3TC ABC LPV	72	4.69	2.47	1.6	2.60	Non/L74V	ABC
003	F	52	3TC TDF EFV	350	5.21	2.31	1.6	2.07	Non/NA	Inconnu

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

J Antimicrob Chemother
doi:10.1093/jac/dky382

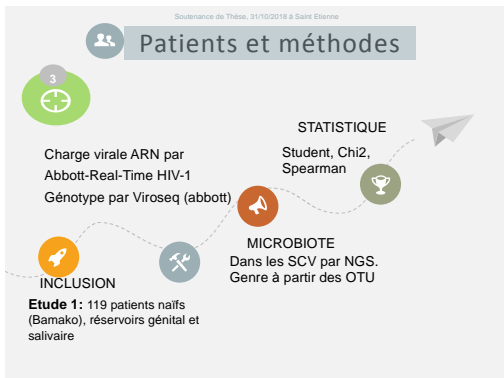
Impact of HIV-1 primary drug resistance on the efficacy of a first-line antiretroviral regimen in the blood of newly diagnosed individuals in Bamako, Mali

Abdelaye Keita^{1,2}, Youssouf Sereme², Sylvie Pillet^{1,3}, Souleymane Coulibaly¹, Fodji Diallo⁴, Bruno Pozzetto^{2,3}, Tenin Aoua Thiero¹ and Thomas Bourlet^{2,3}

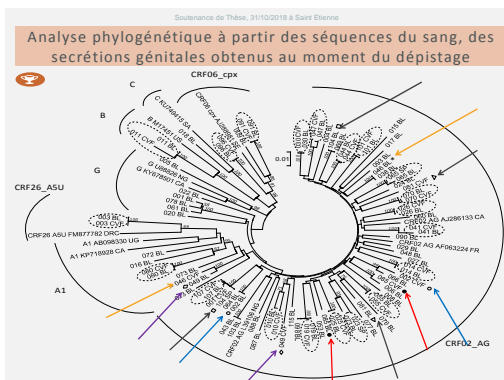
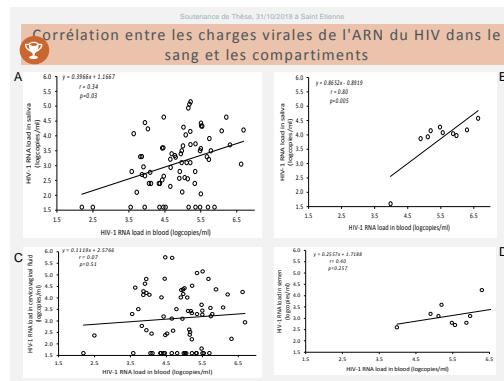
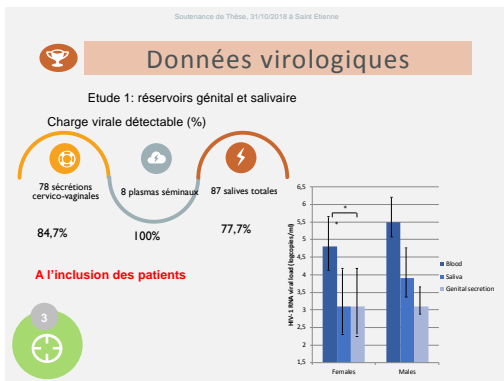
Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Objectif 3

Evaluer l'impact du traitement antirétroviral sur HIV-1 dans les réservoirs muqueux



Résultats



FEMME

Etude 1: réservoirs génital et salivaire

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

FEMMES


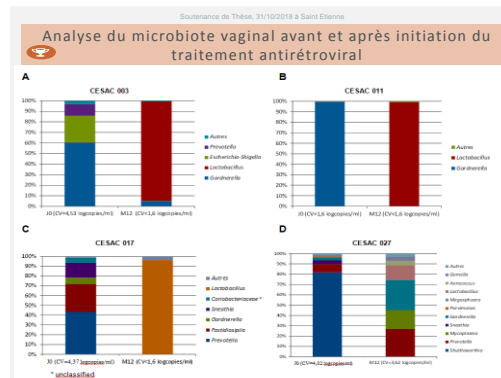
Mutation de résistance primaire 4/27 soit 14,8%

Concordance entre sang et SCV : 23

- 22 sans mutation
- Une E138A

Discordance entre sang et SCV : 4

- 2 positifs dans le sang et négatifs dans les SCV : K103N et V179T
- 2 positifs dans les SCV et négatifs dans le sang : L74V et D67N


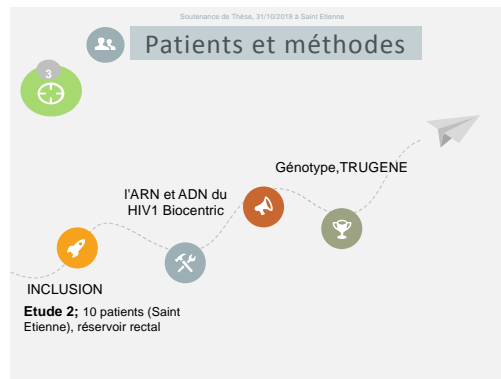



Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

HOMME

Etude 2 :

Comparer les profils de résistance entre la souche présente dans le sang au moment de la découverte de la séropositivité et celle archivée sous formes d'ADN dans le rectum et le PBMC après 1 à 5 ans de traitement.

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Résultats

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

HOMME

Une grande similarité génétique a été observée entre les souches archivées dans l'ADN des biopsies rectales et des PBMC celles issues du plasma prélevé lors de la prise en charge initiale.



Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Homologie entre les Souches des compartiments

ID Patient	CV ARN Plas		CV indétectable Après TAR en mois	CV ADN Biopsie		CV ADN P BMC	RT/PR Homologie %	Bouée V3 Homologie %
	Logcopie/ml	Sous types		Logcopie/ml	Logcopie/ml			
1	3,91	B	6	4,08	3,23		98,5	80
2	3,45	B	3	3,06	2,41		99	76
3	5,77	B	2	4,43	4,21		96	71
4	4,01	B	3	3,73	3,04		96,5	80
5	5,52	B	3	4,59	3,4		97	ND
6	6,29	CRFO2_AG	15	3,5	3,61		97	ND
7	6,35	B	4	3,78	2,44		98,5	ND
8	5,43	B	5	3,4	2,93		96,5	78,5
9	5,23	B	4	3,42	3,26		99,5	75,5
10	5,13	B	4	4	3,21		96	79

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

HOMME

RESISTANCE

Nous n'avons pas trouvé dans l'ADN des biopsies ou des P BMC de mutations liées aux molécules utilisées dans les schémas de trithérapie, en particuliers celles qui auraient pu être générées/archivées au cours de la phase de décroissance de la virémie.

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Résistance et mutations

ID	Sang	Biopsie rectale	P BMC
1	Protease: K20M M36I D60E I62V L63P H69K RT: V196I V179I	Protease: K20M M36I D60E I62V L63P H69K RT: V196I V179I	Protease: K20M M36I D60E I62V L63P RT: V196I V179I
2	Protease: none RT: D67N T69D L210W T215D	Protease: I62V RT: D67N T69D L210W T215D	Protease: I62V RT: D67N T69D T215D
3	Protease: I15V RT: D67N T69D L210W T215A K101E	Protease: I15V RT: D67N T69D L210W T215A K101E	Protease: I15V RT: D67N T69D T215A K101E
4	Protease: L63P RT: none	Protease: L63P RT: none	Protease: L63P RT: none
5	Protease: I62V L63P RT: none	Protease: I62V L63P A71V RT: none	Protease: I62V L63P RT: none
6	Protease: L10I K20I H69K L89M RT: none	Protease: M36I H69K L89M RT: none	Protease: M36I H69K L89M RT: none
7	Protease: L63P I64V_RT: K103N	Protease: L63P I64V_RT: K103N	ND
8	Protease: I62V RT: none	Protease: I62V RT: none	Protease: I62V Q58E A71T RT: none
9	Protease: M36I I64V RT: D67N T69D L210W T215W	Protease: I64V RT: D67N T69D L210W T215D	Protease: I64V RT: D67N T69D L210W
10	Protease: L33V, L63P, I64V RT: none	Protease: L33V, L63P, I64V RT: L210W	Protease: L33V, L63P, I64V RT: L210W M230I

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Publication d'article

Intervirology

Short Communication

Intervirology 2019;39(256-261)
DOI: 10.1159/000472716

Received: January 3, 2017
Accepted: March 20, 2017
Published online: April 13, 2017

The Genotyping Resistance Profile of the Pol Gene Detected in Blood of Newly Diagnosed HIV-Positive Men Is Durably Archived in the Gut Whatever the Time of Initiation of cART

Anne Emmanuelle Depincé^{a,b} Elodie Dusserre^a Delphine Vergnon-Miszczcha^a Abdelaye Keita^{a,f} Sylvie Fillet^{a,c} Elisabeth Botelho-Nevers^{a,d} Anne Frésard^d Amandine Gagneux-Brunon^{a,d} Frédéric R. Lucht^{a,d} Xavier Friblin^{a,g} Bruno Pozzetto^{a,c} Stéphane Paul^{a,b} Thomas Bourlet^{a,c}

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Discussion

01 Taux de réussite des tests de CV et de génotypage sur DBS 83,75% CV 35,8% génotype

Causes d'échec des charges virales :

- Mauvaise conservation
- Destruction ou fragmenté l'ARN voire des anticorps
- Erreur de diagnostic

Le séquençage a réussi pour les CV ≥ 5000 copies/ml

Causes d'échec des génotypes :

- Taille du fragment 55%
- Mauvaise conservation
- Délai entre CV et génotype (6 mois)
- Faible volume d'échantillonnage
- Qualité des spots (<50µl)

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Discussion

02 Rétention À 12 mois Faible adhérence 54,6%

KwaZulu-Natal : 75% à 82% Ekouevi et al, 2010; Huerga et al, 2018

Un diagnostic tardif du HIV peut expliquer une adhérence aussi faible, comme cela a déjà été décrit Melchior et al, 1999

De nombreuses raisons expliquent le retard du dépistage du HIV : une perception erronée du risque d'infection, des craintes de stigmatisation ou un manque de connaissance des avantages d'un traitement antirétroviral réussi Geretti et al, 2017

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

02

Discussion

54,6%

Rétention
À 12 mois

Faible adhérence

Tous les perdus de vue, n'abandonnent pas forcément le traitement (Geng et al. 2010), avec 39% PDV (Ouganda) en trois ans : 36% étaient décédés dans l'année
83% avaient visité un établissement de santé différent au cours des trois mois précédents

Les PDV étaient exclusivement des travailleuses du sexe. Il a déjà été démontré que les femmes sont plus réticentes à commencer un traitement et adhèrent moins au traitement antirétroviral que les hommes Rosin et al. 2015; Puskas et al. 2011.

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

02

Discussion

54,6%

Rétention
À 12 mois

Faible adhérence

Dans l'ensemble, le faible taux de rétention peut constituer un obstacle majeur au succès des objectifs du plan 90-90-90

Lorsque les patients suivent le programme malgré le taux élevé de résistance primaire, de rupture de stock et de l'absence de test de génotype, la charge virale reste indétectable dans 87,7%

Par conséquent, il est urgent de mieux identifier les causes d'une mauvaise adhésion, de les résoudre et de contrôler régulièrement la cascade de soins du HIV

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

03

Discussion

15,3%

Taux élevé de résistance primaire

Etudes antérieures : 7,9% (2008) Derrache et al, 11,5% (2010) Haidara et al et 9,9% (2013) Maiga et al.

La résistance était plus élevée dans les études les plus récentes dans toutes les régions : Afrique orientale, Afrique australe, Afrique occidentale et centrale, Amérique latine et Asie (OMS 2017)

Augmentation annuelle régulière de la résistance aux INNTI en Afrique de l'Est (OMS 2017)

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

03

Discussion

15,3%

Taux élevé de résistance primaire

Les principales mutations : K103N (12,9%) et M184V (3,5%)

La K103N (associée à d'autres) confère la résistance croisée (E138A, V179I, Y181C) à tous les INNTI dont l'etravirine et rilpivirine, qui ne sont pas encore utilisées au Mali

Il convient de noter que l'une des femmes décédées présentait des mutations multiples (M184V, T215Y, K103E, Y181C) au départ, ce qui confèrait une résistance à deux médicaments sur trois du schéma thérapeutique mis en œuvre

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

03

Discussion

10%

Polymorphisme et mutation

Le polymorphisme (ex : E138K) peut réduire l'éventail d'ARV utilisable

La question d'utilisation de l'EFV se pose dans les schémas thérapeutiques?

L'OMS demande une révision du schéma thérapeutique chaque fois la résistance aux INNTI > 10%

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

03

Discussion

6%

Résistance dans les réservoirs

Une discordance en termes de mutations retrouvées dans le sang et les SCV chez 4 patientes a été observé, ce qui est en faveur de la compartimentation

Une charge virale ARN positive après un an de trithérapie dans 27,8% des SCV

Une étude de cohorte dans 7 pays d'Afrique australe chez des patients suivis entre 12 et 48 mois, seulement 6% de CV détectable dans SCV de 1114 femmes King et al., 2017

Certaines femmes sous ARV présentent donc un risque de transmettre le virus, potentiellement résistant, malgré un TAR efficace au niveau sanguin King et al., 2017

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Discussion

04

Réservoirs : Dysbiose observé dans les SCV

En accord avec les données de la littérature associant dysbiose, inflammation locale et risque d'infection par HIV Eastment et al. 2018.

Après 12 mois de traitement une patiente avait toujours une dysbiose. Ceci peut être dû au fait qu'elle a une charge virale de 4189 copies/ml dans les sécrétions cervico-vaginales, alors qu'elle était indétectable dans le sang

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Arguments apportés par l'étude

Nous apportons des arguments en faveur d'une compartimentation de HIV-1 dans le tractus génital de certaines femmes

- 01 Discordances de valeurs de charges virales entre le sang et les SCV
- 02 Profils différents de séquences de gènes RT et protéase entre les deux compartiments,
- 03 Profils différents en terme de mutations de résistance

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Conclusion

Nos travaux apportent des informations nouvelles sur le déroulement de la prise en charge de l'infection par HIV dans les PED : dépistage, adhérence au programme, utilité des DBS, efficacité du traitement

Nous apportons aussi des données nouvelles sur la prévalence de la résistance primaire qui plaident en faveur de l'utilisation généralisée (centralisée ou non) en routine des tests de charge virale et de génotype de résistance

Nous avons obtenu pour la première fois dans une étude menée en Afrique Subsaharienne des données sur :

L'efficacité de traitement sur les réservoirs muqueux

80%

La compartimentation du virus notamment au niveau génital
Le rôle potentiel du microbiote vaginal sur une excrétion virale persistante

Le problème du risque résiduel de transmission par des personnes sous trithérapie incitant à un dépistage et un traitement des infections génitales dans leur ensemble

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Perspectives

Mise en place d'un suivi régulier d'indicateurs sur la réussite de la cascade de prise en charge

- Taux de précocité du dépistage
- Nombre de tests de charge virale réalisés
- ⬇ Nombre de perdus de vu (coordination de la prise en charge des PVVH)
- Taux de résistance primaire et acquise

Développer et renforcer un réseau de surveillance de la résistance aux ARV dans les pays à ressources limitées.

Soutenance de Thèse, 31/10/2018 à Saint Etienne

Remerciements

Thomas BOURLET
Josselin RIGAILL
Bruno POZZETTO
Sylvie PILLET
Famille DIOP
Famille BOURLET
Haby COULIBALY
Patients

Virologie :
Andrey
Véronique
Julie
Nathalie

Merci pour votre attention

Prise en charge de l'infection par HIV-1 dans les Pays en Développement : aspects diagnostiques et évaluation immuno-virologique de l'efficacité thérapeutique dans le sang et les compartiments muqueux

Résumé

A l'ère de l'objectif cible « 90-90-90 » de l'ONUSIDA de réduction de la pandémie liée à HIV, il est important d'évaluer régulièrement la cascade de prise en charge des personnes vivant avec le virus HIV afin d'en vérifier l'avancement et d'identifier d'éventuels obstacles à sa réalisation. Pour cela nous avons étudié tout d'abord l'efficacité du traitement antirétroviral (TAR) dans le sang de personnes nouvellement dépistées séropositives à Bamako (Mali). Dans un deuxième travail nous avons évalué la faisabilité des tests de charge virale et de résistance génotypique aux antirétroviraux à partir de sang total séché sur un support de type buvard (DBS). La troisième partie de nos travaux était consacrée à des aspects plus physiopathologiques avec l'évaluation du traitement sur les réservoirs salivaires et génitaux (patients de Bamako) et sur le microbiote vaginal, ainsi que l'étude du profil de résistance des souches archivées dans l'ADN cellulaire de biopsies rectales. Nous avons tout d'abord observé un taux important de perdus de vue à un an dans la cohorte de Bamako (environ 45%). Nous avons également constaté un taux élevé de résistance primaire aux ARV à Bamako et au Tchad (>15%) De manière rassurante, le succès virologique au bout de 1 an chez les personnes traitées était d'environ 90% ce qui correspond à l'objectif de l'ONUSIDA (3ème 90) et un faible niveau de mutations acquises a été observé chez ces personnes adhérentes au traitement. Nous avons démontré l'efficacité du TAR sur le compartiment salivaire et constaté une compartimentation du virus au niveau cervico-vaginal chez certaines femmes traitées (27%) présentant une excrétion virale au niveau vaginal avec une charge virale plasmatique indétectable et/ou des séquences génétiques différentes sur le gène *pol* entre le virus isolé dans la muqueuse et celui provenant du sang. De plus, une dysbiose était observée avant la mise sous traitement, avec normalisation de la flore sous TAR efficace. En ce qui concerne le travail sur les biopsies rectales, des profils similaires ont été observés entre la souche plasmatique majoritaire au moment de la mise sous TAR et celle archivée dans le rectum 1 à 5 ans après traitement.

En conclusion, nos travaux apportent des informations nouvelles sur le déroulement des différentes étapes de la prise en charge de l'infection par HIV dans les pays en développement : tout d'abord une faible adhésion au traitement ce qui peut constituer un obstacle majeur à la réalisation du plan 90/90/90 ; une forte prévalence de la résistance primaire qui plaident en faveur de l'accessibilité aux différentes classes d'antirétroviraux et de leur utilisation rationnelle, de l'utilisation généralisée en routine des tests de charge virale et du développement d'un réseau de surveillance de la résistance aux ARV dans les pays à ressources limitées ; des données d'efficacité de traitement sur les réservoirs muqueux mettant en évidence l'existence d'une dysbiose et d'une compartimentation du virus au niveau génital ce qui pose le problème du risque résiduel de transmission chez certaines personnes, même sous ARV.

Mots clés : HIV-1 -Traitement antirétroviral – Compartimentation – Résistance primaire - DBS

Management of HIV-1 infection in developing countries: diagnostic and immuno-virological evaluation of therapeutic efficacy in blood and mucosal compartments

Abstract

Regularly assess to UNAIDS cascade 90-90-90 is important to check the progress and identify any obstacles to its implementation. For this we first studied efficacy of antiretroviral treatment (ART) in the blood of newly diagnosed HIV-positive in Bamako (Mali). In a second work we evaluated the feasibility of viral load and genotypic resistance tests from dried blood spot (DBS). The third part of our work is dedicated to pathophysiological aspects with evaluation of treatment on salivary and genital reservoirs (Bamako patients) and on the vaginal microbiota, as well as the study of the resistance profile of the strains archived in cellular DNA of rectal biopsies. We observed a high rate of lost to follow-up at one year in the Bamako cohort (45%). We also found a high rate of ART primary resistance in Bamako and Chad (> 15%). Reassuringly, the virological success after 1 year of treated follow was about 90% in these adherents. We also demonstrated the efficacy of ART in the salivary compartment and found a compartmentalization of the virus at the cervico-vaginal level in some women under ART. In addition, a dysbiosis was observed before ART, and a normal flora under effective ART. Similar profiles were observed on the main strain isolated in blood at the time of diagnosis and on the archived strain in the rectum after 1 to 5 years of ART.

In conclusion, our work provides new information on the progress of the treatment stages of HIV infection in developing countries: low adherence to treatment which can constitute a major obstacle to achieve the plan 90/90/90; a high prevalence of primary resistance advocating accessibility and rational use of different classes of antiretrovirals drugs, widespread routine use of viral load tests and the development of ARVs resistance surveillance network in resource-limited countries; treatment efficacy data on mucosal reservoirs revealing the existence of genital dysbiosis and viral compartmentalization, which raises the problem of the residual risk of transmission in some people, even under ARVs.

Key words: HIV-1, Antiretroviral treatment, compartmentalization, Primary Resistance, DBS.