



**HAL**  
open science

# Résistance du VIH aux antirétroviraux dans une cohorte de patients suivis selon les recommandations nationales à Abidjan (République de Côte d'Ivoire)

Jean-Jacques Renaud Dechi

► **To cite this version:**

Jean-Jacques Renaud Dechi. Résistance du VIH aux antirétroviraux dans une cohorte de patients suivis selon les recommandations nationales à Abidjan (République de Côte d'Ivoire). Biochimie, Biologie Moléculaire. Université Félix Houphouët Boigny (Côte d'Ivoire), 2019. Français. NNT : 2019UFHBBHT65 . tel-03146881

**HAL Id: tel-03146881**

**<https://theses.hal.science/tel-03146881v1>**

Submitted on 19 Feb 2021

**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.

**REPUBLIQUE DE COTE D'IVOIRE**

*Union-Discipline-Travail*

**MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE FELIX HOUPHOUËT-BOIGNY**

**UFR DES SCIENCES MEDICALES**



**Année Universitaire : 2018 -2019**

**N° 65/19**

# **THESE UNIQUE**

**POUR L'OBTENTION DU TITRE DE :**

**DOCTEUR DE L'UNIVERSITE FELIX HOUPHOUËT- BOIGNY**

**Filière : BIOLOGIE HUMAINE TROPICALE (BHT)**

**Option : Biochimie-Biologie Moléculaire**

## **RESISTANCE DU VIH AUX ANTIRETROVIRAUX DANS UNE COHORTE DE PATIENTS SUIVIS SELON LES RECOMMANDATIONS NATIONALES À ABIDJAN (REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE)**

Présentée et soutenue publiquement le 13/04/2019 par :

**M. DECHI Jean-Jacques Renaud**

### **Composition du Jury**

<b>Président</b>	<b>Monsieur TIAHOU Georges</b>	<b>Professeur Titulaire UFR/SM</b>	<b>UAO</b>
<b>Directeur</b>	<b>Madame CISSE-CAMARA Massara</b>	<b>Maître de Conférences Agrégée UFR/SM</b>	<b>UFHB</b>
<b>Rapporteur</b>	<b>Monsieur LOHOUES Essis Esmel Claude</b>	<b>Maître de Recherche UFR/SM</b>	<b>UFHB</b>
<b>Rapporteur</b>	<b>Monsieur OUASSA Timothée Dieudonné</b>	<b>Maître de Conférences Agrégé UFR/SPB</b>	<b>UFHB</b>
<b>Examineur</b>	<b>Monsieur N'CHO Kamon Jean-Claude</b>	<b>Maître de Conférences Agrégé UFR/OS</b>	<b>UFHB</b>
<b>Examineur</b>	<b>Monsieur TREBISSOU Jonhson Noel David</b>	<b>Maître de Conférences UFR/BIOS</b>	<b>UFHB</b>

## **DEDICACES**

**DEDICACES**

**Ce travail est dédié à :**

*Mon Père BIAKOU DECHI*

*Ma mère N'CHO AKE*

Pour votre amour, la confiance que vous avez placée en moi depuis mon très jeune âge, votre soutien de tout genre et pour vos encouragements.

*DECHI TATIANA et TIENDE JACQUES*

*DECHI GELASE et KONE FELICITE*

Pour votre soutien moral, financier et pour vos encouragements tout au long de ces années.

*N'GUESSAN MICHELLE*

Pour ta patience et tes encouragements tout au long de ces années.

*DECHI JEAN RENAUD KILYANE*

Mon fils, que DIEU t'accorde de grandir dans l'amour, la sagesse, l'intelligence et qu'il te comble de ses grâces.

*À tous mes oncles, tantes, cousins, cousines, neveux et nièces*

Ce travail est aussi le fruit de votre soutien tout au long de ma formation. Ne vous laissez pas surprendre par le temps, sachez que la clé de la réussite passe par la patience, la volonté et le travail.

*À tous ceux qui ont contribué de manière directe ou indirecte à la réalisation de ce travail.*

## **REMERCIEMENTS**

### REMERCIEMENTS

Ce travail a été initié par le laboratoire de Biochimie de l'UFR Sciences Médicales (**UFR - SM**) de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY et réalisé dans le laboratoire de virologie du Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan (**CIRBA**).

**Mes remerciements vont :**

**Au Professeur SESS Daniel**, Directeur Honoraire du DEA-BHT qui m'a accepté parmi les étudiants du DEA-BHT de l'UFR-SM. Que Dieu lui accorde longue vie.

**Au Professeur DOSSO Mireille**, Directeur du Doctorat-BHT qui m'a accepté parmi les étudiants du DOCTORAT-BHT de l'UFR-SM. Que Dieu lui accorde longue vie.

**Au Docteur CISSE-CAMARA Massara**, Maître de Conférences Agrégée de Biochimie à l'UFR-SM et Directrice du DEA-BHT. Que Dieu lui accorde longue vie.

**Au Docteur LOHOUES Essis Esmel Claude**, Maître de Recherche en Biochimie à l'UFR-SM et Coordonnateur du cycle BHT pour mon initiation à la recherche, sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements et son assistance morale. Que DIEU le bénisse.

**Au Docteur CHENAL Henri**, Directeur du CIRBA qui m'a accepté comme stagiaire dans sa structure. Que Dieu lui accorde longue vie.

**Au Docteur KOUAKOU Kouadio**, Médecin Pédiatre, Premier Directeur Général Adjoint du CIRBA pour son aide précieuse au cours des projets réalisés pour cette thèse. Que DIEU le bénisse et le lui rende au centuple.

**Au Docteur TONI Thomas d'Aquin**, Chargé de Recherche en Virologie, Deuxième Directeur Général Adjoint du CIRBA, Responsable du laboratoire de virologie du CIRBA pour avoir accepté l'encadrement scientifique de cette thèse, pour le choix pertinent de ce thème, pour le support économique de cette thèse et pour son encadrement exceptionnel. Que DIEU le bénisse et le lui rende au centuple.

**À Monsieur SAMUEL Essien**, Ex-Directeur exécutif du CIRBA qui m'a accepté comme stagiaire dans la Structure. Que DIEU le bénisse chaque jour de sa vie.

**À Madame EMMA d'Almeida**, Responsable Administrative et Financière du CIRBA pour ses conseils. Que DIEU la bénisse chaque jour de sa vie.

## REMERCIEMENTS

---

À tout le personnel du CIRBA, en particulier le personnel du laboratoire de virologie, Messieurs **BROU Emmanuel, N'GUESSAN Jean François, N'DIN Jean-Louis, AGUIA Ahoua, GOGBE Olivier, ABY Renaud** et Madame **FIENI Flore** pour leurs précieux conseils et leur assistance apportée lors des manipulations. Merci.

Que tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué, d'une manière ou d'une autre, à la réalisation de ce travail et que j'ai manqué de citer trouvent ici mes sincères remerciements pour leurs soutiens.

**À NOS MEMBRES DU JURY**

**À notre Maître et Président de jury**

**Monsieur TIAHOU Georges, Professeur Titulaire de Biochimie à l'UFR des Sciences Médicales de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan.**

Cher Maître, nous sommes très sensibles à l'honneur que vous nous faites en acceptant de présider le jury de cette thèse en dépit de vos nombreuses occupations.

La promptitude avec laquelle vous avez répondu à notre sollicitation démontre l'intérêt que vous accordez à la formation des jeunes. Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude.

**À notre Maître et Directeur de thèse**

**Madame CISSE-CAMARA Massara, Maître de Conférences Agrégée en Biochimie, à l'UFR des Sciences Médicales de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan.**

Cher Maître, vous avez bien voulu accepter de diriger cette thèse et vous nous avez accordé une grande partie de votre temps pour la réalisation de ce travail. Veuillez trouver ici l'expression de notre gratitude.

Nous n'oublierons jamais cher Maître votre investissement total dans notre formation (depuis le DEA). Vous nous avez permis d'acquérir des connaissances solides et une culture approfondie dans les domaines de la biochimie et de la biologie moléculaire. Nous vous remercions enfin Professeur pour votre grand humanisme et votre humilité qui nous ont beaucoup marqués.

**À notre Maître et Rapporteur de Thèse**

**Monsieur LOHOUES Essis Esmel Claude, Maître de Recherche en Biochimie, à l'UFR des Sciences Médicales de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan.**

Cher Maître, merci pour l'honneur que vous nous faites en acceptant d'être rapporteur de cette thèse. Vos observations et suggestions ont été très utiles dans la finalisation de la rédaction de cette thèse. Nous admirons cette rigueur cher Professeur et cher Maître qui nous a permis d'améliorer considérablement notre travail dans le fond et dans la forme.

## REMERCIEMENTS

---

### **À notre Maître et Rapporteur de Thèse**

**Monsieur OUASSA Timothée Dieudonné, Maître de Conférences Agrégé en Bactériologie-Virologie, à l'UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan.**

Soyez assuré de ma reconnaissance cher Professeur et cher Maître pour l'apport inestimable que vous m'avez apporté par vos observations et suggestions. Nous admirons cette rigueur cher Maître qui nous a permis d'améliorer considérablement notre travail dans le fond et dans la forme. Merci infiniment cher Maître d'avoir accepté d'être rapporteur de cette thèse.

### **À notre Maître et Examineur de Thèse**

**Monsieur N'CHO Kamon Jean-Claude, Maître de Conférences Agrégé à l'UFR d'Odonto-Stomatologie de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan.**

Nous vous remercions cher Professeur et cher Maître pour l'honneur que vous nous faites en acceptant d'examiner notre travail. C'est le signe de votre amour pour la recherche, le travail bien fait et la formation des jeunes chercheurs. Nous vous en sommes reconnaissants et veuillez trouver ici cher Maître, l'expression de notre infinie gratitude.

### **À notre Maître et Examineur de Thèse**

**Monsieur TREBISSOU Jonhson Noel David, Maître de Conférences à l'UFR Biosciences de l'Université Félix Houphouët-Boigny d'Abidjan.**

Nous vous remercions cher Professeur et cher Maître d'avoir accepté d'être examinateur de cette thèse. C'est le signe de votre dévouement pour la recherche scientifique et la formation de la future génération. Veuillez trouver ici cher Maître, l'expression de notre profonde reconnaissance.

## **LISTE DES ABREVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES**

**LISTE DES ABREVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES**

<b>3TC</b>	: Lamivudine
<b>ABC</b>	: Abacavir
<b>ADN</b>	: Acide Désoxyribonucléique
<b>ADNc</b>	: ADN complémentaire
<b>ADNdb</b>	: ADN double brin
<b>ANRS</b>	: Agence nationale de recherches sur le sida et les hépatites virales
<b>ARN</b>	: Acide Ribonucléique
<b>ARNm</b>	: ARN messenger
<b>ARV</b>	: AntiRétroViraux
<b>ATP</b>	: Adénosine TriPhosphate
<b>ATV</b>	: Atazanavir
<b>AZT ou ZDV</b>	: Zidovudine
<b>BET</b>	: Bromure d'éthidium
<b>BIC</b>	: Bictegravir
<b>CAB</b>	: Cabotegravir
<b>CCR5</b>	: Récepteur aux chimiokines 5 (C-C motif chemokine receptor 5)
<b>CD4</b>	: Protéine de différenciation 4 (Cluster of Differentiation 4)
<b>CDC</b>	: Centers for Disease Control and Prevention
<b>CIRBA</b>	: Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan
<b>CNER</b>	: Comité National d'Ethique de la Recherche
<b>CNESVS</b>	: Comité National d'Ethique des Sciences de la Vie et de la Santé
<b>CRF</b>	: Circulating Recombinant Form, forme recombinante circulante
<b>CXCR4</b>	: Récepteur aux chimiokines 4 (C-X-C motif chemokine receptor 4)
<b>d4T</b>	: Stavudine
<b>ddI</b>	: Didanosine
<b>ddNTP</b>	: Didésoxyribonucléotide
<b>DLV</b>	: Delavirdine
<b>dNTP</b>	: Désoxyribonucléotides triphosphates
<b>DRV</b>	: Darunavir
<b>DTG</b>	: Dolutegravir
<b>EDTA</b>	: Ethylène Diamine Tétra-Acétique

## LISTE DES ABREVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

---

<b>EFV</b>	: Efavirenz
<b>env</b>	: Gène codant pour les protéines de l'enveloppe virale
<b>ETR</b>	: Etravirine
<b>EVG</b>	: Elvitegravir
<b>FPV</b>	: Fosamprenavir
<b>FTC</b>	: Emtricitabine
<b>gag</b>	: Gène codant la matrice, la capsid, la nucléocapsid et p6 (antigène)
<b>gp41</b>	: Glycoprotéine de l'enveloppe de 41kD (= TM)
<b>gp120</b>	: Glycoprotéine de l'enveloppe de 120kD (= SU)
<b>gp160</b>	: Glycoprotéine de 160kD (Précurseur des protéines d'enveloppe SU et TM)
<b>HAART</b>	: Traitement antirétroviral hautement actif (Highly Active Antiretroviral Therapy)
<b>HR</b>	: Heptat Repeat
<b>IDV</b>	: Indinavir
<b>IN</b>	: Intégrase
<b>INTI</b>	: Inhibiteurs Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse
<b>INTI-MP</b>	: INTI monophosphate
<b>INTI-TP</b>	: INTI triphosphates
<b>INNTI</b>	: Inhibiteurs Non Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse
<b>INTI</b>	: Inhibiteur Nucléo(t)idique de la Transcriptase Inverse
<b>IP</b>	: Inhibiteur de la protéase
<b>ITI</b>	: Inhibiteurs de la Transcriptase Inverse
<b>LTR</b>	: Long Terminal Repeat, séquences répétées terminales
<b>MSHP</b>	: Ministère de la santé et de l'hygiène publique
<b>MVC</b>	: Maraviroc
<b>nef</b>	: Gène codant pour la protéine Nef (Facteur de régulation négatif)
<b>NFV</b>	: Nelfinavir
<b>NVP</b>	: Nevirapine
<b>OMS</b>	: Organisation Mondiale de la Santé
<b>ONUSIDA</b>	: Organisation des Nations Unies pour la lutte contre le SIDA
<b>p6</b>	: Protéine impliquée dans le bourgeonnement viral
<b>p7</b>	: Protéine de nucléocapsid (= NC)
<b>p17</b>	: Protéine de la matrice (= MA)
<b>p24</b>	: Protéine de la capsid (= CA)
<b>PCR</b>	: Polymerase Chain Reaction, réaction en chaîne par polymérase

## LISTE DES ABREVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES

---

<b>PNLS</b>	: Programme National de Lutte contre le Sida
<b>PPI</b>	: PyroPhosphate inorganique
<b>pol</b>	: Gène codant les enzymes du VIH
<b>PR</b>	: Protéase
<b>PVVIH</b>	: Personnes Vivant avec le VIH
<b>QS</b>	: Quantification Standard, Standard de Quantification
<b>RAL</b>	: Raltegravir
<b>rev</b>	: Gène codant pour la protéine Rev (Régulateur de l'épissage de l'ARN)
<b>RNase H</b>	: Ribonucléase H
<b>RPV</b>	: Rilpivirine
<b>RTV</b>	: Ritonavir
<b>SIDA</b>	: Syndrome d'ImmunoDéficiency Acquis
<b>SQV</b>	: Saquinavir
<b>TAR</b>	: Traitement AntiRétroviral
<b>tat</b>	: Gène codant pour la protéine Tat (Protéine transactivateur)
<b>TDF</b>	: Tenofovir disoproxil fumarate
<b>tev</b>	: Gène codant pour la protéine Tev (Protéine de fusion Tat- Rev-Env, régule l'activité de Tat- Rev dans le noyau)
<b>TGR</b>	: Test Génotypique de Résistance
<b>TI</b>	: Transcriptase Inverse (Reverse Transcriptase : RT)
<b>TPV</b>	: Tipranavir
<b>URF</b>	: Unique Recombinant Forms, forme recombinante unique
<b>US-FDA</b>	: US Food and Drug Administration
<b>vif</b>	: Gène codant pour la protéine Vif (Protéine d'infectiosité virale)
<b>VIH</b>	: Virus de l'Immunodéficiency Humaine
<b>VIS</b>	: Virus de l'Immunodéficiency Simienne
<b>VIScpz</b>	: VIS infectant les chimpanzés
<b>VISgor</b>	: VIS infectant les gorilles
<b>VISsmm</b>	: VIS infectant les singes Mangabeys
<b>vpr</b>	: Gène codant pour la protéine Vpr (Viral Protein R, protéine virale R)
<b>vpu</b>	: Gène codant pour la protéine Vpu (Viral Protein U, protéine virale U)
<b>vpx</b>	: Gène codant pour la protéine Vpx (Viral Protein X, protéine virale X)

**LES ACIDES AMINES**

<b>A</b>	Ala	Alanine
<b>C</b>	Cys	Cystéine
<b>D</b>	Asp	Acide aspartique
<b>E</b>	Glu	Acide glutamique
<b>F</b>	Phe	Phénylalanine
<b>G</b>	Gly	Glycine
<b>H</b>	His	Histidine
<b>I</b>	Ile	Isoleucine
<b>K</b>	Lys	Lysine
<b>L</b>	Leu	Leucine
<b>M</b>	Met	Méthionine
<b>N</b>	Asn	Asparagine
<b>P</b>	Pro	Proline
<b>Q</b>	Gln	Glutamine
<b>R</b>	Arg	Arginine
<b>S</b>	Ser	Sérine
<b>T</b>	Thr	Thréonine
<b>V</b>	Val	Valine
<b>W</b>	Trp	Tryptophane
<b>Y</b>	Tyr	Tyrosine

## **LISTE DES TABLEAUX**

**LISTE DES TABLEAUX**

<b>Tableau I</b> : Vue d'ensemble des protéines du VIH-1 et leur fonction.....	9
<b>Tableau II</b> : Génotype de résistance des INTI et INtTI.....	30
<b>Tableau III</b> : Génotype de résistance des INNTI.....	33
<b>Tableau IV</b> : Génotype de résistance des IP .....	36
<b>Tableau V</b> : Génotype de résistance des inhibiteurs d'intégrase .....	39
<b>Tableau VI</b> : Génotype de résistance des inhibiteurs de fusion.....	44
<b>Tableau VII</b> : Composition du mélange réactionnel pour une réaction de RT/PCR .....	58
<b>Tableau VIII</b> : Séquences nucléotidiques des amorces de RT/PCR pour l'amplification de la TI et PR .....	59
<b>Tableau IX</b> : Programme thermique d'amplification de la RT/PCR .....	60
<b>Tableau X</b> : Composition du mélange réactionnel pour la PCR « nichée ».....	62
<b>Tableau XI</b> : Séquences nucléotidiques des amorces de la PCR « nichée » pour l'amplification de la TI et PR.....	63
<b>Tableau XII</b> : Programme thermique d'amplification de la PCR « nichée ».....	64
<b>Tableau XIII</b> : Composition du mélange réactionnel pour la PCR de réaction de séquence .	68
<b>Tableau XIV</b> : Séquences nucléotidiques des amorces de la PCR de réaction de séquence pour l'amplification de la TI et PR.....	69
<b>Tableau XV</b> : Programme thermique d'amplification de la PCR de réaction de séquence ....	70
<b>Tableau XVI</b> : Mutations majeures de résistance aux IP chez les enfants de l'étude .....	77
<b>Tableau XVII</b> : Profils génotypiques et IP résistants chez les enfants ayant des virus résistants .....	79
<b>Tableau XVIII</b> : Répartition des résistances aux ARV chez les patients de l'étude .....	89

## **LISTE DES FIGURES**

**LISTE DES FIGURES**

<i>Figure 1 : Structure de la particule virale du VIH-1</i> .....	7
<i>Figure 2 : Structure et organisation du génome du VIH-1</i> .....	8
<i>Figure 3 : Recombinants de sous-type du VIH</i> .....	11
<i>Figure 4 : Processus de recombinaison</i> .....	13
<i>Figure 5 : Cycle de réplication du VIH et cibles des antirétroviraux</i> .....	17
<i>Figure 6 : Histoire naturelle de l'infection par le VIH chez un patient sans TAR</i> .....	19
<i>Figure 7 : Algorithme national de dépistage pour les sites de premiers contacts</i> .....	21
<i>Figure 8 : Algorithme national de dépistage du VIH au laboratoire</i> .....	23
<i>Figure 9 : Algorithme de dépistage du VIH chez le nourrisson</i> .....	25
<i>Figure 10 : Structure chimique des INTI</i> .....	31
<i>Figure 11 : Structure chimique des INNTI</i> .....	34
<i>Figure 12 : Structure chimique des IP</i> .....	37
<i>Figure 13 : Structure chimique des inhibiteurs d'intégrase</i> .....	40
<i>Figure 14 : Structure chimique du Maraviroc</i> .....	42
<i>Figure 15 : Structure chimique de l'enfuvirtide</i> .....	45
<i>Figure 16 : Distribution des sous-types de VIH-1 dans la population d'étude</i> .....	75
<i>Figure 17 : Fréquences de résistance aux IP chez les enfants ayant des virus résistants</i> .....	81
<i>Figure 18 : Distribution globale des sous-types et recombinaisons viraux dans la population d'étude</i> .....	83
<i>Figure 19 : Fréquence de résistance des patients de l'étude aux différentes classes d'ARV</i> ..	84
<i>Figure 20 : Fréquence de résistance des patients de l'étude aux INTI</i> .....	85
<i>Figure 21 : Fréquence de résistance des patients de l'étude aux INNTI</i> .....	86
<i>Figure 22 : Fréquence de résistance des patients de l'étude aux IP</i> .....	87

## **LISTE DES ANNEXES**

**LISTE DES ANNEXES**

<b>Annexe 1:</b> Facs Calibre.....	118
<b>Annexe 2:</b> Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan .....	119
<b>Annexe 3:</b> Thermocycleur Gene Amp PCR System 9700 .....	120
<b>Annexe 4:</b> Dispositif d'électrophorèse sur gel d'Agarose .....	121
<b>Annexe 5:</b> Transilluminateur .....	122
<b>Annexe 6:</b> Séquenceur Genetic Analyser 3130 .....	123
<b>Annexe 7:</b> Données du séquenceur visualisé sous forme de séquences nucléotidiques.....	124
<b>Annexe 8:</b> Données du séquenceur visualisé sous forme d'électrophorégrammes.....	125
<b>Annexe 9:</b> Lettre d'accord du CNER (N° 3408/MSHP du 22/06/2012).....	126
<b>Annexe 10:</b> Notice d'information .....	127
<b>Annexe 11:</b> Formulaires de consentement et d'assentiment .....	129
<b>Annexe 12:</b> Formulaire d'enquête.....	133
<b>Annexe 13:</b> Lettre d'accord du CNESVS (N° 138-18/MSHP du 05/10/2018).....	137
<b>Annexe 14:</b> Notice explicative .....	138
<b>Annexe 15:</b> Formulaire de consentement éclairé .....	140
<b>Annexe 16:</b> Formulaire de recueil de données .....	141
<b>Annexe 17:</b> Valorisation scientifique du travail .....	142

## **SOMMAIRE**

**SOMMAIRE**

<b>DEDICACES</b> .....	I
<b>REMERCIEMENTS</b> .....	II
<b>LISTE DES ABREVIATIONS, SIGLES ET ACRONYMES</b> .....	VI
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	X
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	XI
<b>LISTE DES ANNEXES</b> .....	XII
<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>PREMIERE PARTIE : GENERALITES</b> .....	5
<b>CHAPITRE 1 : VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE (VIH)</b> .....	5
1.1. STRUCTURE ET ORGANISATION GENOMIQUE DU VIH .....	5
1.2. DIVERSITE GENETIQUE DU VIH.....	10
<b>CHAPITRE 2 : PHYSIOPATHOLOGIE DU VIH</b> .....	16
2.1. CYCLE DE REPLICATION DU VIH .....	16
2.2. HISTOIRE NATURELLE ET EVOLUTION DES MARQUEURS BIOLOGIQUES .....	18
<b>CHAPITRE 3 : SUIVI BIOLOGIQUE DE L'INFECTION A VIH EN COTE D'IVOIRE</b> .....	20
3.1. DEPISTAGE DE L'INFECTION A VIH.....	20
3.2. MISE EN ROUTE DU TAR ET LE SUIVI DE LA REponse .....	26
<b>CHAPITRE 4 : PRISE EN CHARGE DE L'INFECTION A VIH PAR LES ARV EN COTE D'IVOIRE</b> .....	27
4.1. CLASSES D'ARV DISPONIBLE EN COTE D'IVOIRE .....	27
4.2. REGIME THERAPEUTIQUE DES PATIENTS EN COTE D'IVOIRE.....	27
<b>CHAPITRE 5 : MECANISMES D'ACTION DES ARV ET RESISTANCE DU VIH</b> 28	
5.1. INHIBITEURS NUCLEOSIDIQUES ET NUCLEOTIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INTI ET INtTI) .....	28
5.2. INHIBITEURS NON NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INNTI) .....	32
5.3. INHIBITEURS DE LA PROTEASE.....	35
5.4. INHIBITEURS D'INTEGRASE .....	38
5.5. INHIBITEURS D'ENTREE .....	41
5.6. INHIBITEURS DE FUSION .....	43
<b>CHAPITRE 6 : METHODES D'EVALUATION DES RESISTANCES AUX ARV</b> ..	46

## SOMMAIRE

---

6.1. TESTS GENOTYPIQUES.....	46
6.2 TESTS PHENOTYPIQUES .....	47
<b>DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>49</b>
<b>CHAPITRE 1 : MATERIEL.....</b>	<b>49</b>
1.1. CADRE ET SITE DE L'ETUDE.....	49
1.2. POPULATION D'ETUDE .....	49
1.3. ECHANTILLONS BIOLOGIQUES.....	49
1.4. MATERIEL TECHNIQUE.....	49
1.5. PETITS MATERIELS DE LABORATOIRE.....	50
1.6. REACTIFS ET PRODUITS CHIMIQUES .....	50
<b>CHAPITRE 2 : METHODES .....</b>	<b>52</b>
2.1. TYPE DE L'ETUDE.....	52
2.2. CRITERES DE SELECTION .....	52
2.3. CRITERES D'EXCLUSION .....	52
2.4. PROCEDURE DE RECUEIL DE DONNEES DES PATIENTS .....	52
2.5. PROCEDURE DE COLLECTE DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES .....	53
2.6. ANALYSES BIOLOGIQUES .....	53
2.7. TRAITEMENTS DES DONNEES ET ANALYSES STATISTIQUES .....	72
2.8. CONSIDERATIONS ETHIQUES.....	73
<b>TROISIEME PARTIE : RESULTATS.....</b>	<b>74</b>
<b>CHAPITRE 1 : PROFIL DE MUTATION DE RESISTANCE AUX INHIBITEURS DE PROTEASE CHEZ LES ENFANTS SOUS TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL DEPUIS AU MOINS 6 MOIS A ABIDJAN (CÔTE D'IVOIRE).....</b>	<b>74</b>
1.1. RESULTATS .....	74
<b>CHAPITRE 2: RESISTANCE AUX ANTIRETROVIRAUX CHEZ DES PERSONNES INFECTEES PAR LE VIH EN ECHEC VIROLOGIQUE EN COTE D'IVOIRE, AFRIQUE DE L'OUEST .....</b>	<b>82</b>
2.1. RESULTATS .....	82
<b>QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION.....</b>	<b>90</b>
<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....</b>	<b>96</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>98</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>118</b>

# **INTRODUCTION**

### INTRODUCTION

Le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) causé par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est une menace sanitaire majeure dans le monde à cause de l'absence de vaccin efficace et de traitement curatif (**Pankrac *et al.*, 2017**).

Le traitement actuellement utilisé, connu sous le nom de traitement antirétroviral hautement actif (Highly active ARV therapy (HAART)) est une combinaison de plusieurs classes d'antirétroviraux (ARV) qui bloquent l'évolution du virus à différents stades de son développement (**Mattevi *et al.*, 2017**). Dans les pays à ressources limitées, peu de personnes avaient accès à ce traitement. Cependant l'atteinte des objectifs 90-90-90 de l'Organisation des Nations Unies pour la lutte contre le SIDA (ONUSIDA) (90% des personnes vivant avec le VIH connaissent leur statut sérologique, 90% de toutes les personnes infectées par le VIH dépistées reçoivent un traitement anti rétroviral durable et 90% des personnes recevant un traitement antirétroviral ont une charge virale durablement supprimée) (**ONUSIDA, 2014**) a entraîné un accroissement considérable du nombre de personnes bénéficiant du HAART. Le nombre de personnes sous traitement était de 21,7 millions dans le monde en 2017 (**ONUSIDA, 2018**)<sup>a</sup>. En Afrique de l'Ouest et du Centre, ce nombre était estimé à 2,4 millions (**ONUSIDA, 2018**)<sup>a</sup> contre 905 700 en 2010 (**ONUSIDA, 2016**).

La Côte d'Ivoire avec 500 000 Personnes Vivant avec le VIH (PVVIH), est l'un des pays d'Afrique de l'Ouest les plus touchés (**ONUSIDA, 2018**)<sup>b</sup>. Pour y remédier, l'ONUSIDA a mené des initiatives. L'évaluation de l'initiative pour l'accès aux traitements a clairement montré la faisabilité et surtout l'efficacité bioclinique des antirétroviraux (ARV) avec des résultats pratiquement superposables à ceux rapportés dans les pays développés (**Eholié *et al.*, 2009** ; **Mbopi-Keou *et al.*, 2014**).

Par conséquent, depuis 2008 le gouvernement ivoirien a rendu totalement gratuit l'accès aux ARV (**Tovi *et al.*, 2014**). Il a offert en collaboration avec des partenaires nationaux et internationaux le traitement antirétroviral (TAR) à 225 839 adultes et enfants en 2017 (**ONUSIDA, 2018**)<sup>b</sup> soit une augmentation de 174 019 par rapport à 2008 où le nombre était de 51 820 selon le Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique de Côte d'Ivoire (MSHP) (**MSHP, 2009**). Il a aussi adopté et adapté à son contexte les recommandations 2013 et 2014 de l'organisation mondiale de la santé (**OMS, 2013** ; **OMS, 2014** ; **PNLS, 2015<sup>a</sup>**). Ainsi, le protocole thérapeutique national est constitué de trois lignes formées à partir de la combinaison

de quatre classes d'ARV (PNLS, 2015) <sup>a</sup> sur six classes approuvées par l'agence américaine des produits alimentaires et médicamenteux (US-FDA) (Acharya *et al.*, 2016).

L'ensemble des décisions du gouvernement ivoirien en collaboration avec les partenaires nationaux et internationaux a permis d'augmenter l'espérance de vie des patients sous TAR ; cependant, chez certains patients, les ARV ne sont pas efficaces (Santoro *et al.*, 2013 ; Etta *et al.*, 2017). Cette situation a un impact sur la morbidité et la mortalité dans les premiers mois de traitement (Eholié *et al.*, 2009).

Dans la plupart de ces cas, l'inefficacité des ARV est imputable aux conditions de leurs mises en route et au suivi de la réponse. En effet, ils devraient impliquer les résultats de tests virologiques tels que la charge virale et le test génotypique de résistance (TGR). Mais, ces marqueurs virologiques ne sont pas d'usage courant en pratique clinique en Côte d'Ivoire, à cause de la centralisation des techniques dans des laboratoires de référence, leurs coûts et le manque de ressources humaines formées. Depuis 2015, le Programme National de Lutte contre le Sida (PNLS) recommande pour le suivi de personnes vivant avec le VIH (PVVIH), la détermination de la charge virale (PNLS, 2015) <sup>b</sup>.

Ainsi, le TAR est généralement initié ou modifié sans tenir compte du niveau de répllication virale et des résistances développées par le virus vis-à-vis des ARV. Par conséquent, l'efficacité des ARV est compromise par la transmission de virus résistants ou par l'acquisition de résistance au cours du traitement (Rhee *et al.*, 2015 ; Vega *et al.*, 2015 ; Yang *et al.*, 2015 ; Scherrer *et al.*, 2016).

Dès lors, la surveillance des virus résistants chez les personnes sous traitement est indispensable pour optimiser l'efficacité du traitement, dans un contexte où les choix en combinaisons thérapeutiques restent limités et le nombre de personnes sous TAR en hausse (OMS, 2017).

### **Problématique actuelle de la résistance du VIH aux antirétroviraux**

La problématique actuelle de la résistance du VIH aux antirétroviraux concerne quatre axes prioritaires sur lesquels se concentre la recherche :

- La surveillance de la résistance du VIH aux ARV dans les populations d'adultes récemment infectés ;
- La surveillance de la résistance du VIH aux ARV avant traitement dans les populations d'adultes qui commencent un TAR ;

- La surveillance de la résistance du VIH aux ARV acquise dans les populations d’adultes et d’enfants sous TAR ;
- La surveillance de la résistance du VIH aux ARV chez les enfants âgés de moins de 18 mois n’ayant jamais reçu de traitement.

### Questions de recherche abordées par le présent travail

#### Question 1

Les inhibiteurs de la protéase du VIH sélectionnent plus de mutations qu’aucune autre classe d’ARV (Shafer *et al.*, 2008). L’accumulation de ces mutations induit une résistance aux IP (Baxter *et al.*, 2016). De plus, le développement d’une large résistance croisée dans cette classe présente un véritable défi dans la pratique clinique (Baxter *et al.*, 2016 ; Hu *et al.*, 2016) particulièrement chez les enfants où il existe des difficultés liées au nombre limité de formes galéniques pédiatriques, de l’adhérence, de l’environnement social, des facteurs psychosociaux et de l’absence de monitoring biologique (Salou *et al.*, 2016). En Côte d’Ivoire, 2 IP sont disponibles pour la trithérapie chez les enfants (PNLS, 2015) <sup>a</sup> sur les 8 approuvés par US-FDA. Mais un seul est fréquemment utilisé en première ligne de traitement. Dans ce contexte, il est indispensable de surveiller les mutations de résistance pouvant affecter la sensibilité des IP dans un contexte où les choix en combinaisons thérapeutiques restent limités et le nombre d’enfants sous HAART en hausse. Cette situation a suscité une question de recherche : « **Les profils de mutation de résistance aux IP sont-ils retrouvés chez les enfants sous traitement antirétroviral depuis au moins 6 mois à Abidjan (Côte d’Ivoire) ?** »

#### Hypothèse 1

Les enfants sous traitement antirétroviral depuis au moins 6 mois, dans un contexte de suivi biologique limité développent et accumulent des mutations de résistance qui diminuent l’efficacité des IP en Côte d’Ivoire.

#### Question 2

L’adoption par la Côte d’Ivoire de la stratégie « Tester et Traiter Tous » afin d’atteindre les objectifs 90-90-90 a entraîné un accroissement considérable du nombre de personnes bénéficiant du TAR et nécessitant un suivi. Cette situation pourrait avoir pour conséquence, une augmentation de la résistance dans la population qui serait à la base de la non atteinte de l’un des objectifs de l’ONUSIDA qui est d’avoir 90 % de personnes sous TAR ayant une charge

virale supprimée (ONUSIDA, 2014). En effet, ces stratégies devraient impliquer les tests virologiques tels que la charge virale et éventuellement les TGR. Mais, l'accès à la charge virale en Côte d'Ivoire reste encore limité à certains centres et le TGR aux centres de référence. Ainsi, les régimes thérapeutiques sont généralement initiés ou modifiés sans tenir compte du niveau de répllication viral et des résistances développées par le virus. De plus, les sous-types et les recombinants du VIH-1 ont des résistances naturelles à certaines molécules (Wainberg et Brenner, 2012). Face à cette situation, la question de recherche suivante se pose : « **Les mutations de résistance aux antirétroviraux sont-elles développées par des personnes infectées par le VIH en échec virologique en Côte d'Ivoire, Afrique de l'Ouest ?** »

### **Hypothèse 2**

Les personnes infectées par le VIH en échec virologique en Côte d'Ivoire développent des mutations de résistance aux ARV.

### **Objectifs de l'étude**

**Objectif général :** Etudier les profils de résistance du VIH-1 chez des patients traités par des ARV à Abidjan (Côte d'Ivoire).

### **Objectifs spécifiques**

- 1- Déterminer le profil de mutation de résistance aux IP chez les enfants sous traitement antirétroviral depuis au moins 6 mois à Abidjan (Côte d'Ivoire) ;
- 2- Décrire le profil de résistance du VIH-1 aux ARV chez des patients adultes traités en échec virologique à Abidjan (Côte d'Ivoire) ;
- 3- Caractériser le polymorphisme génétique du VIH-1 chez des patients sous TAR à Abidjan (Côte d'Ivoire).

## **PREMIERE PARTIE : GENERALITES**

**PREMIERE PARTIE : GENERALITES**

**CHAPITRE 1 : VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE (VIH)**

Le VIH appartient à la grande famille des *Retroviridae*, à la sous-famille des *Orthoretrovirinae* et au genre *Lentivirus* (Gürtler *et al.*, 2016).

Le genre *Lentivirus* comprend : le virus maedi-visna chez les ovins, le virus de l'arthrite-encéphalite caprine chez les caprins, le virus de l'anémie infectieuse équine chez les chevaux, le virus de l'immunodéficiency bovine chez les bovins, le virus de l'immunodéficiency félin chez les chats, le virus de l'immunodéficiency simienne (VIS) et le virus de l'immunodéficiency humaine (VIH) chez les primates (Bhatia *et al.*, 2013).

Ils ont la caractéristique de transcrire leur génome d'acide ribonucléique (ARN) en acide désoxyribonucléique (ADN) à l'intérieur de la cellule hôte grâce à une enzyme appelée la transcriptase inverse (TI) (La *et al.*, 2015 ; Thammaporn *et al.*, 2015). Ils infectent principalement les cellules du système immunitaire provoquant une immunodéficiency sur des périodes relativement longues (Becerra *et al.*, 2016).

Des analyses phylogénétiques indiquent que plusieurs événements de transmission inter-espèces des VIS vers l'homme se sont produits, introduisant dans la population humaine deux types de VIH génétiquement distincts : le type 1 (VIH-1) originaire du chimpanzé (*Pan troglodytes troglodytes*) et le type 2 (VIH-2) provenant du singe (*Cercocebus atys atys*) (Sharp et Hahn, 2011 ; Ayouba *et al.*, 2013 ; Rajarapu, 2014 ; Cella *et al.*, 2016).

Le VIH-1 est le principal agent responsable de l'épidémie quant au VIH-2, il est présent de manière significative dans la région Ouest africaine (Peeters *et al.*, 2014 ; Rajarapu, 2014).

**1.1. STRUCTURE ET ORGANISATION GENOMIQUE DU VIH**

Le VIH se présente sous la forme d'une particule sphérique enveloppée avec un diamètre d'environ 90-120 nm (Figure 1) (Becerra *et al.*, 2016). L'enveloppe virale est composée de bicouche de phospholipides provenant de la membrane de cellules hôtes au cours du bourgeonnement de nouveaux virions (Acharya *et al.*, 2016). Elle est aussi composée de deux glycoprotéines (gp) la gp120 et la gp41 (Rajarapu, 2014). La gp41 traverse la bicouche lipidique tandis que la gp120 occupe une position plus périphérique (Herschhorn *et al.*, 2016). La gp120 se fixe à la molécule membranaire CD4 des cellules hôtes tandis que la gp41 est

responsable de la fusion de l'enveloppe virale avec la membrane cellulaire (**Herschhorn *et al.*, 2016**). À l'intérieur de la particule, le « core » viral ou nucléocapside inclut une couche de protéines (p) de matrice p17, une couche plus profonde de protéines de capsid p24 et une protéine de nucléocapside (p7) (**Acharya *et al.*, 2016**). Quant à la protéine p6, elle est impliquée dans le bourgeonnement viral (**Acharya *et al.*, 2016**).

La particule virale dispose d'un génome qui se présente sous la forme de deux copies d'ARN simple brin avec une longueur de 9749 nucléotides (**Figure 2**) (**Gürtler *et al.*, 2016**). Il est constitué de trois gènes principaux : *gag* (groupe antigène) qui code pour les protéines structurales (matrice, capsid, nucléocapsid et p6), *pol* (polymérase) qui code pour les enzymes virales (protéase (PR), TI et intégrase (IN)), *env* (enveloppe) qui code pour les protéines d'enveloppe (gp120 et gp41) (**Gürtler *et al.*, 2016 ; Becerra *et al.*, 2016 ; Li *et al.*, 2016**). Les gènes *gag*, *pol* et *env* sont régulés par des séquences répétées terminales « Long Terminal Repeat (*LTR*) » qui sont créées lorsque la TI synthétise l'ADN proviral (Figure 2) (**Gürtler *et al.*, 2016**). Le génome est aussi composé d'autres gènes appelés accessoires et régulateurs qui codent pour des protéines qui ont un rôle variable (**Tableau I**) (**Gürtler *et al.*, 2016**).

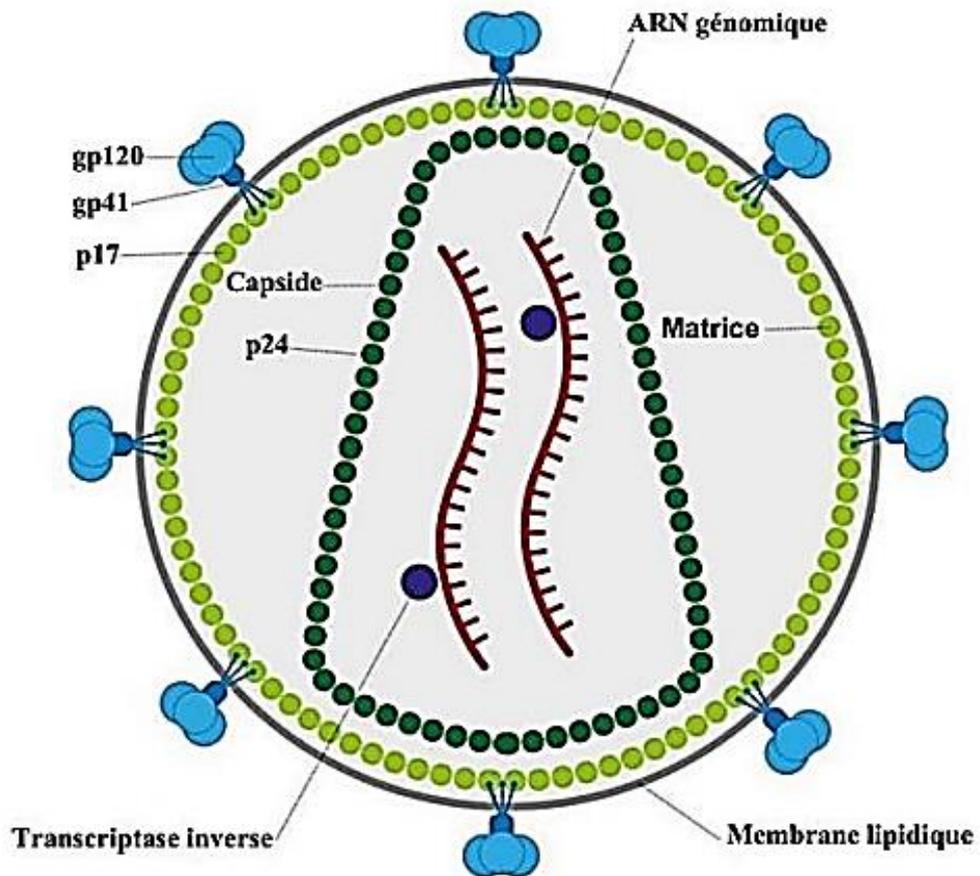
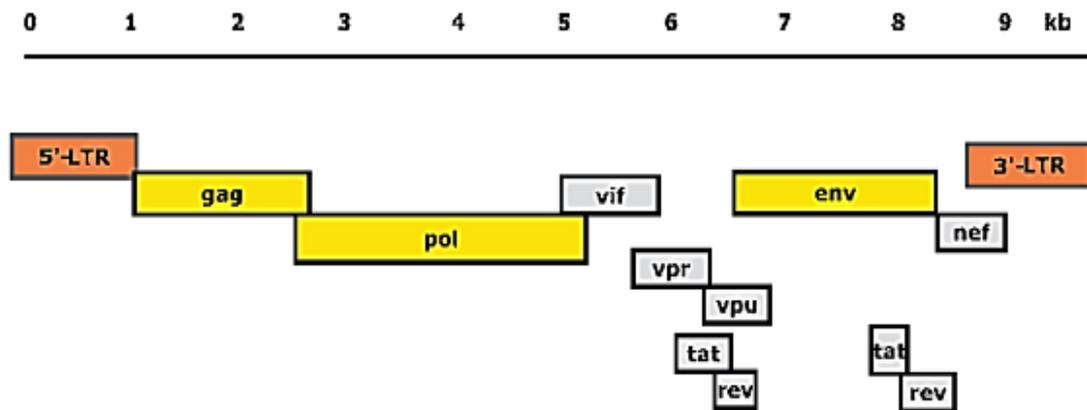


Figure 1 : Structure de la particule virale du VIH-1 (Becerra et al., 2016)



*Figure 2 : Structure et organisation du génome du VIH-1 (Gürtler et al., 2016)*

**Tableau I : Vue d'ensemble des protéines du VIH-1 et leur fonction (Gürtler *et al.*, 2016)**

Gène	Taille*	Protéines	Fonction
<i>gag</i>		Pr55Gag	précurseur des protéines de structure interne
	p24	protéine de capsid (CA)	formation de la capsid conique
	p17	protéine de matrice (MA)	protéine myristillée, formant la couche interne de la membrane
	p7	nucléoprotéine (NC)	formation de la nucléoprotéine/complexe ARN
	p6		impliqués dans la libération de particules virales
<i>pol</i>	p10	Pr160GagPol protease(PR)	précurseur des enzymes virales clivage protéolytique de la protéine précurseur de Gag (Pr55) et de Gag-Pol (Pr160GagPol); libération de protéines structurales et d'enzymes virales
	p51	transcriptase reverse (RT)	transcription de l'ARN du VIH dans l'ADN proviral
	p15 (66)	RNase H	dégradation de l'ARN viral dans la réplication de l'ARN/ADN viral
	p32	integrase (IN)	complexe d'intégration de l'ADN proviral dans le génome de l'hôte
<i>env</i>	gp120	PrGp160 glycoprotéine de surface (SU)	précurseur des protéines d'enveloppe SU et TM, clivage par protease cellulaire fixation du virus à la cellule cible
	gp41	protéine transmembranaire (TM)	ancrage de la gp120, fusion des membranes virales et cellulaires
<i>tat</i>	p14	protéine transactivatrice	activatrice de la transcription des gènes viraux
<i>rev</i>	p19	Régulateur de l'épissage de l'ARN	régule l'exportation de l'ARNm viral non épissé et partiellement épissé
<i>nef</i>	p27	facteur de régulation négatif	protéine myristillée, influence la réplication du VIH, améliore le pouvoir infectieux des particules virales, régulation négatif des CD4 sur les cellules cibles et les cellules HLA sur la cible
<i>vif</i>	p23	protéine d'infectiosité virale	importante pour la production de virus infectieux in vivo.
<i>vpr</i>	p15	protéine virale r	composant des particules virales, interaction avec p6, facilite l'infectiosité du virus, effet sur le cycle cellulaire
<i>vpu</i>	p16	protéine virale unique	libération de particules virales efficaces, contrôle de la dégradation des CD4, modulation du trafic intracellulaire
<i>vpx</i>	p15	protéine virale x	interaction avec p6 dans les particules virales, impliquées dans les étapes précoces de la réplication du VIH-2, composant des particules virales
<i>tev</i>	p26	protéine tat/rev	protéine de fusion Tat-Env-Rev, régule l'activité de Tat et Rev dans le noyau.

\*Les nombres correspondent à la taille des protéines (p) ou des glycoprotéines (gp) en 1 000 Da.

## 1.2. DIVERSITE GENETIQUE DU VIH

La grande variabilité du VIH est à l'origine de sa classification en types (VIH-1 et VIH-2), groupes, sous-types, sous sous-types et formes recombinantes (**Robertson *et al.*, 2000 ; Peeters *et al.*, 2003 ; Loukou *et al.*, 2012 ; Kamangu *et al.*, 2015**).

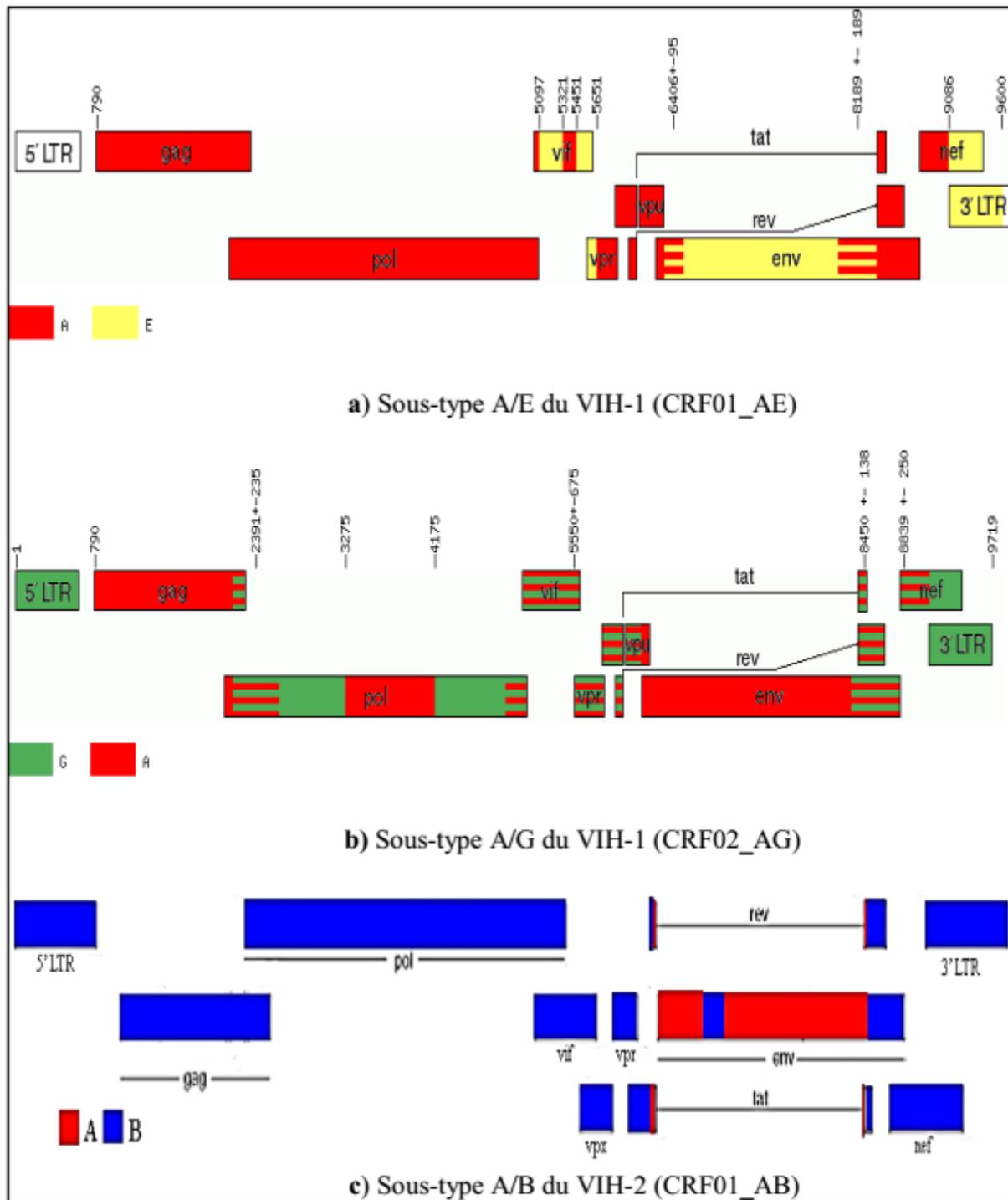
Le VIH-1 est classé en quatre groupes (M, O, N et P) (**D'arc *et al.*, 2015 ; Becerra *et al.*, 2016**) issus du saut des espèces du Virus de l'Immunodéficience Simienne (VIS) des chimpanzés et des gorilles (**Sharp et Hahn, 2011 ; Ayouba *et al.*, 2013**).

Le groupe M (Major) étroitement lié au VIS infectant les chimpanzés (VIScpz) est à lui seul responsable de la majorité des infections dans le monde (**Serafino *et al.*, 2015 ; D'arc *et al.*, 2015 ; Turk et Carobene, 2015**). Il est actuellement subdivisé en neuf sous-types (A-D, F-H et J-K) (**Serafino *et al.*, 2015 ; Librelotto *et al.*, 2015**) et de nombreuses formes circulantes recombinantes (CRF) avec des formes recombinantes uniques (URF) (**Becerra *et al.*, 2016**). Il existe actuellement 97 CRFs (<https://www.hiv.lanl.gov>), dont 2 représentent environ 13 % de toutes les infections dans le monde les CRF01\_AE et CRF02\_AG (**Tongo *et al.*, 2018 ; Hemelaar *et al.*, 2011**) (**Figure 3a et 3b**). Le CRF02\_AG étant prédominant en Côte d'Ivoire (**Toni *et al.*, 2007**). Du fait de la variabilité génétique entre certains groupes de séquences (clusters), des souches virales appartenant à un même sous-type sont subdivisées en sous sous-types. C'est le cas des sous types A et F qui sont divisés en sous sous-type A1-A4 et F1-F2 respectivement (**Peeters *et al.*, 2014 ; Serafino *et al.*, 2015**).

Le groupe O (Outlier) pourrait provenir de VIS infectant les gorilles sauvages (VISgor) (**Peeters *et al.*, 2014 ; D'arc *et al.*, 2015**). L'origine du groupe N (New) a été attribuée à un évènement de recombinaison entre l'ancêtre du groupe M et du VIScpz (**Santos et Soares, 2010 ; Sharp et Hahn, 2011**).

Le VIH-1 groupe P a été décrit chez une Camerounaise (**Plantier *et al.*, 2009 ; Vallari *et al.*, 2011**). L'origine de ce groupe a été corrélée avec VISgor, sans preuve de recombinaison avec d'autres groupes de VIH-1 (**Santos et Soares, 2010 ; D'arc *et al.*, 2015**).

Quant au VIH-2, il est très proche du VIS infectant les singes Mangabeys (VISsmm) et se divise en 9 sous-types (A-I) (**Ayouba *et al.*, 2013 ; Peeters *et al.*, 2014**). Seuls les sous-types A et B ont une diffusion épidémique (**Peeters *et al.*, 2014**). En 2010, Ibe et collaborateurs ont découvert le premier recombinant des groupes A et B du VIH-2 (CRF01\_AB) (**Ibe *et al.*, 2010**) (**Figure 3c**).



**Figure 3 : Recombinants de sous-type du VIH (<https://www.hiv.lanl.gov>)**

- a) Sous-type A/E du VIH-1 (CRF01\_AE)
- b) Sous-type A/G du VIH-1 (CRF02\_AG)
- c) Sous-type A/B du VIH-2 (CRF01\_AB)

### 1.2.1. Causes de la diversité génétique

Plusieurs facteurs biologiques sont responsables de la diversité génétique du VIH :

#### 1.2.1.1. Faible fidélité de la transcriptase inverse (TI) et dynamique de réplication

La TI joue un rôle important dans la réplication du VIH. Elle catalyse la conversion de son ARN simple brin en ADN double brin (La *et al.*, 2015 ; Thammaporn *et al.*, 2015). C'est une ADN polymérase ARN dépendante qui possède aussi une activité Ribonucléase H (RNase H) permettant la destruction de l'ARN hybridé à l'ADN et une activité ADN polymérase-ADN dépendante (Esposito *et al.*, 2012 ; La *et al.*, 2015 ; Li *et al.*, 2016). Mais, elle ne possède pas d'activité exonucléasique permettant la correction des erreurs de transcription (Hu et Hughes, 2012 ; Presloid et Novella, 2015). Le taux d'erreur est estimé entre 1 et 10 mutations par génome à chaque cycle de réplication (Arts et Hazuda, 2012 ; Kerina *et al.*, 2013). Associer ce facteur avec une forte réplication virale, environ  $10^{11}$  virions produits par jour (Coffin et Swanstrom, 2013), implique qu'un individu est infecté par un grand nombre de virus génétiquement différents appelés « quasi-espèces » (Dilernia *et al.*, 2015 ; Ode *et al.*, 2015 ; Presloid et Novella, 2015).

#### 1.2.1.2. Recombinaison génétique

La recombinaison est un mécanisme génétique permettant au VIH de générer de nouvelles souches, d'accroître sa diversité et de faciliter son adaptation (Arenas, 2015 ; Pérez-Losada *et al.*, 2015 ; Nikolaitchik *et al.*, 2015).

Elle est liée à des évènements de co-infections ou de surinfections par au moins deux souches virales génétiquement différentes au sein d'un même individu (Kerina *et al.*, 2013 ; Kiwelu *et al.*, 2013). Elle intervient au bout de deux cycles de réplication successifs. Au cours du premier cycle, au moins deux virus génétiquement différents infectent une même cellule. Cette double infection va mener à l'intégration de deux provirus dans le génome cellulaire après transcription des ARN viraux simples brins en ADN viraux double brin. La lignée résultante sera constituée par des virions hétérozygotes et homozygotes. Dans un second cycle, une particule hétérozygote infecte une nouvelle cellule. Durant le processus de réplication, la TI va copier alternativement les deux brins d'ARN (Kiwelu *et al.*, 2013). Elle va générer ainsi une mosaïque d'ADN (Kiwelu *et al.*, 2013) conduisant à la formation de provirus chimérique et à la production de particules virales recombinantes (Figure 4).

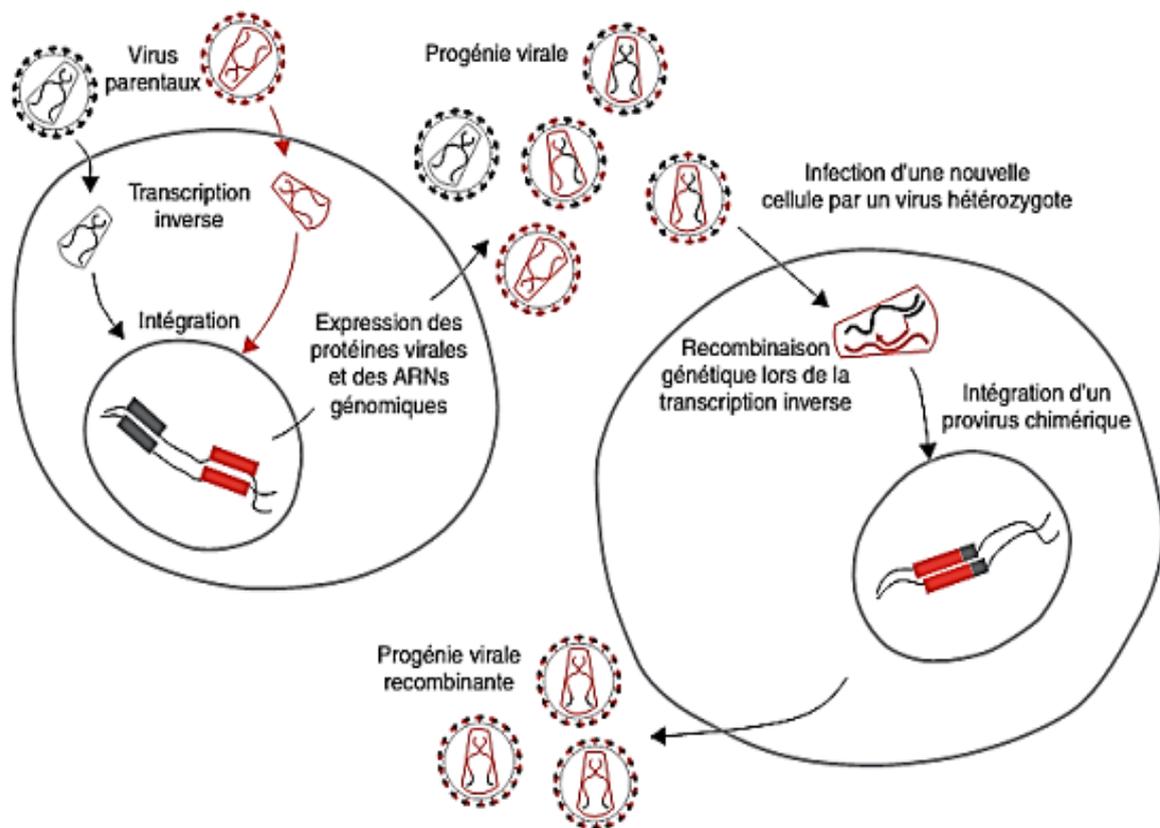


Figure 4 : Processus de recombinaison (Simon-Lorière et al., 2006)

### 1.2.1.3. Pression de sélection

Deux types de pression de sélection sont identifiés : les pressions négatives et positives. Les pressions dites négatives favorisent les mutations synonymes ou silencieuses, n'entraînant pas de changement d'acide aminé, mais seulement une variation sur le matériel génétique. Par opposition, les pressions positives favorisent des substitutions d'acide aminé (mutations non-synonymes).

Ainsi, lorsque le VIH infecte les cellules hôtes, la pression de sélection liée au système immunitaire va provoquer des mutations positives sur les protéines de l'enveloppe permettant au virus d'échapper au système immunitaire : des changements dans les déterminants antigéniques permettent à ces nouveaux variants de ne plus être reconnus par les anticorps et les cellules immunitaires.

De la même façon, la pression de sélection liée aux ARV va permettre de sélectionner des variants résistants préexistants dans le milieu. Aussi, des mutations de résistance peuvent apparaître dans les régions qui sont ciblées par les ARV, essentiellement le gène *pol* (TI, PR et IN) (**Sachithanandham et al., 2016**), mais aussi les gènes *gag* (site de clivage) et *env* (sur la gp41) contribuant à produire des virus résistants.

### 1.2.2. Conséquences de la diversité génétique

Les conséquences de la diversité génétique du VIH concernent principalement la transmission, la virulence, le diagnostic, les traitements antirétroviraux et l'élaboration d'un vaccin.

La transmission et la virulence sont fonction du type de VIH. En effet, les risques de transmission sexuelle et verticale sont plus faibles chez les patients infectés par le VIH-2 que ceux infectés par le VIH-1 (**Raugi et al., 2013 ; Borkar et Kashid, 2015**). Aussi, la progression naturelle de l'immunodéficience est généralement plus lente pour le type 2 (**Borkar et Kashid, 2015 ; Deuzing et al., 2015**). Par conséquent, les non-progresseurs à long terme sont observés plus fréquemment chez les patients infectés par le type 2 (**Nyamweya et al., 2013**).

Le diagnostic repose principalement sur des analyses sérologiques ou moléculaires. Ces analyses ont été conçues pour détecter et/ou mesurer un ou plusieurs marqueurs de l'infection. Ils devraient détecter toutes les formes génétiques du VIH. Mais leur performance peut être

affectée par l'évolution génétique et antigénique du virus, sa diversification continue et la redistribution globale de ces groupes, sous-types et recombinants (**Bártolo et Taveira, 2012**).

La diversité génétique a également un impact sur la stratégie thérapeutique. Pour bloquer la réplication virale dans les premières lignes de traitement, on utilise les inhibiteurs de la transcriptase inverse (ITI) dans la combinaison de TAR. Ces inhibiteurs ont 2 classes : les inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) et les inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI). La transcription inverse du VIH-1 ou du VIH-2 peut être bloquée par les INTI. Cependant, du fait de la divergence génétique, le VIH-1 du groupe O et le VIH-2 sont naturellement résistant à l'ensemble des INNTI (**Borrego et al., 2012 ; Villabona-Arenas et al., 2015**). De plus, le VIH-2 est naturellement résistant à l'inhibiteur de fusion enfuvirtide (**Borrego et al., 2012 ; Deuzing et al., 2015**), et à certains inhibiteurs de la protéase (IP).

Ainsi, la résistance du VIH aux ARV et le contrôle de l'épidémie nous interpellent sur la nécessité d'un vaccin. Cependant, plusieurs défis entravent le développement d'un vaccin prophylactique, notamment l'extraordinaire diversité du virus, au sein même d'un hôte infecté (**Brown et al., 2015**).

## CHAPITRE 2 : PHYSIOPATHOLOGIE DU VIH

### 2.1. CYCLE DE REPLICATION DU VIH

Les cellules infectées par le VIH doivent exprimer en leur surface le récepteur CD4 (cluster de différenciation 4) (Abbas *et al.*, 2016). En effet, la gp160 du VIH qui se compose de deux sous unités (gp120 et gp41) a une affinité pour le récepteur CD4 présent à la surface des lymphocytes T-CD4<sup>+</sup>, des monocytes, des macrophages, des cellules dendritiques et microgliales du cerveau (Ghori *et al.*, 2016). Le virus se fixe sur le récepteur CD4 de ces cellules grâce à la sous unité gp120 (Abbas *et al.*, 2016). La liaison de la gp120 au CD4 déclenche des changements conformationnels dans le gène *env*, ce qui provoque des interactions avec le récepteur chimiokinique CCR5 ou CXCR4 (Klasse, 2012). Ces interactions vont entraîner des changements encore plus drastiques dans le gène *env* libérant le potentiel fusogène de la sous unité gp41 (Klasse, 2012). Ainsi, une fusion suivie d'une lyse va créer un pore dans la membrane de la cellule cible permettant à la capsid virale de pénétrer dans le cytoplasme cellulaire pour libérer son contenu (Figure 5) (Michaud *et al.*, 2012).

Une fois l'ARN viral dans le cytoplasme de la cellule hôte, il est rétrotranscrit en ADN complémentaire (ADNc) par la RT puis dupliqué en ADN double brin (ADNdb) (Ghori *et al.*, 2016). Cet ADN viral est alors intégré au génome de la cellule hôte grâce à l'intégrase (Anochie *et al.*, 2015).

L'ARN polymérase de l'hôte transcrit alors l'ADN proviral en ARN génomiques viraux (Michaud *et al.*, 2012). Certains sont exportés dans le cytoplasme pour être utilisés comme ARN génomique des virions pendant que d'autres sont épissés en des molécules d'ARN messagers viraux (ARNm) avant d'être exportés dans le cytoplasme ou elles sont traduites en protéines viraux par le mécanisme de traduction cellulaire (Michaud *et al.*, 2012 ; Becerra *et al.*, 2016).

Une fois que l'ARN génomique viral et les polyprotéines viraux se sont accumulés dans le cytoplasme, la formation des particules viraux commence avec l'encapsidation de l'ARN génomique viral non épissé et le bourgeonnement de la cellule (Michaud *et al.*, 2012). Après avoir bourgeonné, la cellule est non mature et non infectieuse (Michaud *et al.*, 2012). La protéase favorise la maturation en clivant les protéines de la capsid (Michaud *et al.*, 2012). Ainsi, si la réplication virale n'est pas bloquée, 10<sup>08</sup> à 10<sup>09</sup> particules viraux seront produites quotidiennement par les cellules infectées (Gürtler *et al.*, 2016).

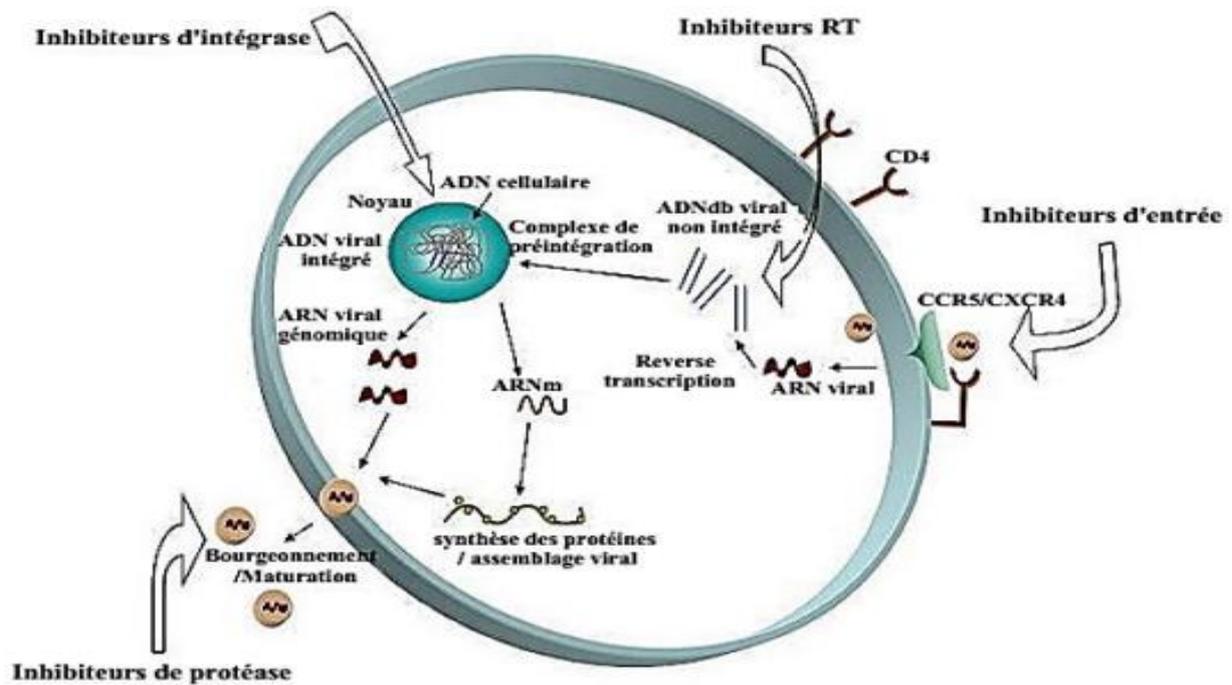


Figure 5 : Cycle de réplication du VIH et cibles des antirétroviraux (Michaud et al., 2012)

Légende : RT : Reverse Transcriptase ; CCR5 : Récepteur aux chimiokines 5 ; CXCR4 : Récepteur aux chimiokine 4.

## 2.2. HISTOIRE NATURELLE ET EVOLUTION DES MARQUEURS BIOLOGIQUES

En général, dans les 3 à 6 semaines qui suivent l'exposition au VIH, les personnes infectées développent un syndrome bref et aigu caractérisé par des symptômes pseudo-grippaux associés à une charge virale importante et une baisse significative du nombre absolu des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> dans le sang circulant (**Schwartz *et al.*, 1999**).

Chez la plupart des sujets infectés, une réponse immunitaire spécifique au VIH et une baisse de la virémie plasmatique surviennent habituellement dans les 4 à 6 semaines après l'apparition des symptômes (**Horsburgh *et al.*, 1989 ; Albert *et al.*, 1990**)

Après la séroconversion, les sujets infectés entrent typiquement dans une phase asymptomatique de stabilité clinique qui peut durer des années (**Schwartz *et al.*, 1999**).

Cette période asymptomatique est caractérisée par la présence persistante d'une faible virémie dans le plasma et par une déplétion graduelle des lymphocytes T CD4<sup>+</sup> entraînant une immunodéficience sévère, des infections opportunistes sévères, des affections malignes et finalement la mort (**Schwartz *et al.*, 1999 ; Madiba *et al.*, 2009**) (**Figure 6**).

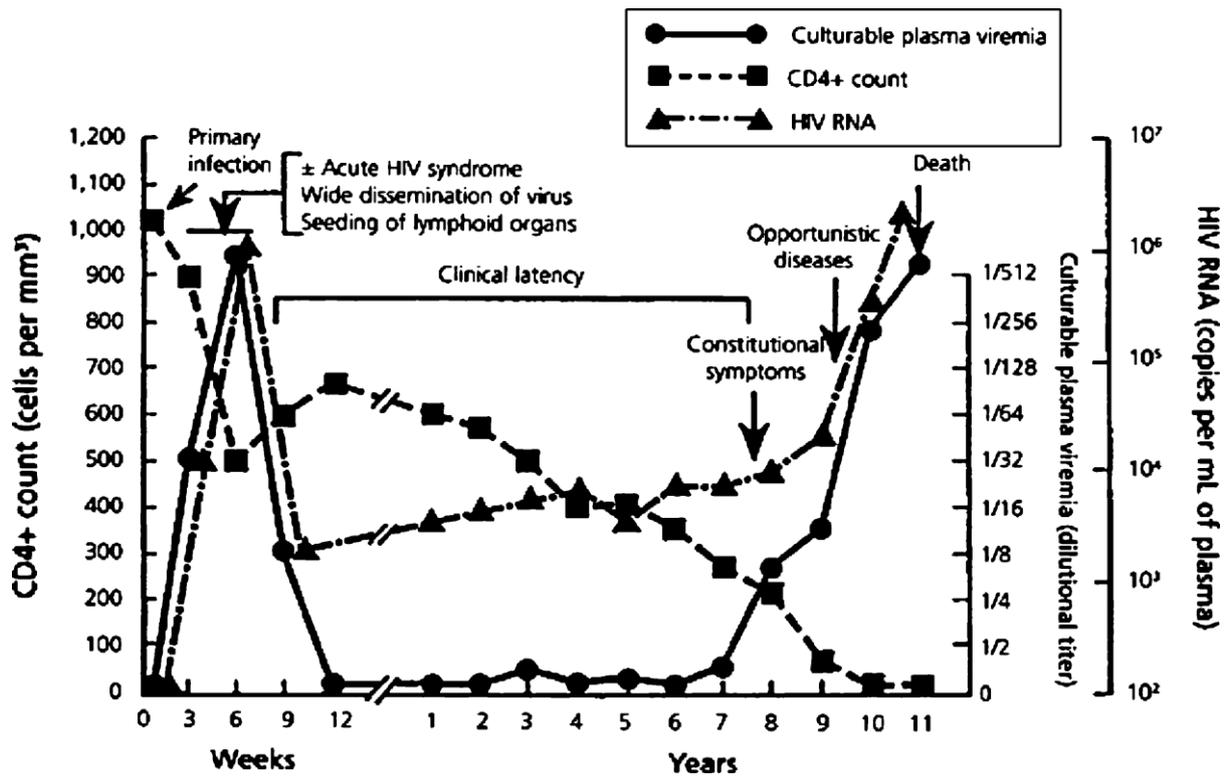


Figure 6 : Histoire naturelle de l'infection par le VIH chez un patient sans TAR (Madiba et al., 2009)

### CHAPITRE 3 : SUIVI BIOLOGIQUE DE L'INFECTION A VIH EN COTE D'IVOIRE

Le suivi biologique de l'infection à VIH en Côte d'Ivoire concerne principalement le dépistage, la mise en route du TAR et la surveillance de la réponse.

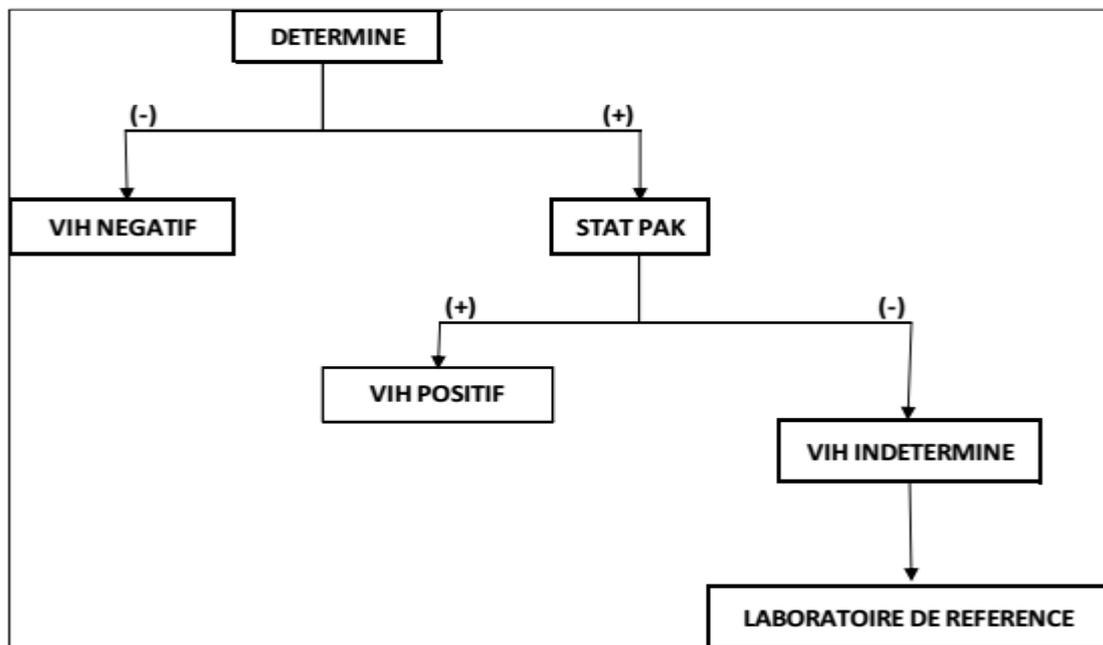
#### 3.1. DEPISTAGE DE L'INFECTION A VIH

Selon le Programme National de Lutte contre le Sida, deux types d'algorithmes sont utilisés pour le diagnostic de l'infection à VIH. Il s'agit de l'algorithme adopté au poste de dépistage et celui adopté au laboratoire (PNLS, 2016).

##### 3.1.1. Algorithme national de dépistage du VIH au poste de dépistage

L'algorithme adopté aux postes de dépistage clinique et communautaire recommande l'utilisation de deux tests rapides en série (**Figure 7**). Le premier test est le DETERMINE® et le deuxième test est le STAT PAK® (PNLS, 2016).

Le test doit être réalisé par piqure au bout du doigt en intégrant le conseil pré-test et post-test par le même prestataire. Le premier test est sensible et le second test est spécifique. Le deuxième test doit être réalisé en cas de réactivité du premier test. Cet algorithme permet d'obtenir les résultats suivants : VIH négatif ou VIH positif ou Statut VIH indéterminé. En cas de statut VIH indéterminé, le prestataire doit référer le client ou son prélèvement au laboratoire de référence (PNLS, 2016).



*Figure 7 : Algorithme national de dépistage pour les sites de premiers contacts (PNLS, 2016)*

### 3.1.2. Algorithme national de dépistage du VIH au laboratoire

L'algorithme adopté au laboratoire recommande l'utilisation en série de trois tests pour la confirmation du statut sérologique et le typage du VIH (**Figure 8**). Le premier test est le DETERMINE<sup>®</sup>, le deuxième test est le GENIE III<sup>®</sup> ou BIOLINE<sup>®</sup> et le troisième test est le STAT PAK<sup>®</sup> (**PNLS, 2016**). Le premier test est sensible et le second test spécifique et discriminant. Le troisième test est réalisé en cas de résultat discordant entre le premier test et le second test. C'est un test décisionnel qui permet d'avoir le résultat définitif (**PNLS, 2016**).

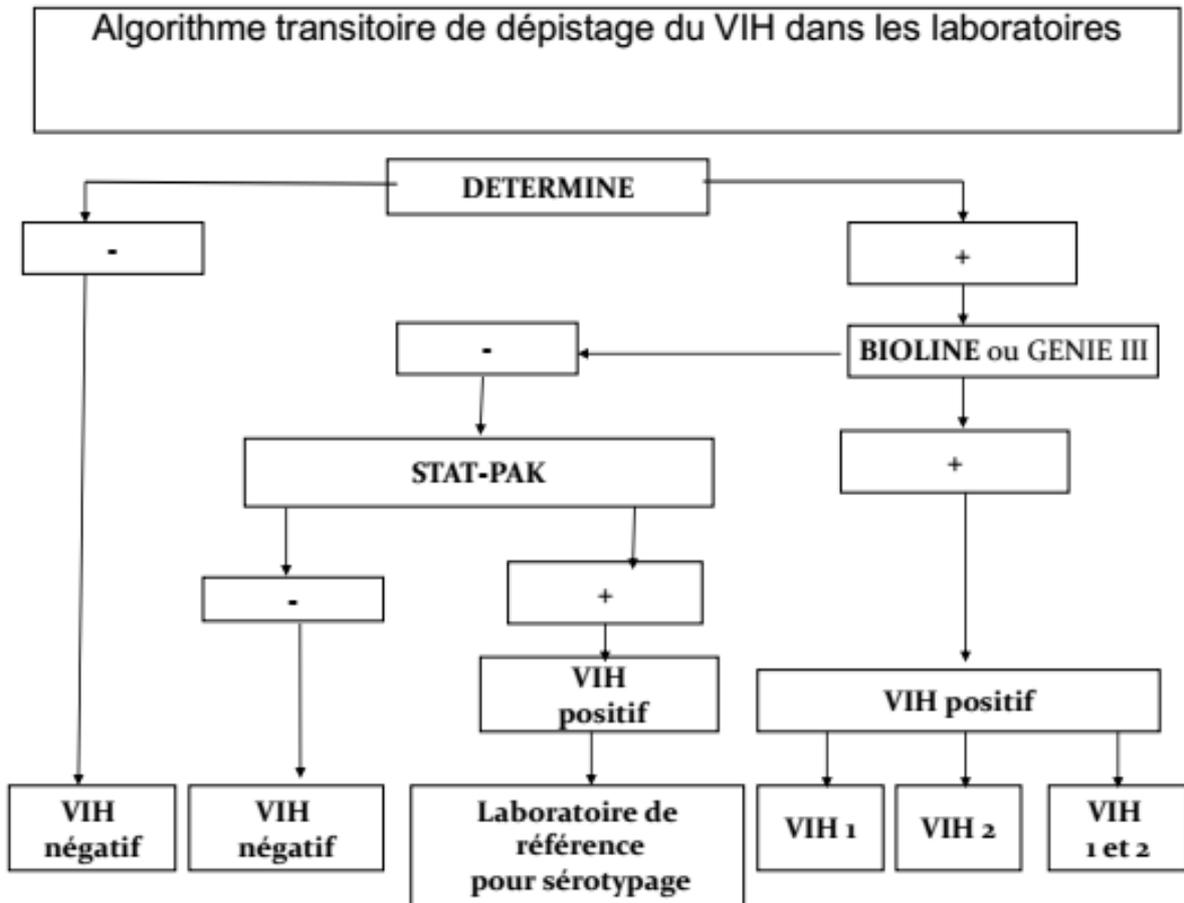


Figure 8 : Algorithme national de dépistage du VIH au laboratoire (PNLS, 2016)

### 3.1.3. Algorithme national de dépistage du VIH chez les enfants

Les anticorps maternels (immunoglobulines G) anti-VIH d'une mère infectée par le VIH, passent chez l'enfant à travers le placenta et persistent jusqu'à l'âge de 12 mois dans la majorité des cas. Ils peuvent être toujours retrouvés à 18 mois dans quelques cas (**Chantry *et al.*, 1995 ; McIntosh *et al.*, 1998**). Par conséquent le diagnostic précoce de l'infection par le VIH ne peut être établi que par les tests virologiques.

En Côte d'Ivoire, tout enfant exposé au VIH doit bénéficier d'un diagnostic précoce par biologie moléculaire (PCR ADN) à la 6<sup>ème</sup> semaine de vie pour une prise en charge précoce en cas de séropositivité (**PNLS, 2016**). La méthode utilisée est un test qualitatif ADN VIH par PCR en temps réel sur papier buvard (Dried Blood Spot (DBS)) (**PNLS, 2016**). L'algorithme national de dépistage du VIH chez les enfants est présenté dans la **figure 9**.

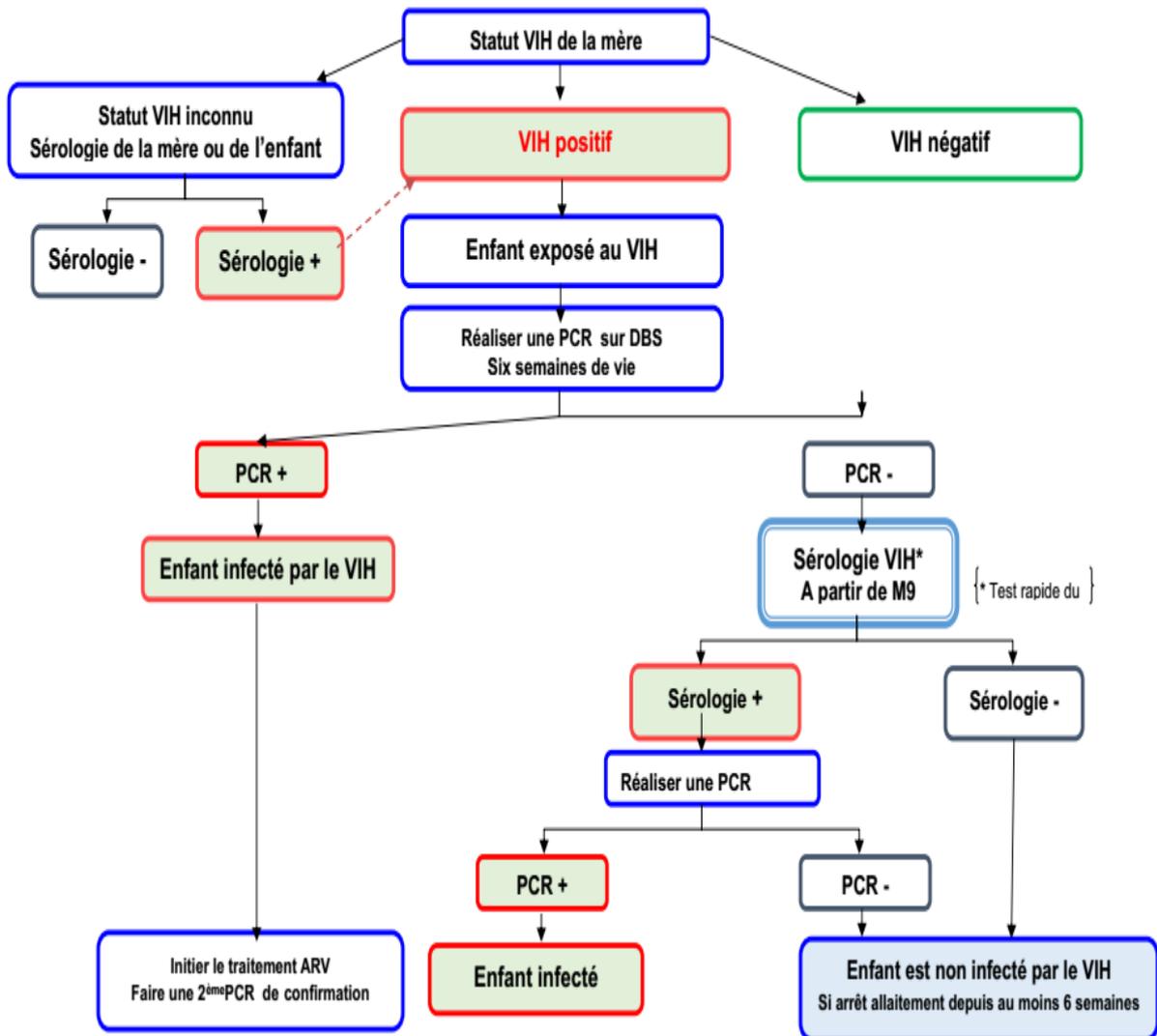


Figure 9 : Algorithme de dépistage du VIH chez le nourrisson (PNLS, 2016)

### 3.2. MISE EN ROUTE DU TAR ET LE SUIVI DE LA REPONSE

Les directives de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommandent une mise en route du TAR chez toutes personnes vivant avec le VIH, indépendamment de la numération des CD4 et du stade de la maladie (OMS, 2016). Par ailleurs, selon ces directives, la méthode de surveillance privilégiée pour établir le diagnostic de l'échec du TAR et confirmer ce type d'échec demeure la mesure de la charge virale (OMS, 2016).

Cependant, les directives de l'OMS varient en fonction des pays. Ainsi, en Côte d'Ivoire, dans le cadre de l'atteinte des objectifs de l'élimination de l'épidémie à VIH/SIDA d'ici 2030 et de la réalisation des objectifs 90-90-90 d'accélération de la réponse nationale au sida d'ici 2020, le Ministère de la Santé et de l'Hygiène Publique (MSHP) a adopté l'approche « Tester Traiter Tous » comme nouvelle stratégie de prise en charge des PVVIH (PNLS, 2018). Cette approche consiste à mettre sous traitement ARV toute personne dépistée positive au VIH sans condition d'éligibilité au traitement (PNLS, 2018). La charge virale reste l'outil préférentiel de surveillance de l'efficacité du TAR dans le suivi biologique des patients sous TAR et sera réalisée 6 mois après la mise sous traitement, à 12 mois puis tous les ans (PNLS, 2015) <sup>b</sup>.

## CHAPITRE 4 : PRISE EN CHARGE DE L'INFECTION A VIH PAR LES ARV EN COTE D'IVOIRE

Les ARV permettent d'améliorer la qualité de vie du patient. Ils bloquent la réplication du virus et favorisent l'élévation du taux de lymphocytes T CD4. Les combinaisons d'ARV recommandées pour la thérapie du VIH se composent de deux ou plusieurs catégories différentes de médicaments et sont appelées traitement antirétroviral hautement actif (HAART) (Acharya *et al.*, 2016).

### 4.1. CLASSES D'ARV DISPONIBLE EN COTE D'IVOIRE

Les différentes classes d'ARV approuvées par US-FDA sont les : INTI, INNTI, inhibiteurs de la protéase (IP), les inhibiteurs de l'intégrase, les inhibiteurs d'entrée et les inhibiteurs de fusion (Acharya *et al.*, 2016). Quatre classes approuvées par le ministère de la santé sont disponibles en Côte d'Ivoire. Il s'agit des INTI, des INNTI, des IP et des inhibiteurs d'intégrase (PNLS, 2015) <sup>a</sup>.

### 4.2. REGIME THERAPEUTIQUE DES PATIENTS EN COTE D'IVOIRE

En Côte d'Ivoire, le régime thérapeutique pour les patients infectés par le VIH-1 est constitué de trois lignes thérapeutiques définies par le ministère de la santé (PNLS, 2015) <sup>a</sup>.

Généralement, la première ligne utilise la combinaison de deux INTI et un INNTI pour le VIH-1 (PNLS, 2015) <sup>a</sup>. La deuxième ligne se compose de deux INTI et un inhibiteur de protéase boosté à la Ritonavir (IP/r) (PNLS, 2015) <sup>a</sup>. La troisième ligne (réservé au centre de référence) est fonction des molécules actives issues du TGR. Le traitement proposé se compose d'un IP/r, d'un inhibiteur d'intégrase et de deux INTI choisis en fonction de l'histoire thérapeutique du malade et du TGR (PNLS, 2015) <sup>a</sup>.

Pour les patients infectés par le VIH-2 ou doublement réactifs (VIH-1+2), la première ligne utilisée pour les patients VIH-1 n'est pas efficace à cause de la résistance naturelle du VIH-2 à l'ensemble des INNTI (Borrego *et al.*, 2012). Les patients commencent alors le traitement avec un protocole comprenant un IP/r. Le changement de ligne thérapeutique nécessite qu'ils soient adressés aux centres de référence (PNLS, 2015) <sup>a</sup>.

## CHAPITRE 5 : MECANISMES D’ACTION DES ARV ET RESISTANCE DU VIH

Actuellement, il n’existe pas de cure pour l’infection à VIH (**Iyidogan et Anderson, 2014**). Plus de deux décennies de recherche scientifique approfondie ont conduit à la découverte de 6 classes d’ARV avec différents mécanismes d’action (**Iyidogan et Anderson, 2014 ; Acharya et al., 2016**). Cependant, le virus a aussi développé des mécanismes de résistance à ces différentes classes (**Kurapati et al., 2016 ; Scherrer et al., 2016**).

### 5.1. INHIBITEURS NUCLEOSIDIQUES ET NUCLEOTIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INTI ET INTI)

La classe des INTI est la première qui a été approuvée par l’US-FDA (**Novotny et AL-Mutairi, 2016**). Ce sont des prodrogues qui nécessitent d’être phosphorylé en leur forme active triphosphate par les kinases cellulaires (**Mu et al., 2016 ; Novotny et AL-Mutairi, 2016**). Ces INTI-triphosphates (INTI-TP) sont des analogues structuraux des désoxyribonucléotides triphosphates naturels (dNTP) (**Wang et al., 2014 ; La et al., 2015**). Ainsi, durant l’élongation de la chaîne d’ADN viral, les INTI-TP entrent en compétition avec les dNTP naturels pour leur incorporation par la TI (**Wang et al., 2014**). Mais, parce que les INTI-TP n’ont pas de groupement 3’— hydroxyle (3’ — OH) sur le sucre ribose, un INTI-monophosphate (INTI-MP) qui a été incorporé à la chaîne d’ADN virale va inhiber l’action de la TI et bloquer l’élongation (**Boyer et al., 2012 ; Wang et al., 2014 ; Sahoo et al., 2016**).

Cependant, le virus peut lever l’inhibition en développant des résistances aux INTI. Ces résistances impliquent généralement deux principaux mécanismes : la diminution de l’affinité de la TI pour l’analogue et l’excision de l’analogue de la chaîne d’ADN en synthèse (**Esposito et al., 2012 ; Iyidogan et Anderson, 2014**).

Le premier mécanisme implique des mutations discriminatoires qui diminuent l’affinité de liaison de l’INTI à la TI, tout en conservant l’efficacité de liaison des dNTP naturels (**Iyidogan et Anderson, 2014**) (**Tableau II**). En conséquence, l’incorporation des INTI dans la chaîne d’ADN virale diminue et le virus continue à proliférer (**Iyidogan et Anderson, 2014**).

Le second mécanisme se caractérise par l’inversion de la réaction de polymérisation en vue de la restauration de la synthèse de l’ADN viral (**Iyidogan et Anderson, 2014**). Dans ce mécanisme, la TI utilise l’adénosine triphosphate (ATP) ou le pyrophosphate inorganique (PPi) comme co-substrat pour éliminer le monophosphate analogue incorporé qui bloquait l’élongation de la chaîne d’ADN (**Iyidogan et Anderson, 2014**).

Les INTI approuvés par l'US-FDA sont : la zidovudine (azidothymidine ; AZT ou ZDV), la didanosine (ddI), la stavudine (d4T), la lamivudine (3TC), l'abacavir (abacavir sulfate, ABC), l'emtricitabine (FTC) et le tenofovir disoproxil fumarate (tenofovir DF, TDF) (**Acharya et al., 2016**) (**Figure 10**).

Le TDF est le seul inhibiteur nucléotidique de la transcriptase inverse (INtTI). Il a déjà un groupement phosphate résistant à l'hydrolyse (**Mehellou et De Clercq, 2010 ; Esposito et al., 2012**). Par conséquent, il a besoin seulement de 2 étapes de phosphorylation pour être converti en dérivé actif (**Esposito et al., 2012**), ce qui réduit les étapes d'activation intracellulaire et permet une conversion plus rapide et plus complète en agent actif (**Esposito et al., 2012**).

**Tableau II** : Génotype de résistance des INTI et INtTI ([www.hivfrenchresistance.org](http://www.hivfrenchresistance.org))

	Mutations associées à la résistance	Mutations associées à une « résistance possible »
ZDV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F</li> <li>• Au moins 3 mutations parmi: M41L, D67N, K70R, L210W, K219Q/E</li> <li>• Q151M</li> <li>• Insertion au codon 69</li> </ul>	
3TC/FTC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K65R</li> <li>• M184V/I</li> <li>• Insertion au codon 69</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Q151M</li> </ul>
ABC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Au moins 3 mutations parmi: M41L, D67N, M184V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F</li> <li>• K65R</li> <li>• L74V/I</li> <li>• Y115F</li> <li>• Q151M</li> <li>• Insertion au codon 69</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 mutations parmi: M41L, D67N, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F</li> <li>• M184V/I</li> </ul>
TDF/TAF	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Au moins 4 mutations parmi: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F</li> <li>• K65R/E/N</li> <li>• Insertion au codon 69</li> <li>• K70E</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 mutations parmi: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V/Y/F</li> </ul>

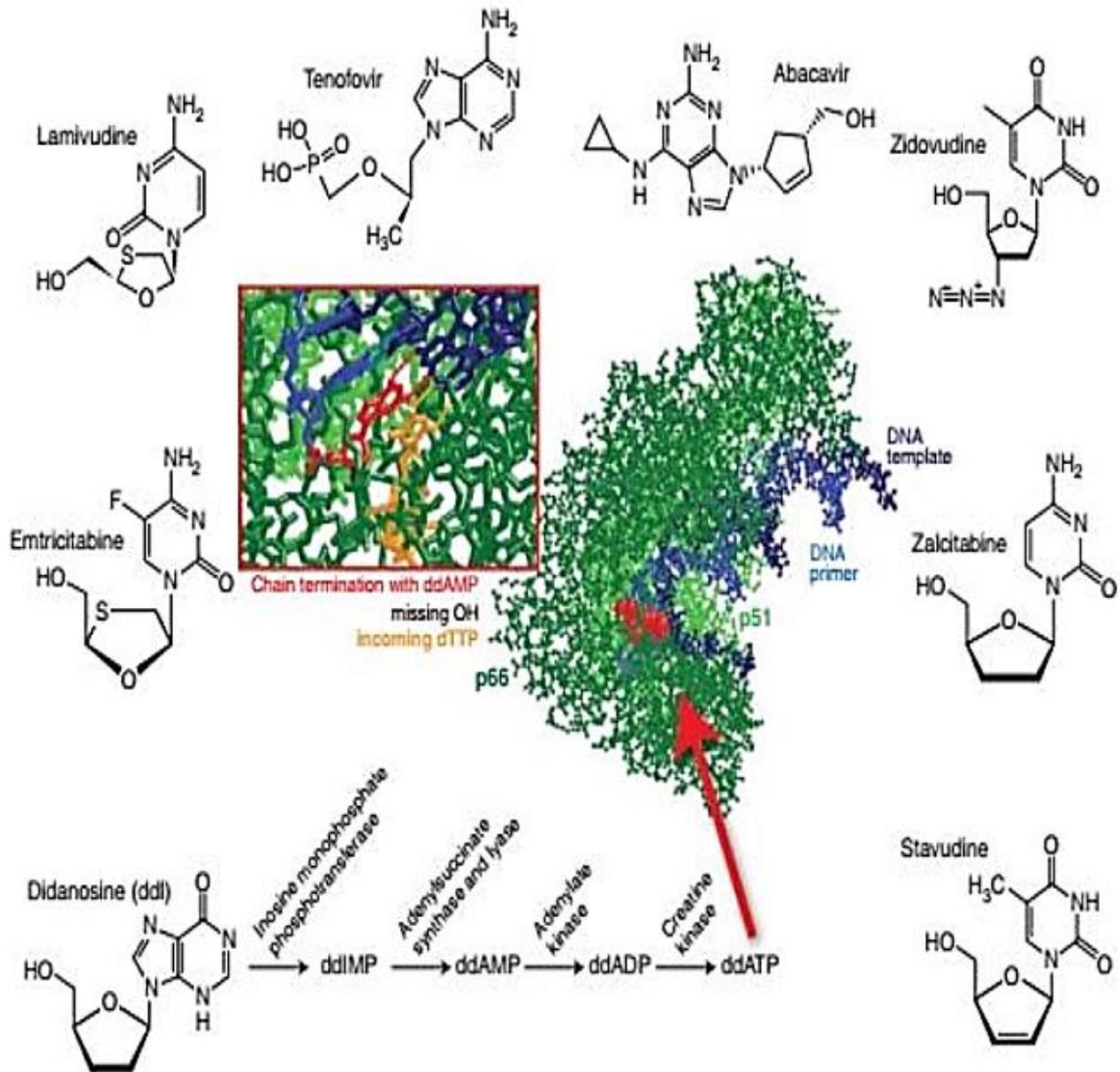


Figure 10 : Structure chimique des INTI (Arts et Hazuda, 2012)

## 5.2. INHIBITEURS NON NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRIPTASE INVERSE (INNTI)

À la différence des INTI, les INNTI ne nécessitent pas d'activation intracellulaire pour exprimer leurs activités pharmacologiques (**Esposito *et al.*, 2012 ; Iyidogan et Anderson, 2014**). Ce sont des inhibiteurs non compétitifs qui se fixent à une poche hydrophobe à proximité du site actif de la TI (**Sahoo *et al.*, 2016**). Cette fixation va entraîner un changement conformationnel dans le domaine actif enzymatique ce qui va bloquer l'interaction enzyme-substrat (**Acharya *et al.*, 2016 ; Sahoo *et al.*, 2016**). L'enzyme va donc perdre son activité de polymérisation et l'élongation de la nouvelle chaîne va s'arrêter (**Esposito *et al.*, 2012 ; Acharya *et al.*, 2016**).

Cependant, le virus peut développer des mécanismes de résistance impliquant des mutations (**Tableau III**). Ces mécanismes sont généralement au nombre de trois : perte ou changement des principales interactions hydrophobes, encombrement stérique et mutations à l'entrée de la poche hydrophobe (**Sarafianos *et al.*, 2009**).

Le premier mécanisme met en cause la mutation des résidus d'acides aminés situés dans le noyau hydrophobe de la poche de liaison de l'INNTI. La mutation de ces résidus entraîne une résistance significative par le biais de la perte des interactions du noyau aromatique avec les INNTI (**Sarafianos *et al.*, 2009**). Cela provoque des niveaux élevés de résistance à la première génération d'INNTI, qui sont relativement rigides (**Sarafianos *et al.*, 2009**). Les INNTI de seconde génération, cependant, sont conçues avec ce qu'on appelle « une flexibilité stratégique » qui leur permet de s'adapter aux mutations dans la poche de liaison hydrophobe (**Sarafianos *et al.*, 2009**). Cette flexibilité intrinsèque rend possibles des interactions compensatoires avec la TI (**Sarafianos *et al.*, 2009**).

Le second mécanisme se traduit par la mutation des résidus d'acides aminés présents dans la région centrale de la poche de liaison de l'INNTI. La mutation de ces résidus cause des niveaux élevés de résistance aux INNTI. Certaines de ces mutations vont conférer la résistance en changeant la forme de la poche hydrophobe (l'acide aminé est sous la forme  $\beta$  au lieu d'être sous la forme  $\gamma$ ), tandis que d'autres vont provoquer son renflement (**Sarafianos *et al.*, 2009**).

Le troisième mécanisme implique des résidus d'acides aminés situés à la surface de l'entrée de la poche hydrophobe. Leurs mutations causent des résistances en interférant avec l'entrée des INNTI dans la poche (**Sarafianos *et al.*, 2009**).

Les INNTI approuvés par l'US-FDA sont : la nevirapine (NVP), l'éfavirenz (EFV), la delavirdine (DLV) pour la première génération, la rilpivirine (RPV), l'étravirine (ETR) pour la deuxième génération (Usach *et al.*, 2013 ; Vaidya *et al.*, 2016) et la doravirine (DOR) qui est une nouvelle molécule récemment approuvée (Figure 11) (Wang *et al.*, 2018).

**Tableau III : Génotype de résistance des INNTI (www.hivfrenchresistance.org)**

	Mutations associées à la résistance	Mutations associées à une « résistance possible
EFV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• L100I</li> <li>• K101E</li> <li>• K103H/N/S/T</li> <li>• V106M</li> <li>• E138K</li> <li>• Y181C/I</li> <li>• Y188C/L</li> <li>• G190A/C/E/Q/S/T/V</li> <li>• P225H</li> <li>• M230L</li> </ul>	
NVP	<ul style="list-style-type: none"> <li>• A98S (Pour le sous type C du VIH-1 uniquement)</li> <li>• L100I</li> <li>• K101E</li> <li>• K103H/N/S/T</li> <li>• V106A/M</li> <li>• Y181C/I</li> <li>• Y188C/H/L</li> <li>• G190A/C/E/Q/S/T/V</li> <li>• M230L</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• E138K</li> </ul>
ETR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Au moins 3 d'entre eux: V90I, A98G, L100I, K101E/H/I/P/R, V106I, V179D/F/I/L/M/T, G190A/S, M230L</li> <li>• E138K</li> <li>• Y181C/I/V</li> <li>• H221Y</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 mutations parmi: V90I, A98G, L100I, K101E/H/I/P/R, V106I, V179D/F/I/L/M/T, G190A/S, M230L</li> <li>• E138A/G/Q/R/S</li> </ul>
RPV	<ul style="list-style-type: none"> <li>• K101E/P</li> <li>• E138A/G/K/Q/R/S</li> <li>• V179L</li> <li>• Y181C/I/V</li> <li>• Y188L</li> <li>• F227C</li> <li>• H221Y</li> <li>• M230I/L/V</li> <li>• L100I + K103N/S</li> <li>• L100I + K103R + V179D</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• V179D</li> </ul>
DOR	<ul style="list-style-type: none"> <li>• V106A/M</li> <li>• Y188L</li> <li>• G190S</li> <li>• M230L</li> <li>• L100I + K103N</li> <li>• K103N + Y181C</li> <li>• K103N + P225H</li> </ul>	

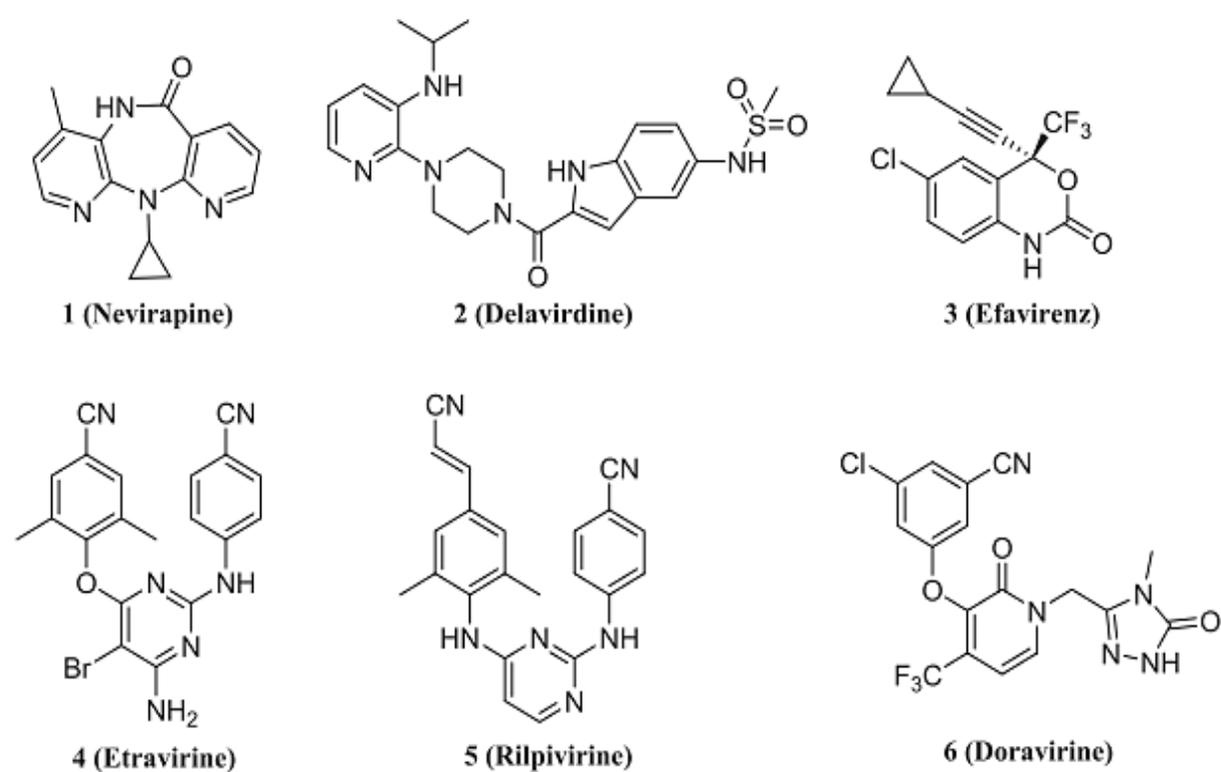


Figure 11 : Structure chimique des INNTI (Wang et al., 2018)

### 5.3. INHIBITEURS DE LA PROTEASE

Les IP sont des inhibiteurs compétitifs de la protéase (**Acharya et al., 2016**). Ce sont des analogues de substrat. Leur structure chimique ressemble à celle des précurseurs (*gag* et *gag-pol*), mais les liaisons peptidiques normalement reconnues et clivées par la protéase ont été remplacées par des liaisons non clivables par cette dernière. Ainsi, les IP bloquent une étape essentielle dans le processus de maturation virale (**Baxter et al., 2016**). Pour ce faire, ils se fixent au domaine catalytique actif de l'enzyme et inhibent sa fonctionnalité (**Acharya et al., 2016**).

L'utilisation optimale des IP nécessite de comprendre les origines et les mécanismes de résistance développés par le VIH. En effet, la résistance est causée par une perte d'affinité des IP pour la protéase, alors que la protéase maintient sa capacité de liaison avec ses substrats normaux (**Acharya et al., 2016**). Cette perte d'affinité est causée par des mutations (**Tableau IV**) qui peuvent se produire dans le site actif de la protéase ou aux alentours (**Baxter et al., 2016**). Ces mutations peuvent également se produire dans les zones de clivage ou de non clivage de *gag*, en dehors du domaine du gène de la protéase (**Baxter et al., 2016**).

Les mutations se produisant dans le site actif de la protéase sont appelées mutations primaires ou majeures et ont un grand impact sur la résistance aux IP (**Wensing et al., 2015 ; Baxter et al., 2016**). Ils entraînent un changement conformationnel qui perturbe la liaison hydrogène entre les IP et les résidus d'acides aminés de la protéase (**Baxter et al., 2016**).

En revanche, les mutations impliquant des résidus d'acide aminé se produisant en dehors du site actif sont nommées mutations secondaires ou mineures (**Wensing et al., 2015 ; Baxter et al., 2016**). Ces mutations ne causent pas de résistance aux IP, mais elles augmentent le degré de résistance aux IP en association avec les mutations primaires (**Baxter et al., 2016**). Cependant, leur accumulation peut entraîner une résistance à certains IP (**Baxter et al., 2016**).

Les IP approuvés par l'US-FDA sont : le saquinavir (SQV), le ritonavir (RTV), l'indinavir (IDV), le nelfinavir (NFV), le fosamprenavir (FPV), le lopinavir (LPV), l'atazanavir (ATZ), le tipranavir (TPV) et le darunavir (DRV) (Figure 12) (**Arts et Hazuda, 2012**).

**Tableau IV : Génotype de résistance des IP (www.hivfrenchresistance.org)**

	<b>Mutations associées à la résistance</b>	<b>Mutations associées à une « résistance possible »</b>
LPV/r	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Au moins 4 mutations parmi: L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M</li> <li>• I47A</li> <li>• L76V</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 mutations parmi: L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M</li> </ul>
ATV/RTV 300/100 mg QD	<ul style="list-style-type: none"> <li>• I50L</li> <li>• N88S</li> <li>• Au moins 3 mutations parmi: L10F/I/V, G16E, L33F/I/V, M46I/L, D60E, A71V/T, I84V, I85V, L90M</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 mutations parmi: L10F/I/V, G16E, L33F/I/V, M46I/L, D60E, A71V/T, I84V, I85V, L90M</li> </ul>
TPV/RTV 500/200 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Au moins un score of + 3*: M36I/L/V – F53L/W/Y + Q58E + H69I/K/N/Q/R/Y + L89I/M/R/T/V</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• un score de + 2*: M36I/L/V – F53L/W/Y + Q58E + H69I/K/N/Q/R/Y + L89I/M/R/T/V [6, 15]</li> </ul>
DRV/RTV** 600/100 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Au moins 4 mutations parmi: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L/M, T74P, L76V, I84V, L89V</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 3 mutations parmi: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L/M, T74P, L76V, I84V, L89V</li> </ul>
800/100 mg QD	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 mutations parmi: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L/M, T74P, L76V, I84V, L89V</li> </ul>	

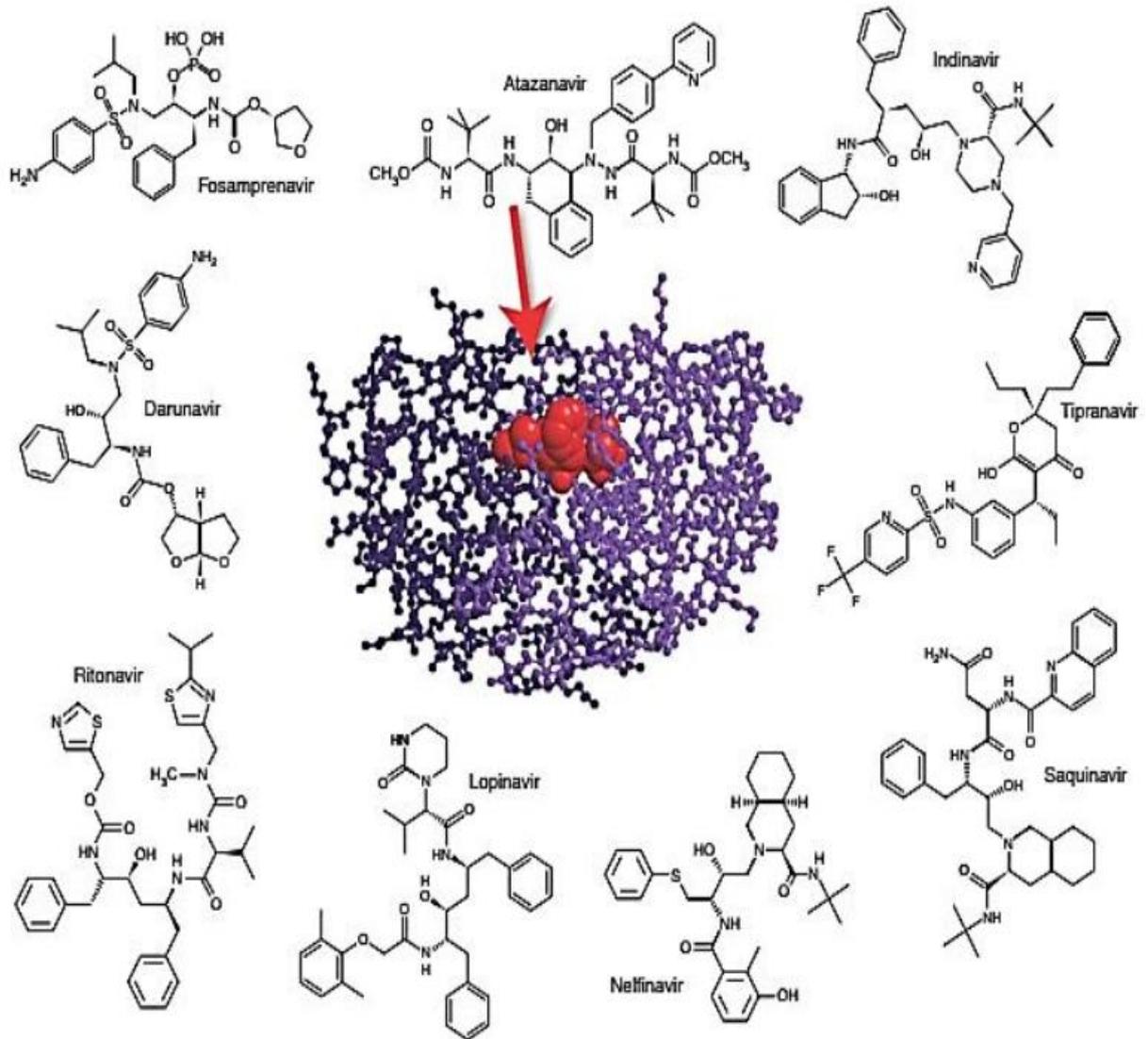


Figure 12 : Structure chimique des IP (Arts et Hazuda, 2012)

#### 5.4. INHIBITEURS D'INTEGRASE

Les inhibiteurs d'intégrase sont conçus pour bloquer l'action de l'intégrase, une enzyme virale qui catalyse l'intégration chromosomique de l'ADN viral double brin nouvellement synthétisé dans l'ADN génomique de l'hôte (Musmade *et al.*, 2012 ; Sachithanandham *et al.*, 2016). Pour ce faire, les fonctions de traitement, de transfert et d'intégration de l'intégrase (Quashie *et al.*, 2012 ; Zhang *et al.*, 2016 ; Sachithanandham *et al.*, 2016) seront inhibées par les inhibiteurs d'intégrase par leur fixation sur le complexe ADN viral-intégrase au niveau du site actif de l'intégrase. Cependant, des mutations (Tableau V) au niveau de ce site entraînent un changement conformationnel qui diminue l'affinité de l'inhibiteur.

Ainsi, une ou deux mutations majeures peuvent entraîner des résistances aux inhibiteurs de première génération approuvés par l'US-FDA, à savoir le raltegravir (RAL) et l'elvitegravir (EVG) (Wainberg et Han, 2015 ; Chang *et al.*, 2016). Le dolutegravir (DTG) qui est un inhibiteur de deuxième génération présente une barrière de résistance plus élevée (Wainberg et Han, 2015). Deux nouveaux inhibiteurs d'intégrase, Cabotegravir (CAB) et Bictegravir (BIC), sont actuellement en phase finale d'essais cliniques (Smith *et al.*, 2018) (Figure 13).

**Tableau V : Génotype de résistance des inhibiteurs d'intégrase (www.hivfrenchresistance.org)**

	Mutations associées à la résistance	Mutations associées à une « résistance possible »
RAL	<ul style="list-style-type: none"> <li>• T66K</li> <li>• E92Q</li> <li>• G118R</li> <li>• F121Y</li> <li>• G140A/S</li> <li>• Y143A/C/G/H/R/S</li> <li>• Q148E/G/H/K/R</li> <li>• V151L</li> <li>• N155H/S/T</li> <li>• E157Q</li> <li>• S230R</li> <li>• R263K</li> <li>• L74F + V75I</li> </ul>	
EVG	<ul style="list-style-type: none"> <li>• T66I/A/K</li> <li>• E92Q</li> <li>• T97A</li> <li>• G118R</li> <li>• F121Y</li> <li>• E138K</li> <li>• G140C/S</li> <li>• Y143A/C/G/H/R/S</li> <li>• P145S</li> <li>• S147G</li> <li>• Q148H/R/K</li> <li>• V151L</li> <li>• N155H/S/T</li> <li>• E157Q</li> <li>• S230R</li> <li>• R263K</li> <li>• L74F + V75I</li> </ul>	
DTG 50 mg BID	<ul style="list-style-type: none"> <li>• G118R</li> <li>• F121Y</li> <li>• V151L</li> <li>• S153F/Y</li> <li>• R263K</li> <li>• T66K + L74M</li> <li>• E92Q + N155H</li> <li>• Q148H/K/R + au moins 2 mutations parmi: L74I ou E138A/K/T ou G140A/C/S</li> <li>• Q148H/K/R + N155H</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• T66K</li> <li>• Q148H/K/R + 1 mutation parmi: L74I ou E138A/K/T ou G140A/C/S</li> </ul>
50 mg QD	<ul style="list-style-type: none"> <li>• G118R</li> <li>• F121Y</li> <li>• E138A/K/T</li> <li>• G140A/C/S</li> <li>• Q148H/K/R</li> <li>• V151L</li> <li>• S153F/Y</li> <li>• N155H</li> <li>• S230R</li> <li>• R263K</li> <li>• T66K + L74M</li> <li>• L74I + E92Q</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• T66K</li> <li>• E157Q</li> </ul>
CAB	<ul style="list-style-type: none"> <li>• G118R</li> <li>• F121Y</li> <li>• E138A/K/T</li> <li>• G140A/C/S</li> <li>• Q148H/K/R</li> <li>• V151L</li> <li>• S153F/Y</li> <li>• N155H</li> <li>• S230R</li> <li>• R263K</li> <li>• T66K + L74M</li> <li>• L74I + E92Q</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• T66K</li> <li>• E157Q</li> </ul>
BIC	<ul style="list-style-type: none"> <li>• G118R</li> <li>• F121Y</li> <li>• E138A/K/T</li> <li>• G140A/C/S</li> <li>• Q148H/K/R</li> <li>• V151L</li> <li>• S153F/Y</li> <li>• N155H</li> <li>• S230R</li> <li>• R263K</li> <li>• T66K + L74M</li> <li>• L74I + E92Q</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• T66K</li> <li>• E157Q</li> </ul>

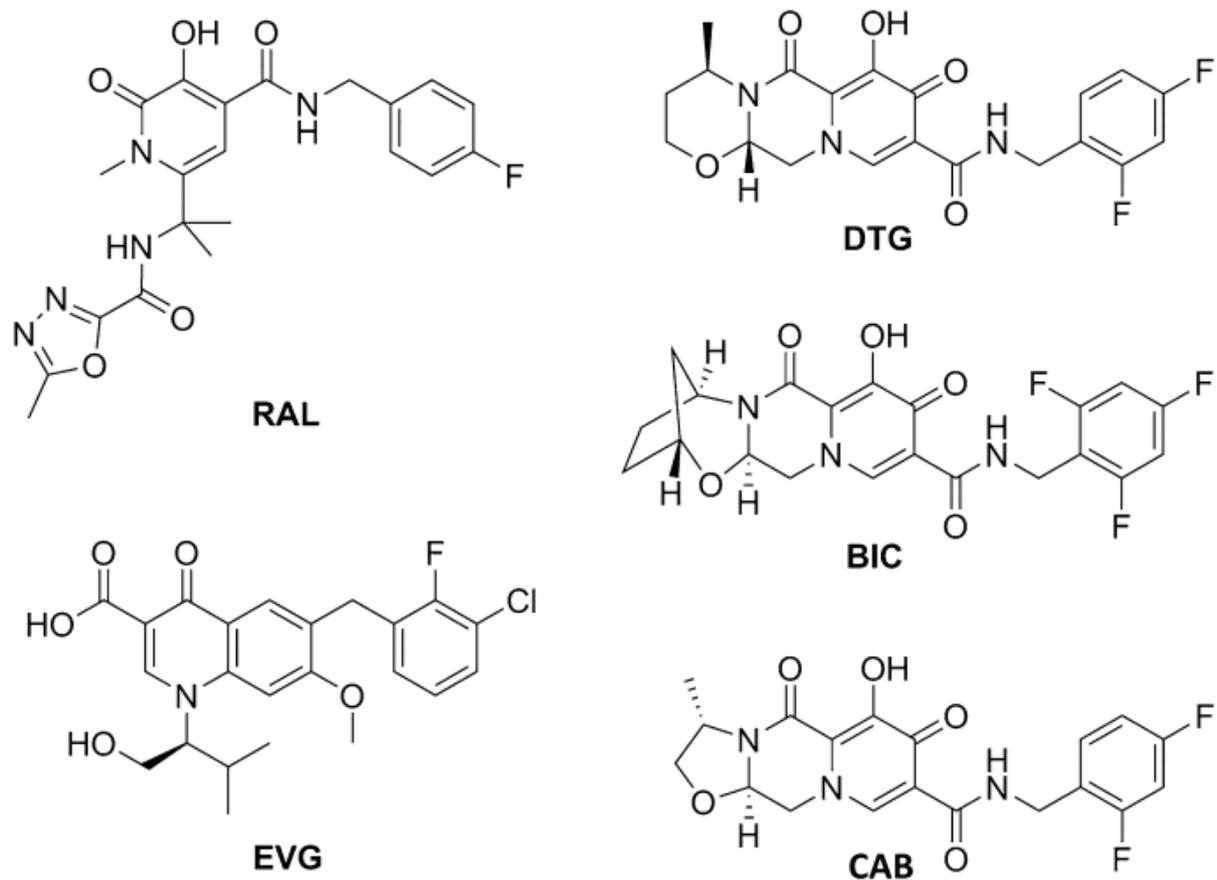


Figure 13 : Structure chimique des inhibiteurs d'intégrase (Smith et al., 2018)

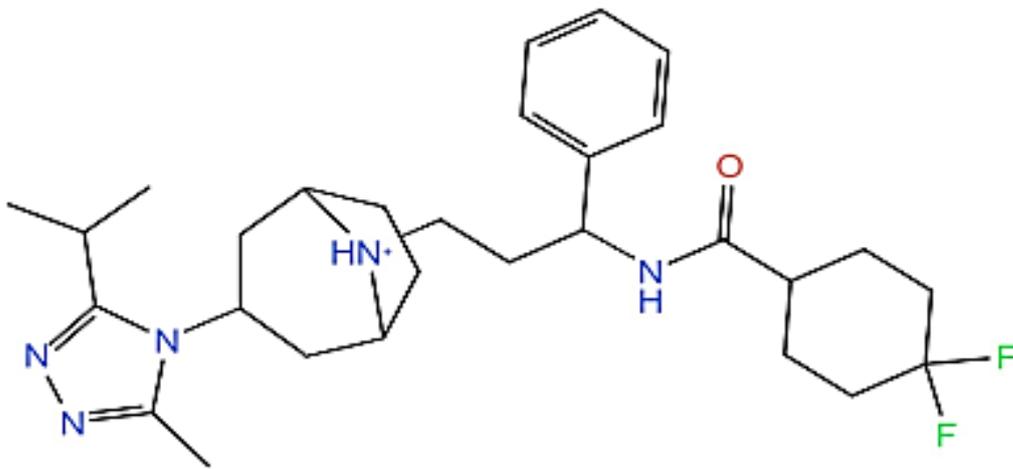
Légende : RAL : Raltegravir  
 EVG : Elvitegravir  
 DTG : Dolutegravir  
 CAB : Cabotegravir  
 BIC : Bictegravir

### 5.5. INHIBITEURS D'ENTREE

Le seul antagoniste du corécepteur CCR5 du VIH-1 approuvé par l'US-FDA est le Maraviroc (MVC) (**Figure 14**) (**Bon *et al.*, 2013 ; Vaidya *et al.*, 2016**). C'est un inhibiteur non compétitif qui inhibe l'entrée du VIH-1 dans la cellule hôte par sa liaison dans la poche hydrophobe du CCR5, altérant ainsi la conformation des boucles extracellulaires du CCR5 de sorte qu'ils ne sont plus reconnus par la gp120 (**Potard *et al.*, 2015 ; Acharya *et al.*, 2016 ; Borm *et al.*, 2016**).

Le corécepteur CCR5 étant une protéine de la cellule hôte, elle ne subira pas de mutation en réponse à la thérapie avec le Maraviroc (**Ghebremedhin, 2012**). Cependant, l'adaptation virale au Maraviroc pourrait impliquer des mutations dans la protéine d'enveloppe virale et la modification de la dépendance au corécepteur CCR5 (**Ghebremedhin, 2012**).

Ainsi, la résistance au Maraviroc peut se produire soit par des mutations qui permettent au virus d'utiliser le corécepteur CXCR4 (changement de tropisme) soit par des mutations qui lui permettent de continuer à utiliser le corécepteur CCR5, malgré la présence du Maraviroc (**Ghebremedhin, 2012**).



*Figure 14 : Structure chimique du Maraviroc (Salmas et al., 2015)*

## 5.6. INHIBITEURS DE FUSION

L'enfuvirtide (T20) (**Figure 15**) est le seul inhibiteur de fusion approuvé par l'US-FDA (**Vaidya et al., 2016**). C'est un polypeptide synthétique de 36 acides aminés qui mime une portion de la région répétée HR2 (HR : heptat repeat) de la gp41 (**Marcelin et Calvez, 2007 ; He, 2013**). De par son homologie de séquence avec une région de HR1 de la gp41, il se lie à cette dernière, empêchant les changements conformationnels nécessaires à la fusion des membranes virales et cellulaires (**Marcelin et Calvez, 2007 ; Andrianov et al., 2016**).

La résistance à cette molécule est liée à l'acquisition par le virus des mutations (**Tableau VI**) dans une région de HR-1 de la gp41 allant des acides aminés 36 à 45 (**Marcelin et Calvez, 2007 ; Yeni, 2008**).

**Tableau VI : Génotype de résistance des inhibiteurs de fusion ([www.hivfrenchresistance.org](http://www.hivfrenchresistance.org))**

	Mutations associées à la résistance
ENF T20	<ul style="list-style-type: none"><li>• G36A/D/E/S/V</li><li>• V38A/E/K/M</li><li>• Q40H/K/P/T</li><li>• N42D/T</li><li>• N43D/H/K/S</li><li>• L44M</li><li>• L45Q/M</li></ul>

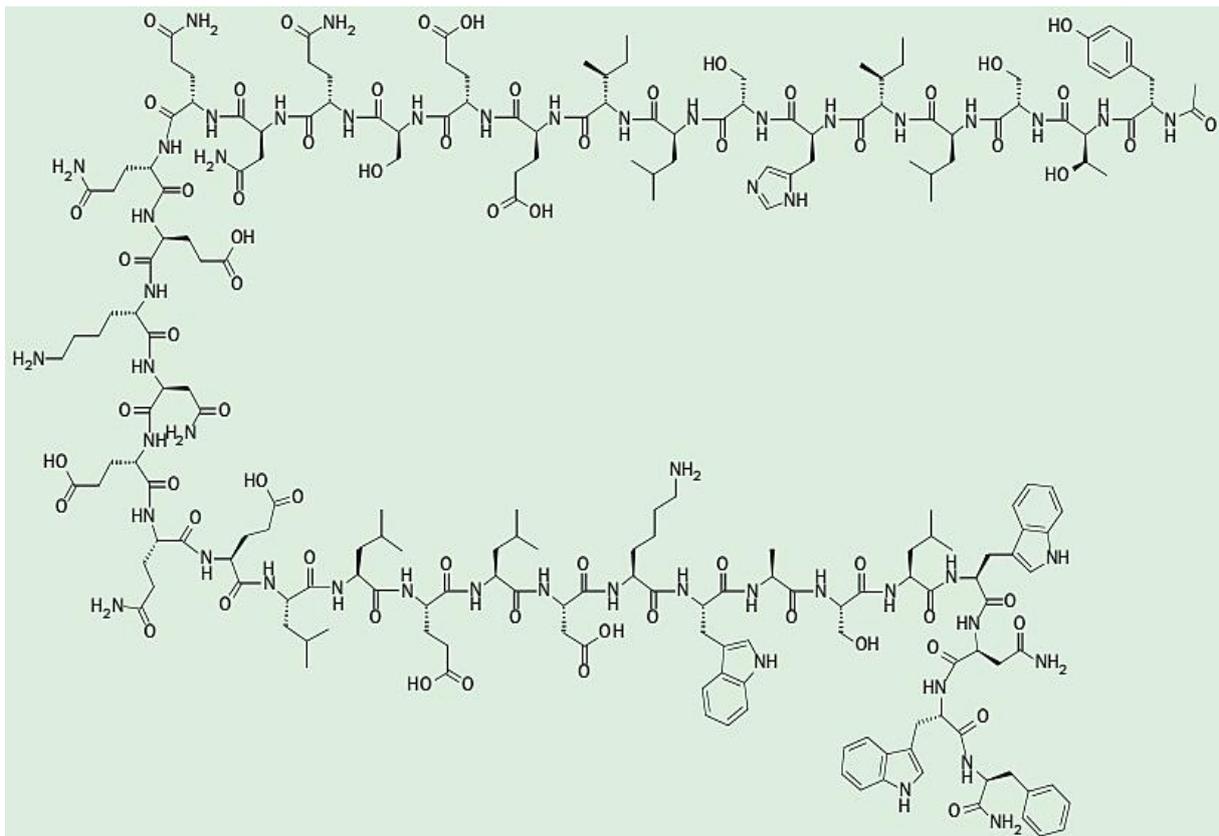


Figure 15 : Structure chimique de l'enfuvirtide (Cooper et Lange, 2004)

## CHAPITRE 6 : METHODES D'EVALUATION DES RESISTANCES AUX ARV

Les tests de détection de la résistance du VIH aux ARV permettent aux cliniciens d'améliorer les résultats du traitement antirétroviral (**Hanna et D'Aquila, 2001 ; Pattery et al., 2012**). Deux principales approches sont utilisées pour évaluer la résistance : les tests génotypiques et les tests phénotypiques (**Paking et al., 2002**).

### 6.1. TESTS GENOTYPIQUES

Le test génotypique est la méthode la plus couramment utilisée pour détecter les isolats résistants du VIH-1 et constitue l'une des premières applications du séquençage de gènes à des fins cliniques (**Shafer et al., 2002**). Ce test cible les régions du génome du VIH qui codent les enzymes et protéines virales essentielles à la réplication du virus ; ces régions sont les cibles préférentielles des molécules antirétrovirales (**Pattery et al., 2012**). Cette méthode est basée sur le séquençage classique selon la méthode de Sanger (**Sanger et al., 1977 ; Brenner, 2014**). Son but est de rechercher dans le gène correspondant à la cible de l'antirétroviral, des mutations connues comme associées à la résistance (**Hanna et D'Aquila, 2001**). Il s'agit généralement de l'ensemble de la protéase (codon 1 à 99) et d'une partie de la TI (codon 1-40 à 247-335) mais aussi en fonction du TAR, d'une partie de l'intégrase (codon 1 à 160) (gène pol) et de la gp41 (**Arts et al., 2012**). De plus, en cas de prescription de Maraviroc (antagoniste CCR5), un test génotypique qui analyse la séquence de la boucle V3 de la gp120 (gène env) est demandé pour confirmer que le VIH du patient utilise le corécepteur CCR5 pour entrer dans la cellule hôte plutôt que le CXCR4 (**Swenson et al., 2013**).

L'ARN plasmatique extrait de la population de virus se reproduisant activement est le matériau de choix pour les tests génotypiques de routine (**Vicenti et al., 2007**). L'ARN viral est d'abord rétrotranscrit en ADN puis selon la région du génome qui est ciblée, les gènes sont amplifiés spécifiquement par PCR. Les produits de PCR subissent une électrophorèse sur des séquenceurs automatiques (**Clutter et al., 2016**). Les séquences obtenues sont alignées sur la référence du VIH-1 (HIV-1 HXB2, numéro accession GenBank : K03455) pour caractériser la nature des codons d'intérêt et préciser s'il s'agit de souches « sauvages » (codon sans mutation), de souches portant une mutation de résistance ou de polymorphisme et de doubles populations (présence du codon sauvage et de mutation). De plus, il permet aussi de caractériser les sous types du VIH-1.

Il existe des Kits commerciaux approuvés par la US-FDA pour le génotypage (Viroseq®, Abbott ; Thermofisher) et de nombreux protocoles « maisons » (**Inzaule et al., 2017 ;**

**Rosemary et al., 2018**) basés sur les recommandations de l'Agence Nationale de Recherche sur le Sida (ANRS, [www.hivfrenchresistance.org/](http://www.hivfrenchresistance.org/)). Pour l'analyse des séquences, outre les outils d'analyse et d'interprétation accompagnant les trousseaux commerciaux de tests génotypiques, d'autres algorithmes cliniquement validés et régulièrement mis à jour sont disponibles en ligne. Ce sont des algorithmes d'accès libre, parmi lesquels, les plus utilisés sont les algorithmes du groupe AC11 de l'ANRS, de l'Université de Stanford, et Rega. L'International AIDS Society (IAS) fait une revue annuelle globale des publications traitant de la résistance du VIH pour mettre à jour la liste consensuelle des mutations associées à la résistance.

Un facteur limitant de cette technique est la valeur de la charge virale plasmatique inférieure à 1000 copies/ml. À ce seuil la technique manque de sensibilité. L'autre limite de cette technique est qu'elle ne détecte pas les mutations minoritaires (<20 % des variants) (**Nasir et al., 2017**). Il existe des approches différentes pour détecter des variants minoritaires, comme le clonage moléculaire ou des techniques de séquençage nouvelles générations (NGS «New Generation Sequencing») telle que la technologie de pyroséquençage, qui permettent d'étudier les souches virales minoritaires d'environ 1 % mais elles sont réservées aux protocoles de recherche.

### 6.2 TESTS PHENOTYPIQUES

Contrairement aux tests génotypiques du VIH-1, le phénotypage est un test *in vitro*, qui mesure la capacité du virus à se répliquer en présence de médicaments et fournit ainsi une mesure directe de la sensibilité aux médicaments (**Qari et al., 2002 ; Bronze et al., 2012**). La comparaison des concentrations de médicaments requises pour inhiber 50 % (IC<sub>50</sub>) de la réplication du virus du patient avec l'IC<sub>50</sub> d'un virus de référence sensible aux médicaments est utilisée pour mesurer les réductions de sensibilité aux médicaments (**Qari et al., 2002**).

Les tests phénotypiques classiques nécessitent l'utilisation d'isolats du VIH-1, qui peuvent être obtenus en cultivant des cellules mononucléées du sang périphérique ou du plasma. Les nouveaux tests développés par des firmes (Antivirogram®, Virco; PhenoSense®) utilisent des virus recombinants (**Bronze et al., 2012 ; Puertas et al., 2012**). En effet, un virus VIH-1 artificiel est produit par l'insertion de la région du gène *pol* du virus du patient dans le génome d'un virus adapté à la croissance sur lignée cellulaire (**Puertas et al., 2012**). Ce virus recombinant est cultivé en présence d'une concentration croissante de médicaments et le taux de réplication *in vitro* est mesuré. En utilisant ces techniques, le phénotypage a l'avantage de

fournir des résultats quantitatifs (CI<sub>50</sub>) et permet de prendre en compte toutes les mutations présentes in vivo sur les gènes étudiés.

Ce sont des techniques automatisées, assez chères, réalisables uniquement dans un laboratoire de confinement de niveau 3 selon la Haute Autorité de Santé (HAS) (HAS, 2009). En pratique clinique, il est plus simple de réaliser des tests génotypiques.

## **DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES**

### **DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES**

#### **CHAPITRE 1 : MATERIEL**

##### 1.1. CADRE ET SITE DE L'ETUDE

Notre étude a été initiée par le laboratoire de biochimie de l'UFR sciences médicales (UFR-SM) de l'Université Félix HOUPHOUËT-BOIGNY (UFHB) d'Abidjan et a été réalisée dans l'unité de biologie moléculaire du laboratoire de virologie du Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan (CIRBA).

Les patients de cette étude ont été recrutés entre 2012 et 2017, dans le cadre de différents projets de recherches thématiques de l'unité de biologie moléculaire du laboratoire de virologie du CIRBA.

En effet, le CIRBA est un centre de référence pour la prise en charge des personnes vivant avec le VIH (PVVIH). Il a été créé le 8 janvier 1996 et sa gestion est assurée par la Fondation Mondiale Recherches et Prévention SIDA (FMRPS) dirigé par le professeur Luc Montagnier (Prix Nobel de Médecine 2008). Depuis sa création, la direction du CIRBA est assurée par le docteur Henri Chenal.

Les activités du CIRBA concernent principalement le suivi clinique et biologique des PVVIH, la mise à disposition des ARV et des médicaments contre les maladies opportunistes, la recherche clinique et biologique et la formation.

##### 1.2. POPULATION D'ETUDE

Il s'agit de deux cohortes. La première cohorte était constituée de 61 enfants issus d'une cohorte nationale prospective au CIRBA de 2012 à 2013 regroupant 260 enfants infectés par le VIH-1. La seconde cohorte était constituée de 182 patients adultes suivis en routine au CIRBA de juin 2015 à juillet 2017. Au total, nous avons disposé d'une cohorte de 243 patients.

##### 1.3. ECHANTILLONS BIOLOGIQUES

Le sang total et le plasma étaient les échantillons biologiques utilisés pour cette étude.

##### 1.4. MATERIEL TECHNIQUE

Le matériel technique utilisé dans ce travail est essentiellement composé de congélateurs (- 80 °C et -20 °C) pour la conservation des échantillons, des extraits, des amplicons et des

réactifs, de hôtes à flux laminaire (SterilGARD®III, The Baker Company, Sanford, USA) pour protéger la manipulation et le manipulateur, de centrifugeuse de marque Megafuge 1.0R (Heraeus Instruments) pour l'obtention du plasma, de centrifugeuse réfrigérée de marque SiGmA 2K15 pour la concentration et l'extraction de l'ARN viral, de thermocycleur 9700 (Applied Biosystems) pour l'amplification des gènes ciblés, de centrifugeuse eppendorf 5424 pour la purification des produits de la PCR (Polymerase Chain Reaction) « nichée », de centrifugeuse réfrigérée de marque SiGmA 4K15 pour la purification de la réaction de séquence, de dispositif électrophorèse sur gel d'agarose pour la migration des amplicons de la PCR « nichée », de four à micro-onde pour la préparation du gel d'Agarose, de transilluminateur (Spectroline, Westbury, NewYork, USA) pour la révélation des échantillons positifs sous lumière ultraviolette (UV), de séquenceur Genetic Analyser 3130 (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France) pour la détermination des séquences nucléotidiques, de Facs Calibur (Becton Dickinson) pour la détermination du taux de lymphocyte T CD4, de Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan (CAP/CTM) (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne) pour l'extraction automatique et la quantification de l'ARN VIH plasmatique, de vortex-Genie 2 pour homogénéiser les solutions, de spectrolinker XL-1500 (Spectronics corporation, Westbury, NewYork, USA ) pour stériliser le matériel par rayon ultraviolet (UV) et de balance pour peser les composants du tampon TBE (Tris-Borate-EDTA) (1X).

### 1.5. PETITS MATERIELS DE LABORATOIRE

Le petit matériel de laboratoire est composé de pipette multicanaux, de micropipettes et embouts à filtre (5 µL, 10 µL, 20 µL, 100 µL, 200 µL, 1 000 µL), de pipette électronique (50 µl), de tubes falcons (15 mL et 50 mL), de tubes eppendorfs (1,5 mL), de cryotubes (2 mL), de microtubes de PCR (0,2 mL) (Applied Biosystems), de strips (Applied Biosystems), de plaques de réactions de séquençage (MicroAmp Optical 96-well Reaction Plate, Applied Biosystems), de MicroAmp Optical Adhesive Film, de rouleau de papier aluminium, de plaques et supports de plaque de PCR.

### 1.6. REACTIFS ET PRODUITS CHIMIQUES

Les réactifs utilisés sont composés de kit d'extraction de l'ARN : High Pure Viral RNA extraction kit (Qiagen, Courtaboeuf, France), de kit de RT-PCR : Titan One Tube RT-PCR Kit (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne), de kit de PCR « nichée » : Expand High Fidelity PCR System (Roche Diagnostics), de kit de purification de produit de PCR : Qiaquick PCR Purification Kit (250) (Qiagen), de kit de réaction de séquence : Big Dye Terminator v3.1

(Applied Biosystems, Courtaboeuf, France) et de kit Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-Test, v2.0.

Les produits chimiques utilisés sont composés de bouteille d'éthanol absolu (qualité biologie moléculaire), de tube de formamide (Applied Biosystems), de tube de POP-7 (Performance Optimized Polymer) (Applied Biosystems), de tampon 10X contenant de l'EDTA (Applied Biosystems), de bouteille de Tris (trishydroxyméthylaminométhane) (SIGMA), de bouteille d'acide borique (SIGMA), bouteille d'EDTA (SIGMA), bouteille d'Agarose (SIGMA), de bouteille de Bromure d'éthidium (BET) et de bouteille de bleu de bromophénol, de réactif Tritest CD3-FITC/CD4-PE/CD45-PerCP, de solution de FACSClean, FACSRinse, FACSLysing et FACSFlow.

### CHAPITRE 2 : METHODES

#### 2.1. TYPE DE L'ETUDE

Pour atteindre notre objectif, nous avons eu recours à deux types d'études : l'une était une étude transversale et l'autre une étude transversale rétrospective. Les deux études avaient une visée analytique et descriptive.

#### 2.2. CRITERES DE SELECTION

Nous avons eu à définir des critères de sélection pour les enfants et pour les patients adultes.

Les enfants qui ont été sélectionnés pour l'étude avaient une sérologie positive pour le VIH-1 ou pour le VIH-1 et le VIH-2. Ils avaient un âge inférieur à 18 ans et une charge virale supérieure à 1000 copies/mL. Leurs TAR avaient débuté au CIRBA et en cours depuis au moins 6 mois.

Les patients adultes qui avaient une indication de TGR pour le VIH-1 et suivis en routine de juin 2015 à juillet 2017 au CIRBA ont été sélectionnés.

#### 2.3. CRITERES D'EXCLUSION

Les enfants dont l'âge était supérieur à 18 ans et ceux pour qui les parents ou tuteurs légaux ont exprimé un refus de participation à l'étude ont été exclus. De même, les patients qui ne sont pas suivis au CIRBA et ceux qui ont exprimé un refus de participation à l'étude ont été exclus.

#### 2.4. PROCEDURE DE RECUEIL DE DONNEES DES PATIENTS

Nous avons eu à élaborer deux procédures de recueil de données des patients. Concernant les enfants, les objectifs de l'étude ont été expliqués aux parents ou tuteurs légaux afin d'obtenir leur consentement éclairé. Les données des enfants anonymisées ont été récoltées dans un questionnaire après que les parents ou tuteurs légaux aient accepté que leurs enfants participent à l'étude. Une fiche de consentement éclairé a été signée par les parents ou tuteurs légaux avant le prélèvement sanguin. Pour les adultes, un consentement éclairé a été obtenu du patient avant l'analyse de son échantillon de plasma qui avait été stocké dans la biothèque (-80 °C) du CIRBA au cours des bilans biologiques de routine. Les données des patients ont été obtenues grâce à la base de données du CIRBA et aux dossiers patients.

### 2.5. PROCEDURE DE COLLECTE DES ECHANTILLONS BIOLOGIQUES

Les prélèvements de sang veineux ont été réalisés sur tubes EDTA (Ethylène-Diamine-Tétra-Acétique) (Becton Dickinson : bouchon violet, 4 ml). Les prélèvements ont été traités dans la même journée. Le sang total a permis de déterminer le taux de lymphocytes T-CD4. Le plasma a été obtenu après centrifugation des tubes EDTA à 3500 tours/minute pendant 5 minutes. Un maximum de trois aliquotes de plasma d'au moins 1 mL chacun ont été réalisés et conservés à -80 °C pour le TGR et la quantification de l'ARN VIH-1 plasmatique.

### 2.6. ANALYSES BIOLOGIQUES

Les analyses biologiques ont concerné la détermination du taux de lymphocytes T-CD4, la quantification de l'ARN VIH-1 plasmatique, la détermination des génotypes de résistance et la phylogénie moléculaire.

#### 2.6.1. Détermination du taux de lymphocytes T-CD4

La détermination du taux de lymphocytes T-CD4 a été réalisée par cytométrie en flux sur un Facs Calibur (Becton Dickinson) (**Annexe 1**).

##### 2.6.1.1. Principe

La cytométrie en flux est une technique d'analyse qualitative et quantitative de cellules et particules en solution. Elle permet l'étude des caractéristiques physiques et chimiques des cellules telles que la taille, la réfringence et d'autres composants ou fonctions pouvant être détectés grâce à une sonde fluorescente spécifique (**De Paoli et al., 1984 ; Romeu et al., 1992**). Cette technique analyse les échantillons cellule par cellule, permettant la distinction des différentes sous-populations. Ainsi, lorsque le sang total est ajouté aux anticorps monoclonaux, les anticorps marqués au fluorochrome dans le réactif se lient spécifiquement aux antigènes de surface des leucocytes. Ces cellules passent une à une devant le faisceau laser en dispersant la lumière. Ces cellules marquées deviennent fluorescentes. Les signaux de diffraction et de fluorescence détectés par la cytofluorimétrie fournissent des informations concernant la dimension des cellules (taille), leur complexité interne (granulométrie) et leur intensité de fluorescence relative. L'affichage simultané de ces informations traitées par l'unité informatique du cytofluorimètre visualise chaque cellule sur un écran sous forme de point.

### **2.6.1.2. Mode opératoire**

Les échantillons sanguins prélevés sur anticoagulants sont marqués suivant les consignes spécifiques de la notice du fabricant. Un tube à hémolyse prévu pour chaque échantillon est étiqueté. Dix microlitres (10 µL) de réactif Tritest CD3-FITC/CD4-PE/CD45-PerCP et 40 µL de sang total sont déposés respectivement dans les tubes qui sont bouchés et homogénéisés par agitation grâce à un agitateur de type vortex (Vortex-Genie 2, Scientific Industries, Inc. Bohemia, USA). Les tubes sont incubés pendant 15 minutes à l'obscurité à température ambiante. Après ce temps d'incubation, 500 µL de solution de FACSLysing dilué au 1/10 sont ajoutés au mélange. Les tubes sont rebouchés, homogénéisés par agitation au vortex et incubés pendant 10 minutes à l'obscurité à température ambiante. Les tubes ainsi prêts sont agités avant d'être analysés avec le Facs Calibur (Becton Dickinson).

### **2.6.2. Quantification de l'ARN VIH-1 plasmatique**

La technique de quantification de l'ARN VIH-1 plasmatique a été celle développée par la firme Roche sur Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-Test, v2.0 (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne) avec un seuil à 20 copies/mL (**Annexe 2**).

#### **2.6.2.1. Principe**

La technique de quantification de l'ARN VIH-1 plasmatique développée par la firme Roche sur Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan (CAP/CTM) permet l'automatisation de la préparation des échantillons pour le dosage quantitatif ou qualitatif des acides nucléiques. La préparation des échantillons est suivie de la transcription inverse, de l'amplification par PCR et de la détection automatisée de l'ARN cible du VIH-1 et l'ARN du Standard de Quantification (QS) du VIH-1. Le mélange réactionnel contient des amorces et des sondes spécifiques à la fois de l'ARN du VIH-1 et de l'ARN du QS du VIH-1. Le mélange réactionnel a été conçu de façon à permettre une détermination quantitative équivalente des sous-types du VIH-1 du groupe M et du groupe O. La détection de l'ADN amplifié est réalisée par l'utilisation de sondes-Taqman doublement marquées spécifiques de la cible et du QS, permettant l'identification indépendante des amplicons du VIH-1 et du QS du VIH-1. Les constantes de calibration spécifiques aux lots fournies avec le test servent à calculer la valeur de titre des échantillons et des contrôles en se basant sur les valeurs seuils critiques (CT) de l'ARN du VIH-1 et de l'ARN du QS du VIH-1. La prise d'essai est de 1 mL de plasma.

### **2.6.2.2. Mode opératoire**

Il s'agit d'une PCR en temps réel automatisée et réalisée en deux étapes. La première étape consiste à extraire l'acide nucléique à partir de 1000 µL de plasma et à préparer le mélange réactionnel. Cette étape se fait sur le Cobas AmpliPrep selon la chronologie suivante : la digestion des membranes et la séparation de l'acide nucléique des protéines, la formation des liaisons entre les acides nucléiques chargés négativement et les billes de silices chargées positivement et enfin la préparation du mélange réactionnel. La seconde étape se fait sur le Cobas TaqMan48 en utilisant des sondes fluorescentes TaqMan et standard de quantification interne. Cette étape se déroule selon l'ordre suivant : Rétrotranscription, Amplification, détection et quantification de l'acide nucléique.

Les deux appareils sont gérés par un ordinateur équipé du logiciel AMPLILINK 3.2.2. simplifiant le travail des différentes étapes.

### **2.6.3. Détermination des génotypes de résistance**

La détermination des génotypes de résistance a été réalisée en utilisant les techniques développées par le groupe AC11 de l'ANRS (<http://www.hivfrenchresistance.org>).

Pour ce faire, plusieurs étapes ont été nécessaires : l'extraction de l'ARN viral, l'amplification des gènes ciblés, l'électrophorèse sur gel d'Agarose, la purification des produits de la PCR « nichée », la réaction de séquence, la purification des produits de la réaction de séquence, le séquençage et les analyses bio-informatiques.

#### **2.6.3.1. Extraction de l'ARN**

L'extraction de l'ARN a été réalisée avec le kit QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Germany) selon les recommandations du fabricant. Les extraits ont été conservés à -80 °C pour les futures analyses.

##### **2.5.3.1.1. Principe**

C'est une technique qui isole l'ARN à partir d'une cellule en quantité et en qualité suffisante pour permettre son analyse. Elle utilise une solution de lyse exclusive pour la lyse virale. Cette solution contient un sel chaotropique comme substance active. Ce dernier permet de libérer l'ARN de la particule virale et le protège de la dégradation par les RNase. L'ARN

libéré est ensuite précipité par l'alcool, puis récupéré et purifié sur des colonnes contenant une résine à base de silice.

### 2.6.3.1.2. Mode opératoire

Plusieurs étapes ont été nécessaires pour l'extraction, à savoir : la lyse virale, la précipitation de l'ARN, la capture de l'ARN, le lavage et l'élution. La lyse virale a été effectuée après agitation au vortex pendant 15 secondes et incubation pendant 10 minutes à température ambiante (15 à 25 °C) des microtubes de 1,5 mL contenant 560 µL de tampon AVL avec ARN « entraîneur » et 140 µL de culot obtenu à partir de 1 mL de plasma centrifugé à 14 000 tours/minute pendant 1 heure à 4 °C.

Les acides nucléiques ont été précipités après agitation au vortex pendant 15 secondes et centrifugation à 8000 tours/minute pendant 1 minute à 20 °C des microtubes contenant le lysat auquel ont été ajoutés 560 µL d'éthanol absolu.

La capture de l'ARN rétroviral par les colonnes contenant une résine à base de silice a été réalisée après transfert de la totalité du lysat sur les colonnes suivi d'une centrifugation à 8000 tours/minute pendant 1 minute à 20 °C. Les tubes collecteurs ont été remplacés avant le premier lavage.

Le premier lavage a été effectué avec 500 µL de tampon AW1 transféré sur les colonnes et centrifugées à 8000 tours/minute pendant 1 minute à 20 °C. Les tubes collecteurs ont été remplacés avant le second lavage qui a été réalisé avec 500 µL de tampon AW2 déposé sur les colonnes et centrifugées à 14 000 tours/minute pendant 3 minutes à 20 °C. Les tubes collecteurs ont été changés et une centrifugation à vide à 14 000 tours/minute pendant 1 minute à 20 °C a été effectuée pour éliminer les traces d'éthanol avant l'élution.

La récupération de l'ARN rétroviral a été réalisée par élution avec 60 µL d'eau de qualité biologie moléculaire, après 1 minute d'incubation et une centrifugation à 8000 tours/minute pendant 1 minute à 20 °C. L'ARN viral ainsi obtenu a été conservé à -80 °C pour les PCR.

### 2.6.3.2. Amplification des gènes ciblés

L'amplification des gènes de la polymérase (transcriptase inverse et protéase) a été réalisée par PCR ou « Polymerase Chain Reaction » sur un thermocycleur GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem) (**Annexe 3**).

### 2.5.3.2.1. Principe

La réaction de PCR permet d'amplifier *in vitro* une région spécifique d'un acide nucléique donné afin d'en obtenir une quantité suffisante pour le détecter et l'étudier. Pour ce faire, une série de réactions permettant la réplication d'une matrice d'ADN double brin est répétée en boucle. Ainsi, au cours de la réaction de PCR, les produits obtenus à la fin de chaque cycle servent de matrice pour le cycle suivant, l'amplification est donc exponentielle. Pour avoir la réplication d'un ADN double brin, il faut agir en trois étapes : dénaturation de l'ADN pour obtenir des matrices simples brins, hybridation des amorces spécifiques et réalisation de la réaction de polymérisation du brin complémentaire par l'enzyme polymérase. A la fin de chaque cycle, les produits sont sous forme d'ADN double brin.

### 2.5.3.2.2. Mode opératoire

#### ➤ Reverse transcription et première PCR (RT-PCR)

La RT-PCR a été réalisée avec le kit Titan One Tube RT-PCR (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne) selon les recommandations du fabricant. Il a permis de synthétiser l'ADNc et de faire une PCR initiale en une seule étape.

La composition du mélange réactionnel, les couples d'amorces et le programme thermique d'amplification pour une réaction de RT/PCR sont précisés dans les **tableaux VII, VIII et IX**.

**Tableau VII : Composition du mélange réactionnel pour une réaction de RT/PCR**

<b>Composition</b>	<b>Concentration</b>	<b>Volume par tube (µl)</b>
<b>Tampon 5X (Buffer)</b>	5X	10
<b>DiThioThrétol (DTT)</b>	100 mM	2,5
<b>dNTP mix</b>	10 mM	4
<b>Amorce sens</b>	20µM	1
<b>Amorce antisens</b>	20µM	1
<b>Rnase Inhibitor</b>	5U/µl	1
<b>Titan Enzyme Mix</b>	—	1
<b>H<sub>2</sub>O (qualité biologie moléculaire)</b>	—	19,5
<b>ARN patient</b>	—	10
	<b>Volume final</b>	50

**Tableau VIII : Séquences nucléotidiques des amorces de RT/PCR pour l'amplification de la TI et PR**

---

Gène	Amorces sens	Amorces antisens
	<b>MJ3</b>	<b>MJ4</b>
<b>Transcriptase Inverse</b>	5'-AGT AGG ACC TAC ACC TGT CA-3'	5'-CTG TTA GTG CTT TGG TTC CTC T-3'
	<b>5'PROT1</b>	<b>3'PROT1</b>
<b>Protéase</b>	5'-TAA TTT TTT AGG GAA GAT CTG GCC TTC C-3'	5'-GCA AAT ACT GGA GTA TTG TAT GGA TTT TCA GG-3'

---

**Tableau IX : Programme thermique d'amplification de la RT/PCR**

Etape	Température	Temps	Cycle
<b>Reverse transcription</b>	50°C	30 minutes	1X
<b>Activation enzymatique + dénaturation</b>	94°C	2 minutes	1X
	94°C	30 secondes	
<b>Cycles d'amplification</b>	55°C	30 secondes	40X
	68°C	1 minute 30 secondes	
<b>Elongation</b>	68°C	7 minutes	1X
<b>Conservation</b>	4°C	infini	—

### ➤ PCR « nichée »

La seconde PCR a été réalisée avec le kit Expand High Fidelity (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne) selon les recommandations du fabricant. La composition du mélange réactionnel, les couples d'amorces et le programme thermique d'amplification pour la PCR « nichée » sont précisés dans les **tableaux X, XI et XII**.

**Tableau X : Composition du mélange réactionnel pour la PCR « nichée »**

Composition	Concentration	Volume par tube (µl)
Tampon 5X (Buffer)	5X	5
dNTP mix	10 mM	1
Amorce sens	30µM	1
Amorce antisens	30µM	1
Expand High Fidelity Enzyme Mix	3,5U/µL	0,4
H <sub>2</sub> O (qualité biologie moléculaire)	—	36,6
ADN patient	—	5
	<b>Volume final</b>	<b>50</b>

**Tableau XI : Séquences nucléotidiques des amorces de la PCR « nichée » pour l'amplification de la TI et PR**

Gène	Amorces sens	Amorces antisens
Transcriptase Inverse	<b>A35</b> 5'-TTG GTT GCA CTT TAA ATT TTC CCA TTA GTC CTA TT-3'	<b>NE135</b> 5'-CCT ACT AAC TTC TGT ATG TCA TTG ACA GTC CAG CT-3'
	<b>5'PROT2</b> 5'-TCA GAG CAG ACC AGA GCC AAC AGC CCC A-3'	<b>3'PROT2</b> 5'-AAT GCT TTT ATT TTT TCT TCT GTC AAT GGC-3'

**Tableau XII : Programme thermique d'amplification de la PCR « nichée »**

<b>Etape</b>	<b>Température</b>	<b>Temps</b>	<b>Cycle</b>
<b>Activation enzymatique + dénaturation</b>	95°C	3 minutes	1X
	94°C	15 secondes	
<b>Cycles d'amplification</b>	55°C	30 secondes	10X
	72°C	2 minutes	
	94°C	30 secondes	
<b>Cycles d'amplification</b>	55°C	30 secondes	20X
		2 minutes	
	72°C	5 secondes* d'incrémentations	
<b>Elongation</b>	72°C	7 minutes	1X
<b>Conservation</b>	4°C	infini	—

\*125 secondes d'incrémentations au premier cycle, puis on rajoute 5 secondes à chaque cycle additionnel.

### 2.6.3.3. Analyse des produits de PCR « nichée » par électrophorèse

Le dispositif d'électrophorèse sur gel d'Agarose est présenté en **annexe 4**.

#### 2.6.3.3.1. Principe

L'électrophorèse sur gel d'agarose est une méthode utilisée pour séparer des protéines, l'ADN ou l'ARN (**Kryndushkin et al., 2003 ; Yilmaz et al., 2012**). Les molécules d'acide nucléique sont séparées à l'aide d'un champ électrique où les molécules chargées négativement migrent vers l'anode (**Yilmaz et al., 2012**). Le flux migratoire est uniquement déterminé par le poids moléculaire où les petites molécules en poids migrent plus rapidement que les plus grandes (**Yilmaz et al., 2012**).

Afin de visualiser les molécules d'acide nucléique en gels d'agarose, des colorants comme le Bromure d'éthidium (BET) ou SYBRGreen sont généralement utilisés (**Yilmaz et al., 2012**). L'illumination des gels d'agarose avec une lumière ultraviolette à 300 nm est ensuite utilisée pour visualiser les acides nucléiques colorés (**Yilmaz et al., 2012**).

#### 2.6.3.3.2. Mode opératoire

L'analyser des produits de PCR « nichée » a nécessité trois étapes :

- Préparation du tampon TBE (Tris-Borate-EDTA) (10X)

Le tampon TBE 10X pour 1 litre a été obtenu en pesant 107,8 g de tris [hydroxyméthyl] aminométhane, 55 g d'acide borique et 5,8 g d'EDTA qui ont été dissouts dans 1 litre d'eau distillée sur un agitateur magnétique (AGIMATIC-N, Espagne).

- Préparation de la gélose

Le gel d'Agarose (1 %) a été obtenu en pesant 1 g d'agarose qui a été dissout dans 100 mL de tampon TBE (10X) dilué au dixième (tampon (1X)). Le mélange a été mis au four à micro-onde pendant 2 minutes à 100 °C pour la cuisson. Avant refroidissement, 5 µL de Bromure d'éthidium (BET) ont été ajoutés au mélange. Le mélange a ensuite été coulé dans un bac à électrophorèse contenant deux peignes. La solidification de la gélose a été obtenue entre 30-45 minutes à la température du laboratoire (22 °C).

### ➤ Electrophorèse

Le gel d'Agarose solidifié a été déposé dans une cuve à électrophorèse contenant du tampon TBE (1X). Sur du parafilm, 8 µl de produits de PCR « nichée » ont été mélangés à 2 µl de tampon de charge (5X) puis déposés dans les puits du gel. Le tampon de charge (5X) a permis de maintenir les produits de PCR « nichée » dans les puits. Leur migration a été réalisée par un champ électrique (110V- 85 mA pendant 20 min) pour permettre leur séparation. Un marqueur de poids moléculaire (1Kb) a permis de déterminer la taille des amplicons migrés. La révélation des échantillons positifs a été faite sous lumière ultraviolette (UV) sur un transilluminateur (Spectroline, Westbury, New-York, USA) (**Annexe 5**).

#### **2.6.3.4. Purification des produits positifs de la PCR « nichée »**

La purification des produits positifs de la PCR « nichée » a été réalisée avec le kit Qiaquick PCR Purification Kit (Qiagen, Germany) selon les recommandations du fabricant.

##### 2.6.3.4.1. Principe

C'est une technique qui utilise une membrane de silice unique et des tampons spécialement conçus pour récupérer de l'ADN et éliminer les autres composants (amorces et dNTP libre) après une PCR. L'ADN est capturé par la membrane en silice et les contaminants sont éliminés en passant à travers la colonne. L'ADN capturé est élué avec de l'eau de qualité biologie moléculaire.

##### 2.6.3.4.2. Mode opératoire

La purification a été faite avec deux tampons. Le premier tampon était le tampon de liaison PB. Il a permis de lier l'ADN à la membrane de silice. Le second tampon était le tampon de lavage PE. Il a permis de purifier l'ADN en éliminant les impuretés.

Pour ce faire, 250 µL de tampon de liaison PB et le reste des produits de la PCR « nichée » détectés positifs ont été déposés dans des colonnes à filtre puis centrifugées à 13 000 tours/minute pendant 1 minute pour permettre la liaison de l'ADN sur la membrane à silice.

Après centrifugation, les tubes collecteurs ont été remplacés et 750 µL de tampon de lavage PE ont été transférés dans les colonnes à filtre puis centrifugées à 13 000 tours/minute pendant 1 minute pour éliminer les contaminants et purifier l'ADN.

Les tubes collecteurs ont été changés à nouveau et une centrifugation à vide à 13 000 tours/minute pendant 1 minute a été effectuée pour s'assurer de l'élimination complète de produits résiduels avant l'élution.

L'élution a été réalisée après 5 minutes d'incubation à température ambiante (15 à 25 °C) de 60 µL d'eau de qualité biologie moléculaire déposées sur les filtres de la colonne suivi d'une centrifugation à 13 000 tours/min pendant 1 minute. L'éluât a été recueilli dans un tube collecteur. L'ADN ainsi purifié a été utilisé pour la réaction de séquençage.

### **2.6.3.5. Réaction de séquence**

La réaction de séquence repose sur la méthode de SANGER ou méthode des interrupteurs de chaîne, décrite pour la première fois en 1977 (**Sanger *et al.*, 1977**) et améliorée par l'introduction de l'électrophorèse capillaire, qui a permis d'accroître le rendement, la sensibilité, et la fluorescence qui a permis de s'affranchir de la radioactivité (**Prober *et al.*, 1987 ; Smith, 1991**).

Notre réaction de séquence a été réalisée avec le kit BigDye Terminators v3.1 Sequencing Kit (Applied Biosystems) selon les recommandations du fabricant.

#### **2.5.3.5.1. Principe**

C'est une technologie qui utilise un système de transfert d'énergie par résonance (FRET) entre deux fluorochromes fixés sur le même didésoxyribonucléotide (ddNTP) et reliés entre eux par un linker. Le premier est une fluorescéine (6 carboxyfluorescéine) appelée fluorochrome donneur, commun aux quatre ddNTP. Le second est une dichlororhodamine (dRhodamine) qui joue le rôle de fluorochrome accepteur.

Le fluorochrome donneur est excité par un rayon laser à argon émettant à 488 nm et 514,5 nm. Son énergie de fluorescence émise (515-520 nm) est captée intégralement par le fluorochrome accepteur qui est excité à son tour. Le fluorochrome accepteur ou dichloroRhodamine est différent pour chaque type de ddNTP (ddATP = dR6G (560-565 nm), ddTTP = dROX (615- 620 nm), ddCTP = dR110 (530- 535 nm) et ddGTP = dTAMRA (590-595 nm).

Le spectre de la fluorescence réémise sera ainsi spécifique de chaque type de ddNTP. Le transfert du signal de la fluorescéine vers la dRhodamine permet une amplification du signal et par conséquent, une augmentation de la sensibilité de la technique.

2.5.3.5.2. Mode opératoire

La composition du mélange réactionnel, les couples d'amorces et le programme thermique d'amplification pour la PCR de réaction de séquence sont précisés dans les **tableaux XIII, XIV et XV**.

**Tableau XIII : Composition du mélange réactionnel pour la PCR de réaction de séquence**

<b>Composition</b>	<b>Concentration</b>	<b>Volume par tube (µl)</b>
<b>Big Dye Terminator (BDT)</b>	—	1
<b>Tampon (Buffer)</b>	5X	1,5
<b>Amorce</b>	4µM	4
<b>H<sub>2</sub>O (qualité biologie moléculaire)</b>	—	4,5
<b>ADN purifié</b>	20 – 50ng/µL	1
	<b>Volume final</b>	12

**Tableau XIV : Séquences nucléotidiques des amorces de la PCR de réaction de séquence pour l'amplification de la TI et PR**

Gène	Amorces sens	Amorces antisens
Transcriptase Inverse	<b>A20</b> 5'-ATTTTCCCATTAGTCCTATT-3'	<b>NE120</b> 5' ATGTCATTGACAGTCCAGCT-3'
	<b>5'PROT2</b> 5'-TCA GAG CAG ACC AGA GCC AAC AGC CCC A-3'	<b>3'PROT2</b> 5'-AAT GCT TTT ATT TTT TCT TCT GTC AAT GGC-3'

**Tableau XV : Programme thermique d'amplification de la PCR de réaction de séquence**

<b>Etape</b>	<b>Température</b>	<b>Temps</b>	<b>Cycle</b>
	96°C	10 secondes	
<b>Cycles d'amplification</b>	50°C	5 secondes	25X
	60°C	4 minutes	
<b>Conservation</b>	4°C	infini	—

### **2.6.3.6. Purification de la réaction de séquence**

Les produits de la réaction de séquence ont été purifiés selon les recommandations du fabricant (Applied Biosystems).

#### **2.5.3.6.1. Mode opératoire**

La purification a été faite avec 16  $\mu$ L d'eau de qualité biologie moléculaire et 64  $\mu$ L d'éthanol (95 %) mélangés au produit de la réaction de séquence dans les puits de la plaque de réaction.

La plaque a ensuite été incubée pendant 1 heure au moins à température ambiante pour la précipitation à l'abri de la lumière.

Après la précipitation, la plaque a été centrifugée à 2700 g (g = accélération de la pesanteur à la surface de la Terre) pendant 30 minutes et son contenu a par la suite été reversé délicatement sur du papier absorbant.

Puis 150  $\mu$ L d'éthanol (70 %) ont été ajoutés dans chaque puits de la plaque. Elle a par la suite été centrifugée à 2000 g pendant 10 minutes et son contenu a été reversé délicatement sur du papier absorbant.

Une centrifugation à vide de la plaque retournée à 700 g pendant 1 minute a permis d'éliminer l'excédent d'éthanol. Les produits obtenus ont été reconstitués dans 20  $\mu$ L de formamide pour le séquençage.

### **2.6.3.7. Séquençage**

Les produits de la réaction de séquence purifiés ont été placés dans le séquenceur Genetic Analyser 3130 (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France) (**Annexe 6**) pour la détermination des séquences. Ce dernier a lancé un flux électrique d'ions à travers un capillaire, ce qui a provoqué la migration des fragments d'ADN.

### **2.6.3.8. Analyse bio-informatique**

Le traitement des données issues du séquenceur a nécessité l'utilisation du logiciel Sequencing Analysis (Seq A) pour visualiser les données sous la forme de séquences nucléotidiques (**Annexe 7**) et d'électrophorégrammes (**Annexe 8**). Cette visualisation a permis de juger de prime abord la qualité des séquences nucléotidiques. Ensuite, les séquences obtenues ont été éditées pour obtenir une séquence consensus qui a été enregistrée au format

« FASTA » et alignées sur la référence du VIH-1 (HIV-1 HXB2, numéro accession GenBank : K03455) grâce au logiciel SeqScape (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France).

### 2.6.3.9. Détection et interprétation des génotypes de résistance

La détection des génotypes de résistance a été réalisée en utilisant la base de données de Stanford (<http://hivdb.stanford.edu/>). L'interprétation des résultats a été faite en utilisant l'algorithme de l'ANRS (<http://www.hivfrenchresistance.org>, septembre 2016, Version 26 et septembre 2017, Version 27).

### 2.6.4. Phylogénie moléculaire

Afin de préciser les sous-types viraux, les séquences consensus obtenues ont été alignées avec les séquences de référence de différents sous-types de VIH-1 (sous-type A (92UG-UGO37, 94SE-SE7523, et 94KE-Q23), sous-type B (90US-WEAU160, 86US-JFRL, et 83FR-HXB2), sous-type C (86ET-ETH2220, 96BW-0502, et 95IN-21068), sous-type D (94UG-114, 83CD-NDK, et 99TCMN011), sous-type F1 (93BR-20, 93BE-VI850, et 93FI-FIN9363), sous-type F2 (95CM-MP255, CM-MP257, et CM53657), sous-type G (93SE-SE61615, 93FIHH8793, et 96DE-DRCBL), sous-type H (90CF-CF056, BE.VI991, et BE.VI997), sous-type J (93SE-SE92809 et 93SE-SE91733), sous-type K (97CD-EQTB11 et 96CM-MP535), CRF02\_AG (IBNG, DJ263, et 98SE-MP1211), CRF06\_cpx (BFP90 et 95ML-84), et CRF09 (96GH2911, 95SN1795, et 95SN7808)) disponible dans la GenBank (<http://hiv-web.lanl.gov/>) grâce au logiciel Clustal W (**Thompson *et al.*, 1994**) implanté dans le programme BioEdit v7 (**Hall, 1999**). Les arbres phylogénétiques ont été réalisés avec le logiciel Mega 7 (**Kumar *et al.*, 2016**) après enregistrement des séquences au format « MEG ».

## 2.7. TRAITEMENTS DES DONNEES ET ANALYSES STATISTIQUES

Le logiciel SPSS Statistics 17.0.1 a été utilisé pour les analyses statistiques. Il a permis de faire les tâches suivantes :

- Création d'un masque de saisie pour entrer les données de l'étude ;
- Analyses univariées (détermination de la prévalence de résistance du VIH aux différentes classes d'ARV, détermination de la prévalence de résistance du VIH aux ARV, calcul des médianes et intervalles médians (âge, lymphocyte TCD4/mm<sup>3</sup>, charge virale et durée sous traitement) ;
- Traitement graphique des résultats (histogrammes, camemberts).

## 2.8. CONSIDERATIONS ETHIQUES

Les aspects éthiques de ce travail et les protocoles ont été validé par le Comité National d’Ethique des Sciences de la Vie et de la Santé (CNESVS) anciennement Comité National d’Ethique de la Recherche (CNER) (**Annexe 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16**).

## **TROISIEME PARTIE : RESULTATS**

**TROISIEME PARTIE : RESULTATS**

**CHAPITRE 1 : PROFIL DE MUTATION DE RESISTANCE AUX INHIBITEURS DE  
PROTEASE CHEZ LES ENFANTS SOUS TRAITEMENT  
ANTIRETROVIRAL DEPUIS AU MOINS 6 MOIS A ABIDJAN  
(CÔTE D'IVOIRE)**

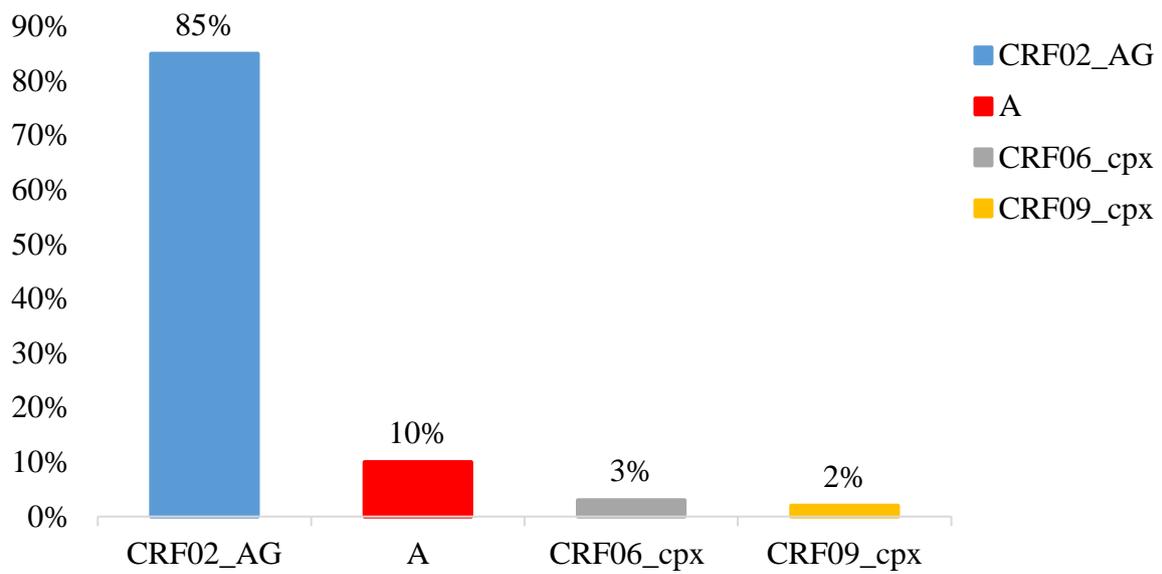
1.1. RESULTATS

**1.1.1. Caractéristiques des patients de l'étude**

A partir d'une cohorte de 260 enfants, 61 ont été inclus dans notre étude soit 23 % (61/260). La proportion d'enfants sous IP était de 51 % (31/61). La charge virale médiane était de 4,4 log<sub>10</sub> copies/mL (03-6,6) avec une médiane de lymphocyte T-CD4 de 411 cellules/mm<sup>3</sup> (33-1388). La médiane de la durée sous traitement était de 6 ans (01-12). Le pourcentage d'enfants en première ligne et deuxième ligne de traitement était respectivement de 49 % (30/61) et 51 % (31/61).

**1.1.2. Distribution des sous types viraux**

La synthèse des différentes analyses phylogénétiques a montré que le CRF02\_AG représentait 85 % (52/61) des sous-types viraux isolés. Ensuite les sous-types A, CRF06\_cpx et CRF09\_cpx représentaient respectivement 10 % (6/61), 3 % (2/61) et 2 % (1/61) de la population virale. Les souches non B du VIH-1 représentaient 100 % (61/61) des sous-types viraux observés (**Figure 16**).



*Figure 16 : Distribution des sous-types de VIH-1 dans la population d'étude*

### 1.1.3. Distribution des mutations sur le gène de la protéase

L'analyse des 61 séquences a permis d'identifier 56 substitutions dont 93 % (52/56) étaient des mutations mineures et 7 % (04/56) des mutations majeures. Les mutations associées à la résistance étaient au nombre de 24.

Les mutations mineures fréquemment associées à la résistance étaient M36I (substitution d'une méthionine en position 36 par une isoleucine) et K20I (substitution d'une lysine en position 20 par une isoleucine) avec une fréquence respective de 100 % (8/8), H69K (substitution d'une histidine en position 69 par une lysine) 88 % (7/8), L89M (substitution d'une leucine en position 89 par une méthionine) et I54V (substitution d'une isoleucine en position 54 par une valine) avec une fréquence respective de 75 % (6/8) et G16E (substitution d'une glycine en position 16 par un glutamate) 50 % (4/8).

Les enfants ayant une résistance aux IP étaient au nombre de 8 soit une prévalence de 13 % (8/61). Les mutations majeures de résistance et leurs fréquences sont présentées dans le **tableau XVI**. On a noté la présence de V82A (substitution d'une valine en position 82 par une alanine) 75 % (6/8), M46I (substitution d'une méthionine en position 46 par une isoleucine) 63 % (5/8), L90M (substitution d'une leucine en position 90 par une méthionine) 38 % (3/8) et L76V (substitution d'une leucine en position 76 par une valine) 13 % (1/8).

**Tableau XVI : Mutations majeures de résistance aux IP chez les enfants de l'étude**

<b>Mutation majeure</b>	<b>Fréquence (%)</b>
V82A	75%
M46I	63%
L90M	38%
L76V	13%

**Légende** : V : Valine, A : Alanine, M : Méthionine, I : Isoleucine, L : Leucine

### 1.1.4. Profils génotypiques et IP résistants chez les enfants en échec thérapeutique

Les profils génotypiques et les IP résistants chez les enfants sont présentés dans le **Tableau XVII**. Tous les enfants avec une résistance avaient en commun les mutations mineures M36I et K20I. H69K était présente chez 7 enfants (Pedi\_Resi 02, 03, 04, 05, 06, 07 et 08), L89M et I54V ont été retrouvées chez 6 enfants (Pedi\_Resi 01, 02, 03, 05, 06, 08 et Pedi\_Resi 01, 04, 05, 06, 07 08 respectivement) et G16E chez 4 enfants (Pedi\_Resi 01, 02, 06 et 07). Pedi\_Resi 07 avait toutes les mutations majeures (V82A, M46I, L90M et L76V) rencontrées dans notre étude. Pedi\_Resi 04, 05, 06 et 08 avaient en commun les mutations majeures M46I et V82A. Pedi\_Resi 02 et 03 avaient une seule mutation majeure, la L90M. Pedi\_Resi\_01 avait aussi une seule mutation majeure, la V82A.

**Tableau XVII : Profils génotypiques et IP résistants chez les enfants ayant des virus résistants**

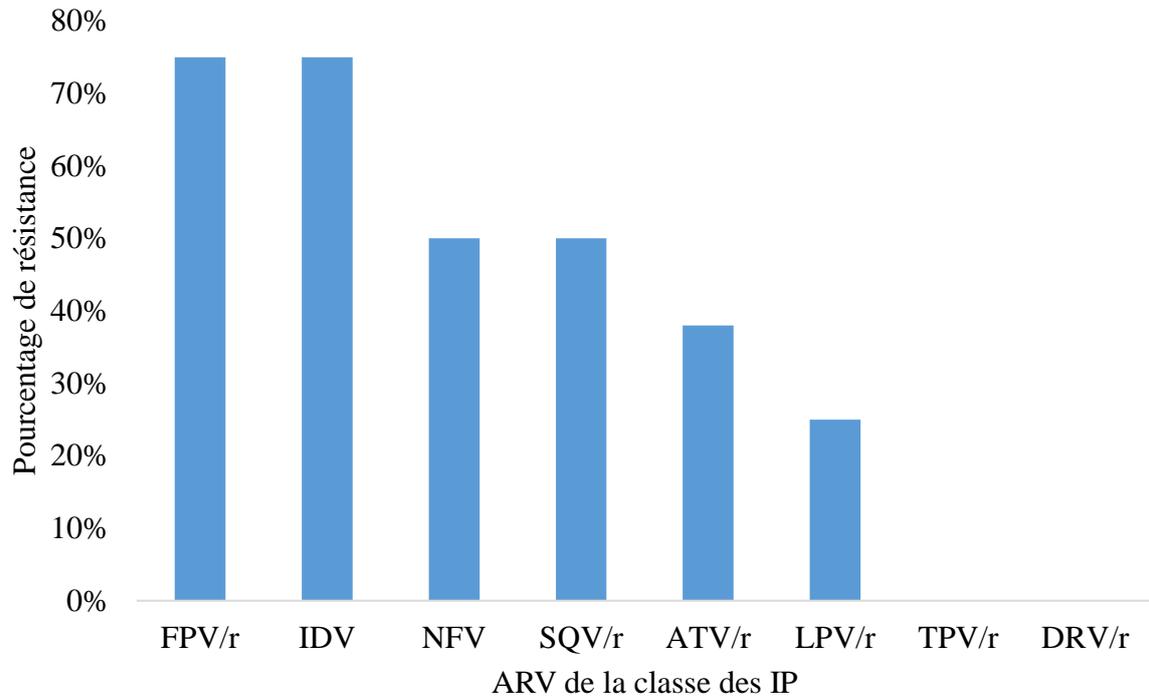
<b>ID patient</b>	<b>IP résistant</b>	<b>Mutations majeures</b>	<b>Mutations mineures</b>
Pedi_Resi_01	IDV, FPV/r	V82A	M36I, K20I, L89M, I54V, G16E, L10V, L63P
Pedi_Resi_02	NFV	L90M	M36I, K20I, L89M, H69K, G16E
Pedi_Resi_03	NFV	L90M	M36I, K20I, L89M/V, H69K, L10V
Pedi_Resi_04	IDV, FPV/r, LPV/r, ATV/r	M46I, V82A	M36I, K20I, H69K, I54V, L10V, L63P, A71T, L89I, L33I
Pedi_Resi_05	IDV, SQV/r, FPV/r	M46I, V82A	M36I, K20I, L89M, H69K, I54V, I62V, L10I, T74P
Pedi_Resi_06	IDV, SQV/r, NFV, FPV/r, ATV/r	M46I, V82A	M36I, K20I, L89M, H69K, I54V, G16E, L10I, L24I, Q58E
Pedi_Resi_07	IDV, SQV/r, NFV, FPV/r, LPV/r, ATV/r	M46I, L76V, V82A, L90M	M36I, K20I, H69K, G16E, I54V, L89I, L10F, I62V, I15V
Pedi_Resi_08	IDV, SQV/r, FPV/r	M46I, V82A	M36I, K20I, L89M, H69K, I54V, L10I, T74P, I62V

**Légende :** ID : identité patient, IP : inhibiteur de la protéase, IDV: Indinavir, FPV/r: Fosamprenavir/ Ritonavir, NFV : Nelfinavir, LPV/r : Lopinavir/Ritonavir, ATV/r : Atazanavir/Ritonavir, SQV/r : Saquinavir/Ritonavir, V : Valine, A : Alanine, L : Leucine, M : Méthionine, I : Isoleucine, K : Lysine, G : Glycine, P : Proline, H : Histidine, T : Thréonine, Q : Glutamine.

### 1.1.5. Fréquence de la résistance aux IP

Parmi les enfants ayant des virus résistants aux IP, 2 étaient en première ligne de traitement. Leurs régimes thérapeutiques au moment de l'échec étaient composés respectivement de DDI+3TC+EFV et AZT+3TC+EFV. Les enfants en deuxième ligne de traitement et résistants aux IP étaient au nombre de 6. Parmi eux, 3 avaient comme régime thérapeutique au moment de l'échec ABC+DDI+LPV/r. Deux autres avaient comme régime thérapeutique ABC+3TC+LPV/r. Le dernier avait comme régime thérapeutique AZT+DDI+ LPV/r.

La **figure 17** résume l'émergence des résistances du VIH-1 aux différents ARV de la classe des IP. Aucune résistance à TPV/r et DRV/r n'a été observée. On a noté une résistance à IDV et FPV/r avec une fréquence de 75 % (6/8), NFV et SQV/r avec une fréquence de 50 % (4/8), ATV/r 38 % (3/8) et LPV/r 25 % (2/8).



**Figure 17 : Fréquences de résistance aux IP chez les enfants ayant des virus résistants**

**Légende :** IDV: indinavir, LPV/r: lopinavir/ritonavir, SQV/r: saquinavir/ritonavir, FPV/r: fosamprenavir/ritonavir, NFV: nelfinavir, ATV/r: atazanavir/ritonavir, TPV/r: tipranavir/ritonavir, DRV/r: Darunavir/ritonavir.

**CHAPITRE 2: RESISTANCE AUX ANTIRETROVIRAUX CHEZ DES PERSONNES  
INFECTEES PAR LE VIH EN ECHEC VIROLOGIQUE EN COTE  
D'IVOIRE, AFRIQUE DE L'OUEST**

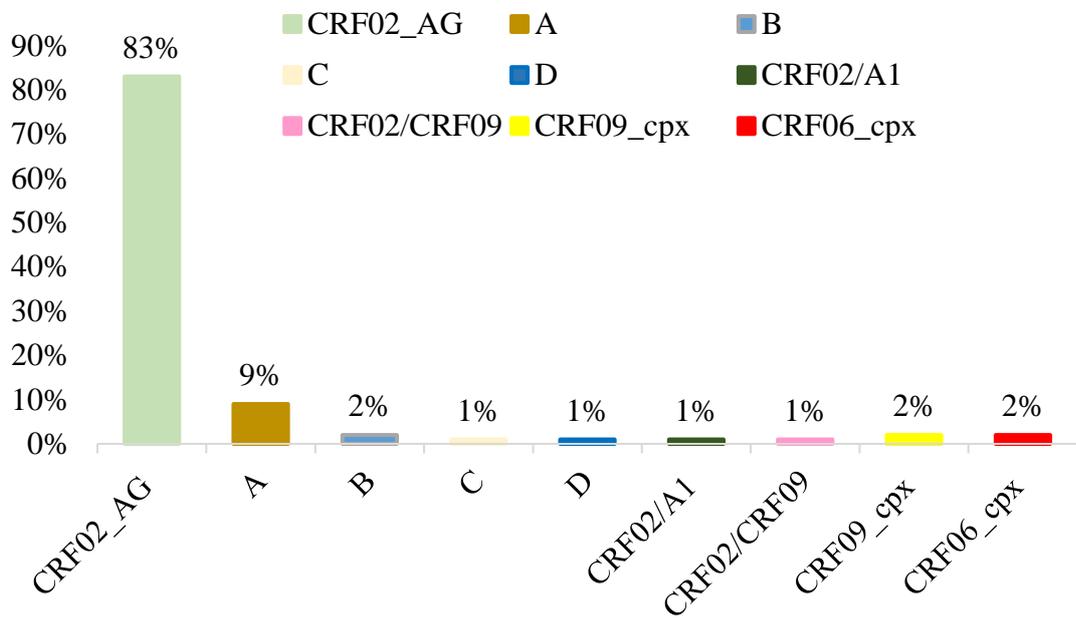
**2.1. RESULTATS**

**2.1.1. Caractéristiques des patients de l'étude**

Cent quatre-vingt-deux (182) plasmas de patients ayant une indication de TGR ont été analysés sur la période de juin 2015 à juillet 2017.

**2.1.2. Distribution globale des sous-types et recombinaux viraux**

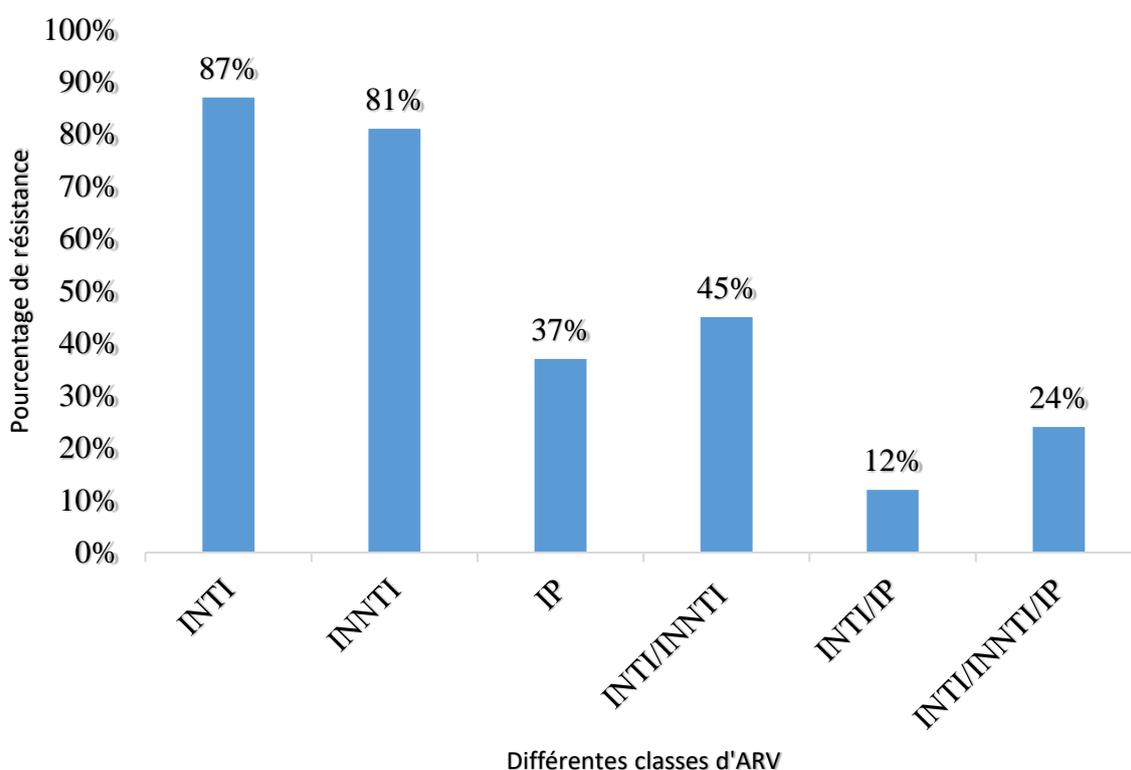
La synthèse des différentes analyses phylogénétiques a montré que le CRF02\_AG était le plus représenté 83 % (151/182). On a noté également la circulation du sous-type A (9 % ; 16/182), B (2 % ; 3/182), C (1 % ; 1/182), D (1 % ; 1/182) et de recombinaux complexes CRF02/A1 (1 % ; 1/182), CRF02/CRF09 (1 % ; 1/182), CRF09\_cpx (2 % ; 4/182) et CRF06\_cpx (2 % ; 4/182) (**Figure 18**).



*Figure 18 : Distribution globale des sous-types et recombinants viraux dans la population d'étude*

2.1.3. Fréquence de résistance aux différentes classes d'ARV

La fréquence de résistance à au moins une molécule ARV était de 74 % (134/182). La **figure 19** résume l'émergence des résistances du VIH-1 aux différentes classes d'ARV. Elle était de 87 % (117/134) aux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI), 81 % (108/134) aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) et 37 % (49/134) aux inhibiteurs de la protéase (IP). La fréquence de résistance à deux classes était de 45 % (60/134) aux INTI/INNTI et 12 % (16/134) aux INTI/IP. La fréquence de résistance aux trois classes (INTI/INNTI/IP) était de 24 % (32/134).

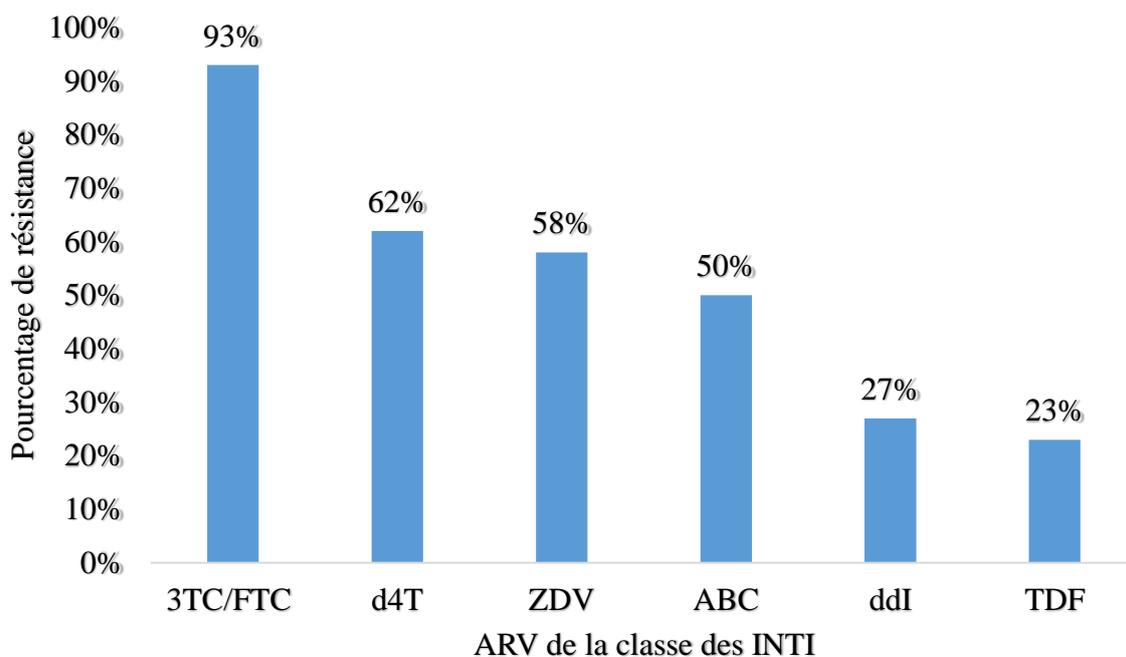


**Figure 19 : Fréquence de résistance des patients de l'étude aux différentes classes d'ARV**

**Légende :** INTI : inhibiteur nucléosidique de la transcriptase inverse ; INNTI : inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse ; IP : inhibiteur de la protéase.

**2.1.3.1. Fréquence de résistance aux INTI**

La **figure 20** résume l'émergence des résistances du VIH-1 aux différents ARV de la classe des INTI. La fréquence de résistance à 3TC/FTC était de 93 % (109/117), 62 % (73/117) à d4T, 58 % (68/117) à ZDV, 50 % (59/117) à ABC, 27 % (32/117) à ddI et 23 % (28/117) à TDF.

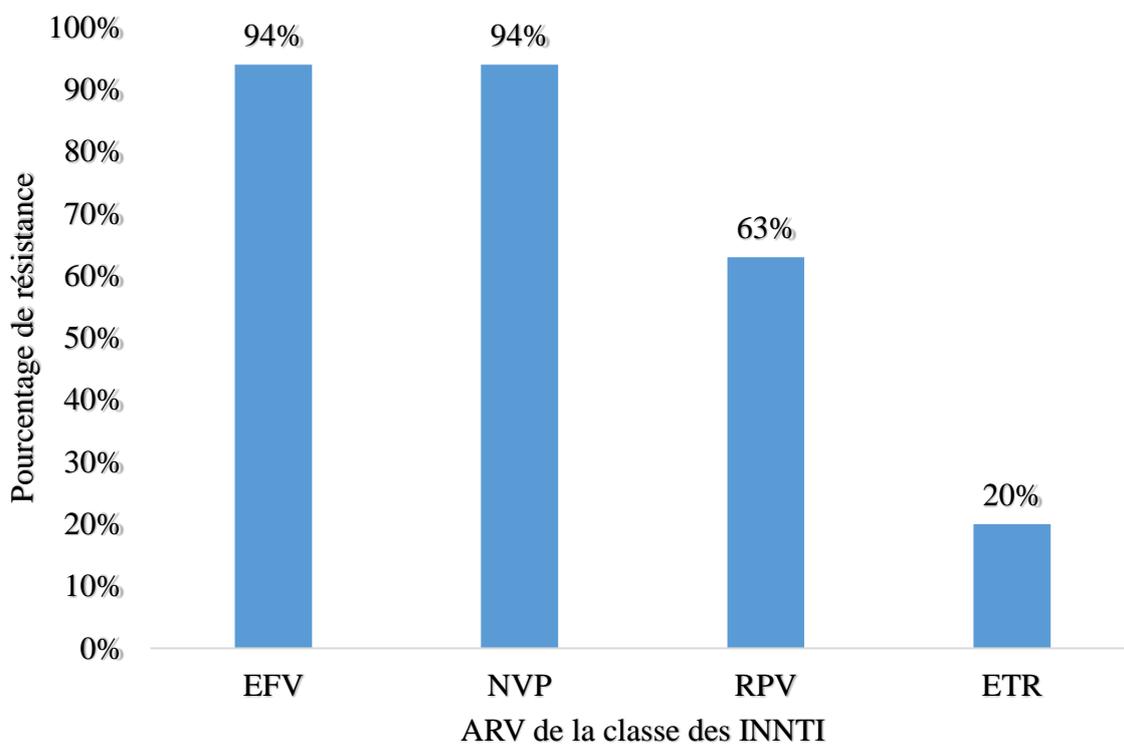


**Figure 20 : Fréquence de résistance des patients de l'étude aux INTI**

**Légende :** 3TC : lamivudine ; FTC : emtricitabine; d4T : stavudine ; ZDV : zidovudine ; ABC : abacavir, ddI: didanosine ; TDF: tenofovir.

**2.1.3.2. Fréquence de résistance aux INNTI**

La **figure 21** résume l'émergence des résistances du VIH-1 aux différents ARV de la classe des INNTI. La fréquence de résistance à EFV et à NVP était respectivement de 94 % (102/108 et 101/108). Celle à RPV était de 63 % (22/108) et de 20 % à ETR.

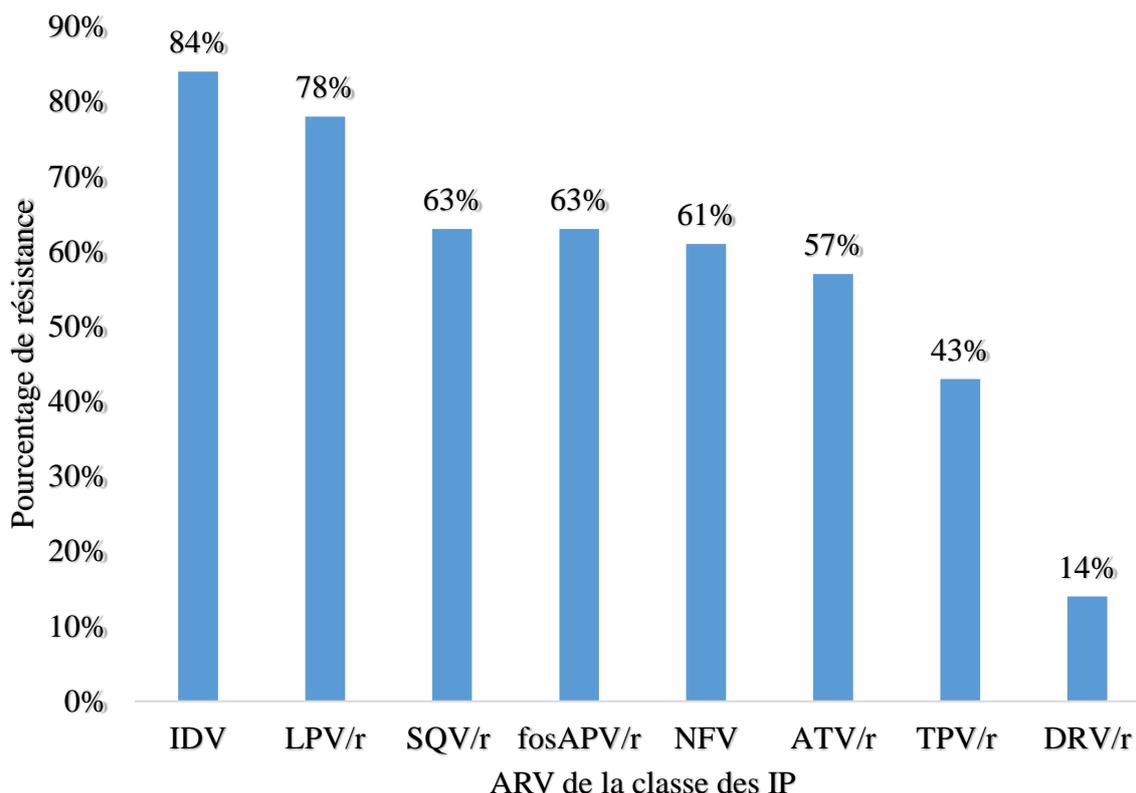


**Figure 21 : Fréquence de résistance des patients de l'étude aux INNTI**

**Légende :** EFV : efavirenz ; NVP: nevirapine ; RPV : Rilpivirine ; ETR: Etravirine.

2.1.3.3. *Fréquence de résistance aux IP*

La **figure 22** résume l'émergence des résistances du VIH-1 aux différents ARV de la classe des IP. La fréquence de résistance à IDV était de 84 % (41/49), 78 % (38/49) à LPV/r, 63 % (31/49) respectivement à SQV/r et fosAPV/r, 61 % (30/49) à NFV, 57 % (28/49) à ATV/r, 43 % (21/49) à TPV/r et 14 % (7/49) à DRV/r.



**Figure 22 : Fréquence de résistance des patients de l'étude aux IP**

**Légende :** IDV: indinavir ; LPV/r: lopinavir/ritonavir ; SQV/r: saquinavir/ritonavir ; fosAPV/r: fosamprenavir/ritonavir ; NFV: nelfinavir ; ATV/r: atazanavir/ ritonavir ; TPV/r: tipranavir/ritonavir ; DRV/r: Darunavir/ritonavir.

### 2.1.4. Fréquence des mutations de résistance dans différentes classes d'ARV

Les mutations de résistance fréquemment rencontrées étaient la substitution d'une Méthionine en position 184 par une Valine (M184V) (88 %) et les « thymidine analogue mutations (TAMS) » (la substitution d'une Thréonine en position 215 par une Tyrosine/Phénylalanine (T215Y/F), la substitution d'une Méthionine en position 41 par une Leucine (M41L), la substitution d'une Leucine en position 210 par un Tryptophane (L210W), la substitution d'un acide aspartique en position 67 par une Asparagine (D67N), la substitution d'une Lysine en position 70 par une Arginine (K70R) et la substitution d'une Lysine en position 219 par une Glutamine/Acide glutamique (K219Q/E)) (23 %) pour les INTI. Pour les INNTI, la substitution d'une Lysine en position 103 par une Asparagine (K103N) (65 %) était fréquemment rencontrée. Concernant les IP, les plus rencontrées étaient la substitution d'une Histidine en position 69 par une Lysine (H69K) (84 %), la substitution d'une Lysine en position 20 par une Isoleucine (K20I) (73 %) et la substitution d'une Méthionine en position 36 par une Isoleucine (M36I) (71 %) pour les mutations mineures et la substitution d'une Méthionine en position 46 par une Isoleucine (M46I) (67 %) pour les mutations majeures.

### 2.1.5. Distribution des mutations primaires responsables de la résistance aux ARV

Les mutations primaires responsables de la résistance à de nombreux ARV ont été retrouvées dans toutes les classes d'ARV. Ainsi, la résistance croisée aux 7 ARV de la classe des INTI était le fait de la substitution d'une Lysine en position 65 par une Arginine (K65R) (71 % ; 5/7) et la substitution d'une Glutamine en position 151 par une Méthionine (Q151M) (57 % ; 4/7) retrouvées respectivement chez 1 et 5 patients.

La résistance croisée aux 4 INNTI a été observée chez 23 patients. Elle était due à la substitution d'une Tyrosine en position 181 par une Cystéine (Y181C) (100 % ; 4/4). 75 % (3/4) des résistances à 3 INNTI étaient le fait de la substitution d'une Lysine en position 101 par un acide glutamique (K101E), la substitution d'un acide glutamique en position 138 par une Lysine (E138K) ou la substitution d'une Méthionine en position 230 par une Leucine (M230L). Ces mutations ont été retrouvées chez 5, 1 et 2 patients respectivement pour K101E, E138K et M230L.

Dans la classe des IP, les mutations majeures responsables de la résistance à 22 % (2/9) des IP étaient la substitution d'une Isoleucine en position 84 par une Valine (I84V) et la substitution d'une Asparagine en position 88 par une Sérine (N88S). Ces mutations ont été retrouvées chez 20 et 2 patients (respectivement pour I84V et N88S) (**Tableau XVIII**).

## TROISIEME PARTIE : RESULTATS

**Tableau XVIII : Répartition des résistances aux ARV chez les patients de l'étude**

Mutations (ARV sensible)	Nombre de patients (%)
<b>Mutations primaires : INTI (N= 117)</b>	
M184V/I (3TC/FTC)	106 (91)
T215I/N/V/Y/F (ZDV, d4T)	53 (45)
Q151M (ZDV, ddI, d4T, ABC)	1 (1)
K65R (3TC/FTC, ddI, d4T, ABC, TDF)	5 (4)
L74V/I (ddi, ABC)	25 (9)
V75M/T (d4T)	5 (4)
Y115F (ABC)	7 (6)
K70E (TDF)	9 (8)
<b>Mutations primaires : INNTI (N= 108)</b>	
K103N/S (EFV, NVP)	72 (67)
L100I (EFV, NVP)	8 (7)
K101E (EFV, NVP, RPV)	5 (5)
K101P (RPV)	2 (2)
V106M (EFV, NVP)	1 (1)
E138K (EFV, RPV, ETR)	1 (1)
E138A/G/Q (RPV)	20 (19)
Y181C (EFV, NVP, RPV, ETR)	23 (21)
Y181V (RPV, ETR)	1 (1)
Y188C/L (EFV, NVP)	13 (12)
Y188L (RPV)	11 (10)
G190A/S (EFV, NVP)	17 (16)
P225H (EFV)	22 (20)
M230L (EFV, NVP, RPV)	2 (2)
A98S (NVP)	2 (2)
H221Y (RPV, ETR)	13 (12)
<b>Mutations majeures : IP (N= 49)</b>	
M46I/L (IDV)	34 (69)
V82A/F/T (IDV)	18 (37)
I84V (IDV, NFV)	20 (41)
G48V (SQV/r)	2 (4)
N88S (NFV, ATV/r)	2 (4)
L90M (NFV)	4 (8)
I50V (fosAPV)	49 (2)
I47A (LPV/r)	2 (4)
L76V (LPV/r)	20 (41)

**Légende :** N : Nombre de personne avec une mutation ; INTI : inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse ; INNTI : inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse ; IP : inhibiteurs de la protéase ; M : Méthionine ; V : Valine ; T : Thréonine ; Y : Tyrosine ; F : Phénylalanine ; L : Leucine ; N : Asparagine ; K : Lysine ; Q : Glutamine ; E : Acide glutamique ; R : Arginine ; I : Isoleucine ; S : Sérine ; C : Cystéine ; P : Proline ; H : Histidine ; A : Alanine ; G : Glycine ; 3TC: lamivudine ; FTC: emtricitabine ; d4T: stavudine ; ZDV: zidovudine ; ABC: abacavir, ddI: didanosine ; TDF: tenofovir ; EFV: efavirenz ; NVP: nevirapine ; RPV: Rilpivirine ; ETR: Etravirine ; IDV: indinavir ; LPV/r: lopinavir/ ritonavir ; SQV/r: saquinavir/ ritonavir ; fosAPV/r: fosamprenavir/ritonavir ; NFV: nelfinavir ; ATV/r: atazanavir/ ritonavir ; TPV/r: tipranavir/ ritonavir ; DRV/r: Darunavir/ritonavir.

## **QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION**

### QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION

#### Profil de mutation de résistance aux inhibiteurs de protéase chez les enfants sous traitement antirétroviral depuis au moins 6 mois à Abidjan (Côte d'Ivoire)

L'analyse phylogénétique du gène de la protéase des enfants a mis en évidence une distribution hétérogène de 4 souches non B du VIH-1 parmi lesquelles le CRF02\_AG (85 %) était prédominant.

Les enfants infectés par les souches non B du VIH-1 présentaient une fréquence élevée de mutations mineures. Les plus fréquentes étaient : M36I, K20I, H69K, L89M, I54V et G16E. Les mutations majeures rencontrées étaient V82A, M46I, L90M et L76V.

Ces résultats sont superposables à ceux de **Anejo-Okopi *et al.*, 2014** et **Mossoro-Kpinde *et al.*, 2017** qui estiment que les mutations mineures M36I, K20I, H69K, L89M et G16E font parties des mutations couramment rencontrées dans les souches non B du VIH-1 et correspondraient au polymorphisme naturel dans le gène de la protéase de ces souches. Toutefois, l'accumulation et l'association à d'autres mutations « mineures » comme au codon 10, peut affecter la sensibilité de certains IP comme le SQV/r et l'ATV/r. L'ATV/r étant l'une des 2 molécules IP couramment prescrites en Côte d'Ivoire.

Les mutations majeures de l'étude ont été retrouvées dans d'autres études réalisées sur la résistance chez les enfants. Ainsi, **Rossouw *et al.*, 2015** et **Salou *et al.*, 2016** ont observé toutes les mutations majeures de notre étude, à savoir V82A, M46I, L90M et L76V. **Kuhn *et al.*, 2014** ont relevé 3 des 4 mutations majeures, à savoir M46I, V82A et L76V. **Giandhari *et al.*, 2015** ont observé 2 des 4 mutations majeures à savoir V82A et M46I.

Tous les enfants avec une résistance avaient en commun les profils de mutations mineures M36I et K20I caractéristiques des sous-types non B de VIH-1. Les profils de résistance comprenaient en plus H69K (88 %), L89M (75 %), I54V (63 %), G16E (50 %) et V82A (75 %), M46I (63 %), L90M (38 %), L76V (13 %) pour les mutations mineures et majeures respectivement.

L'interprétation de ces mutations selon l'algorithme de l'ANRS a permis de les associer à l'inefficacité des IP du VIH-1. Ainsi, M36I fait partie des mutations mineures qui associées à d'autres mutations entraînent une résistance à IDV, FPV/r et TPV/r. De même, l'addition de

K20I à d'autres mutations entraîne une résistance à SQV/r. Dans le même registre, H69K et L89M entraînent une résistance à TPV/r chez les VIH-1 sous type B. Aussi l'association de I54V à certaines mutations conduit à une résistance à IDV, FPV/r et LPV/r. G16E associée à d'autres mutations entraîne une résistance à ATV/r. V82A et M46I sont responsables de la résistance à IDV. L90M et L76V sont responsable de la résistance à NFV et LPV/r respectivement.

Parmi les enfants avec une résistance, 2 étaient en première ligne de traitement. Leurs régimes thérapeutiques au moment de l'échec étaient composés respectivement de DDI+3TC+EFV et AZT+3TC+EFV. Les enfants en deuxième ligne étaient au nombre de 6, avec des régimes thérapeutiques composés de ABC+DDI+LPV/r, ABC+3TC+LPV/r et AZT+DDI+ LPV/r respectivement pour 3, 2 et 1 enfants. Aucune résistance à TPV/r et DRV/r n'a été observée. On a noté une résistance à IDV et FPV/r avec une fréquence de 75 % (6/8), NFV et SQV/r avec une fréquence de 50 % (4/8), ATV/r 38 % (3/8) et LPV/r 25 % (2/8).

En Côte d'Ivoire, LPV/r et ATV/r sont les 2 IP couramment utilisés chez les enfants. La prévalence de résistance à ces molécules reste modérément élevée (25 % et 38 % respectivement pour LPV/r et ATV/r). La résistance développée par les enfants en première ligne serait probablement le résultat de virus résistants transmis. Les enfants en deuxième ligne avaient un régime thérapeutique à base de LPV/r au moment de l'échec. La résistance à ATV/r, IDV, FPV/r, NFV et SQV/r serait le fait de résistance croisée.

### **Résistance aux antirétroviraux chez des personnes infectées par le VIH en échec virologique en Côte d'Ivoire, Afrique de l'Ouest**

Il a été déterminé les profils phylogénétiques et de résistance du VIH-1 aux ARV chez des patients traités depuis au moins 12 mois à Abidjan (Côte d'Ivoire).

Nous avons constaté que 26 % des patients sous traitement depuis au moins 12 mois, qui avaient une indication de TGR, n'avaient aucune mutation de résistance. Cette proportion est approximativement égale à celle obtenue au Rwanda (27 %) chez des patients en échec virologique sans mutations de résistance aux ARV (Ndahimana *et al.*, 2016).

Par conséquent, l'un des objectifs de l'ONUSIDA qui est d'avoir 90 % de personnes sous traitement antirétroviral ayant une charge virale supprimée (ONUSIDA, 2014) ne serait pas

encore atteint. Les autorités sanitaires doivent faire des efforts dans ce sens pour atteindre cet objectif à l'horizon 2020.

Près de trois quarts des patients (74 %) présentaient des virus résistants à au moins une molécule antirétrovirale. Cette prévalence est proche de celle obtenue au Sénégal et en Guinée Conakry (**Diouara et al., 2014**). La proportion de patients avec des virus résistants aux mono-classes était de 87 %, 81 % et 37 % respectivement aux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI), aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI) et aux inhibiteurs de la protéase (IP). Elle est sensiblement égale à celle obtenue au Mali et au Kenya en ce qui concerne les INTI et INNTI (**Fofana et al., 2014 ; Kantor et al., 2014**). Pour ce qui est des IP, elle varie entre 0 % et 50 % dans les pays à ressources limitées (**Hosseini pour et al., 2013**). Des prévalences de 18 % et 22 % ont été observées dans la même région (**Ajose et al., 2012 ; Boender et al., 2016**). Notre étude confirme cette tendance.

Les virus résistants à deux classes ont été isolés chez 45 % et 12 % des patients respectivement pour les INTI/INNT et INTI/IP. Pour ce qui est de l'association INTI/INNT, la prévalence est estimée à 47 % en Zambie et 52 % au Cameroun et au Guatemala (**WHO, 2017**). Ces valeurs sont similaires à celles de notre étude. Quant à l'association INTI/IP la prévalence notée dans notre étude était en deçà de celle obtenue par d'autres auteurs (22 %) (**Boender et al., 2016**).

Dans 24 % de cas, les patients avaient des virus résistants aux trois classes (INTI/INNTI/IP).

Cela nous interpelle sur la nécessité d'un monitoring virologique incluant les TGR pour l'optimisation des traitements.

Notre étude confirme ainsi une prévalence élevée de la résistance aux différentes classes d'ARV en Côte d'Ivoire.

Les profils de résistance des ARV analysés individuellement ont révélé une faible résistance à la didanosine (ddI) (27 %) et au ténofovir (TDF) (23 %) dans la classe des INTI. Dans celle des INNTI, seulement 6 % des patients avaient des virus sensibles à l'éfavirenz (EFV) et à la névirapine (NVP). Une résistance modérée à l'étravirine (ETR) (20 %) a été constatée contrairement à la rilpivirine (RPV) (63 %). Pour les IP, 86 % des patients avaient un virus sensible au darunavir/ritonavir (DRV/r) et 57 % à tipranavir/ritonavir (TPV/r).

Notre étude a confirmé la résistance des virus à la deuxième génération de INNTI (ETR et RPV). Nos résultats corroborent ceux obtenus au Togo avec des proportions sensiblement égales, 21,5 % et 64,4 % respectivement pour ETR et RPV (**Konou *et al.*, 2015**).

Les mutations de résistance fréquemment rencontrées dans notre étude étaient M184V (88 %) et les TAMS (23 %) pour les INTI. Pour les INNTI, on avait K103N (65 %). Concernant les IP, H69K (84 %), K20I (73 %) et M36I (71 %) pour les mutations mineures et M46I (67 %) pour les majeures.

La prévalence élevée de ces mutations dans notre étude a été confirmée par d'autres auteurs.

Pour ce qui est des mutations aux INTI, nos résultats sont proches de celles obtenues au Togo (M184V (88 %) et les TAMS (Thymidine Analogue Mutations) fréquemment rencontrées étaient M41L, D67N/D, K70R, K219E/Q et T215Y/F) (**Dagnra *et al.*, 2016**), au Nigeria (M184V (89 %) et TAMS (27 %)) (**Chaplin *et al.*, 2011**) et au Mali (M184V (76 %) et les TAMS retrouvées étaient M41L, D67N, L210W et T215Y/F/N) (**Fofana *et al.*, 2014**).

Concernant les mutations aux INNTI, nos observations ne sont pas très éloignées de celles obtenues en Afrique du Sud (K103N (50 %)) (**Etta *et al.*, 2017**) et en Mauritanie (K103N (43 %)) (**Fall-Malick *et al.*, 2014**).

Une étude réalisée en Inde révèle que les mutations fréquemment observées conférant une résistance aux INTI et aux INNTI étaient respectivement M184V (90 %) et K103N (45 %) (**Kandathil *et al.*, 2009**).

En ce qui concerne les mutations majeures aux IP, nos résultats sont superposables à ceux d'une étude réalisée en Afrique subsaharienne qui indique que M46I (86 %) est fréquemment rencontré (**Boender *et al.*, 2016**). Le même constat a été fait chez des patients en Inde (**Kandathil *et al.*, 2009**). Les mutations mineures de notre étude ont été identifiées comme faisant parties des mutations mineures fréquemment retrouvées chez des patients au Nigeria (M36I (93 %), K20I (77 %) et H69K (86 %)) (**Anejo-Okopi *et al.*, 2013**). Cette même remarque a été faite chez des patients qui avaient en commun le CRF02\_AG (**Anejo-Okopi *et al.*, 2014**).

Les mutations pouvant induire une résistance majeure en fonction des TAR sont K65R et Q151M pour les INTI, Y181C pour les INNTI et I84V et N88S pour les IP.

En effet, l'administration de d4T est associée à l'émergence des mutations Q151M et K65R qui confèrent une résistance croisée aux INTI (Nouhin *et al.*, 2013). La sélection de telles mutations est une question critique en Côte d'Ivoire où les molécules de la classe des INTI disponibles pour le traitement de deuxième ligne restent limitées. Bien que les principales raisons pour lesquelles l'OMS ait recommandé en 2010 de réduire ou d'abandonner l'utilisation du d4T dans le cadre d'un traitement ARV de première ligne dans les pays aux ressources limitées soient liées à une toxicité excessive (WHO, 2009), nos observations corroborent cette orientation en raison de l'association avec des mutations qui rendent le virus résistant à la plupart ou à la totalité des INTI disponibles en Côte d'Ivoire.

De nombreux pays aux ressources limitées, comme la Côte d'Ivoire ont adopté et adapté à leurs contextes les recommandations 2013 et 2014 de l'OMS (WHO, 2013; WHO, 2014 ; PNLS, 2015<sup>a</sup>). Ainsi, le protocole thérapeutique basé sur les INNTI est largement utilisé comme régime initial pour les patients adultes et adolescents n'ayant jamais reçu de traitement contre le VIH-1 (PNLS, 2015)<sup>a</sup>. Mais le problème avec la première génération d'INNTI est sa faible barrière génétique et sa résistance croisée (Teeranaipong *et al.*, 2016). Ainsi, une mutation telle que Y181C ou K103N entraîne une résistance de haut niveau à la première génération de INNTI (NVP et EFV) et une résistance de niveau intermédiaire à la deuxième génération (RPV et ETR) (Teeranaipong *et al.*, 2016 ; Diphoko *et al.*, 2018) pas encore disponible en Côte d'Ivoire (PNLS, 2015)<sup>a</sup>. De plus, l'association de Y181C à d'autres mutations peut exacerber de façon synergique la résistance à ETR et RPV (Teeranaipong *et al.*, 2016). Par conséquent, la détection précoce de telles mutations serait indispensable pour préserver l'activité des futurs régimes thérapeutiques incluant les INNTI.

La résistance aux IP est la conséquence de l'accumulation de substitutions d'acides aminés dans la protéase (Baxter *et al.*, 2016). Ainsi I84V et N88S sont des mutations non-polymorphiques conduisant à la résistance à l'IDV et NFV pour le premier et à ATV/r et NFV pour la seconde mutation. Le groupe d'experts sur les directives antirétrovirales pour les adultes et les adolescents, recommande la non utilisation de certains ARV dont l'IDV et NFV en raison de la puissance antivirale sous-optimale, les toxicités inacceptables, la charge de pilule élevée, ou les préoccupations pharmacologiques (Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2018). Nos observations corroborent cette prédisposition en raison de leurs

associations avec des mutations qui rendent le virus résistant à certains IP dont ATV/r qui est une des options préférentielles dans les schémas de deuxième ligne en Côte d'Ivoire (PNLS, 2015) <sup>a</sup>.

Au vu des observations, il existe un besoin réel et croissant d'un accès accru à des options de médicaments de troisième ligne, idéalement guidées par des tests de résistance génotypique, pour assurer le succès du traitement du VIH-1 en Côte d'Ivoire. En prévision, des efforts accrus doivent être déployés pour réduire les prix des médicaments de troisième ligne actuellement chers pour les programmes, y compris les inhibiteurs DRV/r et raltégravir (RAL).

La synthèse des différentes analyses phylogénétiques a montré que le CRF02\_AG (83 %) était le plus représenté. On a noté également la circulation du sous-type A (9 %), B (2 %), C (1 %), D (1 %) et de recombinaisons complexes CRF02/A1 (1 %), CRF02/CRF09 (1 %), CRF09\_cpx (2 %) et CRF06\_cpx (2 %).

La prédominance du CRF02\_AG et l'évolution de la diversité génétique des souches circulantes ont été observées dans plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest (Anejo-Okopi *et al.*, 2014 ; Loubet *et al.*, 2015 ; Dagnra *et al.*, 2016). Notre étude confirme ainsi cette tendance et la nécessité d'établir une surveillance de la dynamique de ces souches.

## **CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

### CONCLUSION ET PERSPECTIVES

#### CONCLUSION

Notre étude était constituée d'une cohorte de 243 patients. Elle était composée de 61 enfants issus d'une cohorte nationale prospective au CIRBA de 2012 à 2013 regroupant 260 enfants infectés par le VIH-1 et 182 patients adultes ayant une indication de TGR du VIH-1 et suivis en routine de juin 2015 à juillet 2017 au CIRBA.

Les TGR sur les gènes de la protéase et de la transcriptase inverse ont été réalisés et interprétés selon l'algorithme de l'ANRS. Les arbres phylogénétiques réalisés grâce au logiciel Clustal W implanté dans le programme BioEdit v7 et le logiciel Mega7 ont permis de déterminer les sous types viraux.

L'étude a permis de confirmer la prédominance du CRF02\_AG mais a montré une évolution de la diversité génétique des souches circulantes en Côte d'Ivoire. Elle démontre ainsi la nécessité d'établir une surveillance de la dynamique de ces souches.

Elle a rendu possible la détermination des mutations mineures et majeures sur le gène de la protéase du VIH-1 associées à la résistance aux IP chez les enfants. Le LPV/r et l'ATV/r sont les 2 IP utilisés chez les enfants infectés par le VIH-1 en Côte d'Ivoire. La mutation majeure responsable de la résistance à LPV/r était L76V. Aucune mutation majeure n'était responsable à elle seule de la résistance à ATV/r. La combinaison des mutations mineures et majeures fréquemment associées à l'inefficacité des molécules était l'association de 4 mutations, I54V, V82A, L90M et M46I pour LPV/r et l'association de 3 mutations, G16E, L90M et M46I pour ATV/r. Aucune résistance à TPV/r et DRV/r n'a été observée. TPV/r n'étant pas disponible dans notre contexte, DRV/r en raison de sa barrière génétique reste une molécule de choix dans les traitements relais comportant un IP, notamment dans les schémas de troisième ligne de traitement.

L'étude a aussi donné l'occasion de décrire le profil de résistance du VIH-1 aux ARV chez des patients adultes traités en échec virologique en Côte d'Ivoire. Les mutations de résistance fréquemment rencontrées étaient M184V et les TAMS pour les INTI. Pour les INNTI, on avait K103N. Concernant les IP, H69K, K20I et M36I pour les mutations mineures et M46I pour les mutations majeures. Les mutations pouvant induire une résistance majeure en fonction des TAR étaient K65R et Q151M pour les INTI, Y181C pour les INNTI et I84V et N88S pour les IP.

Elle a de même permis de :

- Montrer une prévalence élevée de la résistance chez les patients en échec thérapeutique suivi en routine en Côte d’Ivoire ;
- Montrer la nécessité d’un accès accru à des options de médicaments de troisième ligne, idéalement guidées par des TGR, pour assurer le succès du traitement du VIH-1 en Côte d’Ivoire ;
- Montrer que des efforts doivent être déployés pour réduire les prix des médicaments de troisième ligne actuellement chers pour les programmes, y compris les inhibiteurs DRV/r et Raltégravir (RAL).

### **PERSPECTIVES**

Comme perspectives pour ce travail, nous nous proposons d’évaluer :

- Le polymorphisme du gène de l’intégrase du VIH-1 pour identifier les mutations de polymorphismes pouvant induire une résistance aux inhibiteurs d’intégrase en vue de l’amélioration de l’algorithme du traitement ARV du VIH-1 ;
- La transmission de variants minoritaires par la technique de séquençage de nouvelle génération (NGS) par ce que les tests de résistance actuellement utilisés en pratique clinique ne permettent pas la détection de sous-populations minoritaires en dessous d’un seuil correspondant à 20 % de la population globale.

## **REFERENCES**

**REFERENCES**

- Abbas S.S., Naveed S., Qamar F., Zehra S. & Jawed S.H., 2016.-** Comprehensive Delineation on HIV; Latest Encroachment in Clinical Findings, Future Trends and Pharmacotherapy. *J Bioequiv Availab*, **8**: 037-043.
- Acharya A., Vaniawala S., Parekh H., Misra R.N., Wani M. & Mukhopadhyaya P.N., 2016.-** Human Immunodeficiency Virus: Discovery to Drug Resistance - A Review Update. *Biol Syst Open Access*, **5**: 154.
- Ajose O., Mookerjee S., Mills E.J., Boule A. & Ford N., 2012.-** Treatment outcomes of patients on second-line antiretroviral therapy in resource-limited settings: a systematic review and meta-analysis. *AIDS*, **26(8)**: 929-38.
- Albert J., Abrahamsson B., Nagy K., Aurelius E., Gaines H., Nyström G. & Fenyö E.M., 1990.-** Rapid development of isolate-specific neutralizing antibodies after primary HIV-1 infection and consequent emergence of virus variants which resist neutralization by autologous sera. *AIDS*, **4(2)**: 107-12.
- Andrianov A.M., Kashyn I.A. & Tuzikov A.V., 2016.-** Identification of Novel HIV-1 Fusion Inhibitor Scaffolds by Virtual Screening, High-Throughput Docking and Molecular Dynamics Simulations. *JSM Chem*, **4(2)**: 1022.
- Anejo-Okopi J.A., Agaba P.A., Nimzing L., Ugoagwu P.O., Were K., Onywera H., Owiti P., Otecko N., Isa S.E., Okwori J.A., Sagay S.A., Oguiche S., Idoko J.A., Agbaji O.O., Jatau D.E. & Olonitola S.O., 2013.-** Prevalence of minor mutations and natural polymorphisms at the protease gene among treatment-naïve human immunodeficiency virus-1 infected individuals in Jos, Nigeria. *J HIV Hum Reprod*, **1**: 8-14.
- Anejo-Okopi J.A., Onywera H., Ebonyi A.O., Agbaji O.O., Agaba P.A., James A., Were K., Otecko N., Owiti P., Isa S.E., Sagay S.A., Oguiche S., Jatau D.E., Olonitola S.O., Nimzing L. & Idoko J.A., 2014.-** High frequency of non-B human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) subtype specific mutations at the protease gene among treatment-naïve HIV-1 infected individuals in Jos, Nigeria. *BJMMR*, **4(13)**: 2503-2516.

## REFERENCES

---

- Anochie P.I., Afocha E., Onyeneke E.C., Onyeozirila A.C., Okoihue A. & Ogu A.C., 2015.-** Evaluation of the Therapeutic Efficacy of Antiretroviral Drugs used in the Clinical Management of HIV/AIDS Infection. *J HIV Clin Scientific Res*, **2(1)**: 023-029.
- Arenas M., 2015.-** Genetic Consequences of Antiviral Therapy on HIV-1. *Comput. Math. Methods Med*, **2015**: 395826.
- Arts E.J., & Hazuda D.J., 2012.-** HIV-1 Antiretroviral Drug Therapy. *Cold Spring Harb Perspect Med*, **2(4)**: a007161.
- Ayouba A., Akoua-Koffi C., Calvignac-Spencer S., Esteban A., Locatelli S., Li H., Li Y., Hahn B.H., Delaporte E., Leendertz F.H. & Peeters M., 2013.-** Evidence for continuing cross-species transmission of SIVsmm to humans: characterization of a new HIV-2 lineage in rural Côte d'Ivoire. *AIDS*, **27(15)**: 2488–2491.
- Bártolo I. & Taveira N., 2012.-** HIV-1 Diversity and Its Implications in Diagnosis, Transmission, Disease Progression, and Antiretroviral Therapy. In : Caliskan Meditor. Genetic Diversity in Microorganisms. *InTech-OpenAccess Publisher*, Croatia (Rijeka), pp 171-214.
- Baxter J.D., Chasanov W.M. & Adams J.L., 2016.-** An Update on HIV-1 Protease Inhibitor Resistance. *J AIDS Clin Res*, **7(581)**: 6113–1000581.
- Becerra J.C., Bildstein L.S. & Gach J.S., 2016.-** Recent Insights into the HIV/AIDS Pandemic. *Microbial Cell*, **3(9)**: 451-475.
- Bhatia S., Patil S. S. & Sood R., 2013.-** Bovine immunodeficiency virus: a lentiviral infection. *Indian J Virol*, **24(3)**: 332–341.
- Boender T.S., Hamers R.L., Ondo P., Wellington M., Chimbetete C., Siwale M., Labib M.E.E., Balinda S.N., Kityo C.M., Adeyemo T.A., Akanmu A.S., Mandaliya K., Botes M.E., Stevens W., Rinke de Wit T.F. & Sigaloff K.C., 2016.-** Protease Inhibitor Resistance in the First 3 Years of Second-Line Antiretroviral Therapy for HIV-1 in Sub-Saharan Africa. *J Infect Dis*, **214(6)**: 873-83.

## REFERENCES

---

- Bon I., Clò A., Borderi M., Colangeli V., Calza L., Morini S., Miserochi A., Cricca M., Gibellini D. & Re MC., 2013.-** Prevalence of R5 strains in multi-treated HIV subjects and impact of new regimens including maraviroc in a selected group of patients with CCR5-tropic HIV-1 infection. *Int J Infect Dis*, **17(10)**: e875-82.
- Borkar M.S. & Kashid AA., 2015.-** HIV-2: an overview. *Int J Res Dermatol*, **1(1)**: 7-9.
- Borm K., Jakobsen M.R., Cashin K., Flynn J.K., Ellenberg P., Ostergaard L., Lee B., Churchill M.J., Roche M. & Gorry P.R., 2016.-** Frequency and Env Determinants of HIV-1 Subtype C Strains from Antiretroviral Therapy-Naive Subjects That Display Incomplete Inhibition by Maraviroc. *Retrovirology*, **13**: 74.
- Borrego P., Calado R., Marcelino J.M., Bártolo I., Rocha C., Cavaco-Silva P., Doroana M., Antunes F., Maltez F., Caixas U., Barroso H. & Taveira N., 2012.-** Baseline susceptibility of primary HIV-2 to entry inhibitors. *Antivir Ther*, **17(3)**: 565-70.
- Boyer P.L., Clark P.K. & Hughes S.H., 2012.-** HIV-1 and HIV-2 reverse transcriptases: different mechanisms of resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *J Virol*, **86(10)**: 5885-94.
- Brenner S., 2014.-** Retrospective. Frederick Sanger (1918-2013). *Science*, **343(6168)**: 262.
- Bronze M., Steegen K., Wallis C.L., De Wolf H., Papathanasopoulos M.A., Van Houtte M., Stevens W.S., de Wit T.R., Stuyver L.J.; ART-A Consortium., 2012.-** HIV-1 phenotypic reverse transcriptase inhibitor drug resistance test interpretation is not dependent on the subtype of the virus backbone. *PLoS One*, **7(4)**: e34708.
- Brown J., Excler J.L. & Kim J.H., 2015.-** New prospects for a preventive HIV-1 vaccine. *J Virus Erad*, **1(2)**: 78-88.
- Cella E., Lo Presti A., Giovanetti M., Veo C., Lai A., Dicuonzo G., Angeletti S., Ciotti M., Zehender G. & Ciccozzi M., 2016.-** Phylogenetic analysis of human immunodeficiency virus type 2 group B. *J Glob Infect Dis*, **8(3)**: 108-14.
- Chang S.Y., Lin P.H., Cheng C.L., Chen M.Y., Sun H.Y., Hsieh S.M., Sheng W.H., Su Y.C., Su L.H., Chang S.F., Liu W.C., Hung C.C. & Chang S.C., 2016.-** Prevalence of Integrase Strand Transfer Inhibitors (INSTI) Resistance Mutations in Taiwan. *Sci Rep*, **6**: 35779.

## REFERENCES

---

- Chantry C.J., Cooper E.R., Pelton S.I., Zorilla C., Hillyer G.V., Diaz C., 1995.-** Seroreversion in human immunodeficiency virus-exposed but uninfected infants. *Pediatr Infect Dis J*, **14(5)**: 382-7.
- Chaplin B., Eisen G., Idoko J., Onwujekwe D., Idigbe E., Adewole I., Gashau W., Meloni S., Sarr A.D., Sankalé J.L., Ekong E., Murphy R.L. & Kanki P., 2011.-** Impact of HIV Type 1 Subtype on Drug Resistance Mutations in Nigerian Patients Failing First-Line Therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **27(1)**: 71-80.
- Clutter D.S., Jordan M.R., Bertagnolio S. & Shafer R.W., 2016.-** HIV-1 drug resistance and resistance testing. *Infect Genet Evol*, **46**: 292-307.
- Coffin J. & Swanstrom R., 2013.-** HIV Pathogenesis: Dynamics and Genetics of Viral Populations and Infected Cells. *Cold Spring Harb Perspect Med*, **3**: a012526.
- Cooper D.A. & Lange J.M., 2004.-** Peptide inhibitors of virus-cell fusion: enfuvirtide as a case study in clinical discovery and development. *Lancet Infect Dis*, **4(7)**: 426-36.
- Dagnra A., Konou A., Salou M., Kodah P., Kombate D. & David P., 2016.-** Drug Resistance Mutations and Genetic Diversity in Patients Treated for HIV Type 1 Infection in Rural Care Centers in Togo. *OJMM*, **6(3)**: 111-115.
- D'arc M., Ayouba A., Esteban A., Learn G.H., Boué V., Liegeois F., Etienne L., Tagg N., Leendertz F.H., Boesch C., Madinda N.F., Robbins M.M., Gray M., Cournil A., Ooms M., Letko M., Simon V.A., Sharp P.M., Hahn B.H., Delaporte E., Mpoudi Ngole E. & Peeters M., 2015.-** Origin of the HIV-1 group O epidemic in western lowland gorillas. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **112(11)**: E1343-52.
- De Paoli P., Reitano M., Battistin S., Castiglia C. & Santini G., 1984.-** Enumeration of human lymphocyte subsets by monoclonal antibodies and flow cytometry: a comparative study using whole blood or mononuclear cells separated by density gradient centrifugation. *J Immunol Methods*, **72(2)**: 349-53.
- Deuzing I.P., Charpentier C., Wright D.W., Matheron S., Paton J., Frenz D., van de Vijver D.A., Coveney P.V., Descamps D.; ANRS CO5 HIV-2 Cohort, Boucher C.A. & Beerens N., 2015.-** Mutation V111I in HIV-2 reverse transcriptase increases the fitness of the nucleoside analogue-resistant K65R and Q151M viruses. *J Virol*, **89(1)**: 833-43.

## REFERENCES

---

- Dilernia D.A., Chien J.T., Monaco D.C., Brown M.P., Ende Z., Deymier M.J., Yue L., Paxinos E.E., Allen S., Tirado-Ramos A. & Hunter E., 2015.-** Multiplexed highly-accurate DNA sequencing of closely-related HIV-1 variants using continuous long reads from single molecule, real-time sequencing. *Nucleic Acids Res*, **43(20)**: e129.
- Diouara A.A., Ndiaye H.D., Guindo I., Bangoura N., Cissé M., Edmond T., Bougoudogo F., Mboup S., Peeters M., Ayouba A. & Kane N.C., 2014.-** Antiretroviral treatment outcome in HIV-1-infected patients routinely followed up in capital cities and remote areas of Senegal, Mali and Guinea-Conakry. *J Int AIDS Soc*, **17**: 19315.
- Diphoko T., Gaseitsiwe S., Kasvosve I., Moyo S., Okatch H., Musonda R., Wainberg M., Makhema J., Marlink R., Novitsky V. & Essex M., 2018.-** Prevalence of Rilpivirine and Etravirine Resistance Mutations in HIV-1 Subtype C-Infected Patients Failing Nevirapine or Efavirenz-Based Combination Antiretroviral Therapy in Botswana. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **34(8)**: 667-671.
- Eholié S.P., Tanon K.A., Folquet-Amorissani M., Ouattara I., Aba Y.T., Traoré-Ettiégne V., Kakou A.R., Aoussi E., Anglaret X. & Bissagnéné E., 2009.-** Bilan de l'accès aux antirétroviraux en Côte d'Ivoire. *Med Trop*, **69(5)**: 520-524.
- Esposito F., Corona A. & Tramontano E., 2012.-** HIV-1 Reverse Transcriptase Still Remains a New Drug Target: Structure, Function, Classical Inhibitors, and New Inhibitors with Innovative Mechanisms of Actions. *Mol. Biol. Int*, **2012**: 586401.
- Etta E.M., Mavhandu L., Manhaeve C., McGonigle K., Jackson P., Rekosh D., Hammarskjöld M.-L., Bessong P.O. & Tebit D. M., 2017.-** High level of HIV-1 drug resistance mutations in patients with unsuppressed viral loads in rural northern South Africa. *AIDS Res Ther*, **14**: 36.
- Fall-Malick F.Z., Tchiakpé E., Ould S.S., Diop-Ndiaye H., Mouhamedoune B.A., Ould H.B.A., Touré K.C., Lo B. & Mboup S., 2014.-** Drug resistance mutations and genetic diversity in adults treated for HIV type 1 infection in Mauritania. *J Med Virol*, **86(3)**: 404-10.

## REFERENCES

---

- Fofana D.B., Soulié C., Baldé A., Lambert-Niclot S., Sylla M., Ait-Arkoub Z., Diallo F., Sangaré B., Cissé M., Maïga I.A., Fourati S., Koita O., Calvez V., Marcelin A.G. & Maïga A.I., 2014.**- High level of HIV-1 resistance in patients failing long-term first-line antiretroviral therapy in Mali. *J Antimicrob Chemother*, **69(9)**: 2531-5.
- Ghebremedhin B., 2012.**- Maraviroc in Antiretroviral-Naïve HIV-1 Patients. *Infect. Dis. Res. Treat*, **2012**: 1–13.
- Ghori K.A., Ahmed S.J., Mohd A.R. & Hashmi M.A.A., 2016.**- Insight to Epidemiology, Pathophysiology and Prevention of Human Immunodeficiency Virus Type-1. *Int. J. Health Sci. Res*, **6(4)**: 462-469.
- Giandhari J., Basson A.E., Coovadia A., Kuhn L., Abrams E.J., Strehlau R., Morris L. & Hunt G.M., 2015.**- Genetic Changes in HIV-1 Gag-Protease Associated with Protease Inhibitor-Based Therapy Failure in Pediatric Patients. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **31(8)**: 776-82.
- Gürtler, L., Aepfelbacher, M., Bauerfeind, U., Blümel, J., Burger, R., Gärtner, B., Gröner, A., Heiden, M., Hildebrandt, M., Jansen, B., Offergeld, R., Pauli, G., Schlenkrich, U., Schottstedt, V., Seitz, R., Strobel, J. & Willkommen, H., 2016.**- Human Immunodeficiency Virus (HIV). *Transfus Med Hemother*, **43(3)**, 203–222.
- Hall T.A., 1999.**- BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp*, **41**: 95–98.
- Hanna G.J. & D'Aquila R.T., 2001.**- Clinical use of genotypic and phenotypic drug resistance testing to monitor antiretroviral chemotherapy. *Clin Infect Dis*, **32(5)**: 774-82.
- HAS., 2009.**- Tests phénotypiques et tests génotypiques de détermination du tropisme du VIH-1 et traitement par antagoniste du récepteur CCR5. Rapport d'évaluation technologique. France, 72 p.
- He Y., 2013.**- Synthesized peptide inhibitors of HIV-1 gp41-dependent membrane fusion. *Curr. Pharm. Des*, **19(10)**:1800–9.
- Hemelaar J., Gouws E., Ghys P.D., Osmanov S. & WHO-UNAIDS Network for HIV Isolation and Characterisation., 2011.**- Global trends in molecular epidemiology of HIV-1 during 2000-2007. *AIDS*, **25(5)**: 679-89.

## REFERENCES

---

- Herschhorn A., Ma X., Gu C., Ventura J.D., Castillo-Menendez L., Melillo B., Terry D.S., Smith A.B.III., Blanchard S.C., Munro J.B., Mothes W., Finzi A. & Sodroski J., 2016.- Release of gp120 restraints leads to an entry-competent intermediate state of the HIV-1 envelope glycoproteins. *mBio*, **7(5)**: e01598-16.
- Horsburgh C.R. Jr., Ou C.Y., Jason J., Holmberg S.D., Longini I.M. Jr., Schable C., Mayer K.H., Lifson A.R., Schochetman G., Ward J.W., Evatt B.L. & Jaffe H.W., 1989.- Duration of human immunodeficiency virus infection before detection of antibody. *Lancet*, **2(8664)**: 637-40.
- Hosseinipour M.C., Gupta R.K., Van Zyl G., Eron J.J. & Nachega J.B., 2013.- Emergence of HIV drug resistance during first- and second-line antiretroviral therapy in resource-limited settings. *J Infect Dis*, **207(2)**: S49-56.
- Hu G, Ma A, Dou X, Zhao L, Wang J., 2016.- Computational Studies of a Mechanism for Binding and Drug Resistance in the Wild Type and Four Mutations of HIV-1 Protease with a GRL-0519 Inhibitor. *Int J Mol Sci*, **17(6)**: 819.
- Hu W.S. & Hughes S.H., 2012.- HIV-1 reverse transcription. *Cold Spring Harb Perspect Med* **2(10)**: a006882.
- Ibe S., Yokomaku Y., Shiino T., Tanaka R., Hattori J., Fujisaki S., Iwatani Y., Mamiya N., Utsumi M., Kato S., Hamaguchi M. & Sugiura W., 2010.- HIV-2 CRF01\_AB: first circulating recombinant form of HIV-2. *J Acquir Immune Defic Syndr* **54(3)**: 241-7.
- Inzaule S.C., Hamers R.L., Paredes R., Yang C., Schuurman R., Rinke de Wit T.F., 2017.- The Evolving Landscape of HIV Drug Resistance Diagnostics for Expanding Testing in Resource-Limited Settings. *AIDS Rev*, **19(4)**: 219-230.
- Iyidogan P. & Anderson K.S., 2014.- Current perspectives on HIV-1 antiretroviral drug resistance. *Viruses*, **6(10)**: 4095-139.
- Kamangu E.N., Chatte A., Susin F., Boreux R., Kalala R.L., Mvumbi G.L., De Mol P., Vaira D. & Hayette M-P., 2015.- Genetic Diversity and Antiretroviral Drug Resistance among Drug-Naïve HIV Type 1 Infected Patients attending Clinics in Kinshasa, Democratic Republic of Congo. *J HIV AIDS*, **1(1)**: 1-6.

## REFERENCES

---

- Kandathil A.J., Kannangai R., Verghese V.P., Pulimood S.A., Rupali P., Sridharan G., Grant P., Pillay D. & Abraham O.C., 2009.-** Drug resistant mutations detected by genotypic drug resistance testing in patients failing therapy in clade C HIV-1 infected individuals from India. *Indian J Med Microbiol*, **27(3)**: 231-6.
- Kantor R., DeLong A., Balamane M., Schreier L., Lloyd R.M. Jr., Injera W., Kamle L., Mambo F., Muyonga S., Katzenstein D., Hogan J., Buziba N. & Diero L., 2014.-** HIV diversity and drug resistance from plasma and non-plasma analytes in a large treatment programme in western Kenya. *J Int AIDS Soc*, **17(1)**: 19262.
- Kerina D., Babill S. & Muller F., 2013.-** HIV Diversity and Classification, Role in Transmission. *Advances in Infectious Diseases*, **3(2)**: 146-156.
- Kiwelu I.E., Novitsky V., Margolin L., Baca J., Manongi R., Sam N., Shao J., McLane M.F., Kapiga S.H. & Essex M., 2013.-** Frequent intra-subtype recombination among HIV-1 circulating in Tanzania. *PLoS One*, **8(8)**: e71131.
- Klasse P.J., 2012.-** The molecular basis of HIV entry. *Cell Microbiol*, **14(8)**: 1183-92.
- Konou A.A., Dagnra A.Y., Vidal N., Salou M., Adam Z., Singo-Tokofai A., Delaporte E., Prince-David M. & Peeters M., 2015.-** Alarming rates of virological failure and drug resistance in patients on long-term antiretroviral treatment in routine HIV clinics in Togo. *AIDS*, **29(18)**: 2527-30.
- Kryndushkin D.S., Alexandrov I.M., Ter-Avanesyan M.D. & Kushnirov V.V., 2003.-** Yeast [PSI+] prion aggregates are formed by small Sup35 polymers fragmented by Hsp104. *J Biol Chem*, **278(49)**: 49636-43.
- Kuhn L., Hunt G., Technau K.G., Coovadia A., Ledwaba J., Pickerill S., Penazzato M., Bertagnolio S., Mellins C.A., Black V., Morris L. & Abrams E.J., 2014.-** Drug resistance among newly diagnosed HIV-infected children in the era of more efficacious antiretroviral prophylaxis. *AIDS*, **28(11)**: 1673-8.
- Kumar S., Stecher G. & Tamura K., 2016.-** MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol Biol Evol*, **33(7)**: 1870-4.

## REFERENCES

---

- La J., Latham C.F., Tinetti R.N., Johnson A., Tyssen D., Huber K.D., Sluis-Cremer N., Simpson J.S., Headey S.J., Chalmers D.K. & Tachedjian G., 2015.-** Identification of mechanistically distinct inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase through fragment screening. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **112(22)**: 6979-84.
- Li A., Gong S. & Johnson K.A., 2016.-** Rate-limiting Pyrophosphate Release by HIV Reverse Transcriptase Improves Fidelity. *J Biol Chem*, **291(51)**: 26554-26565.
- Librelotto C.S., Gräf T., Simon D., de Almeida S.E. & Lunge V.R., 2015.-** HIV-1 epidemiology and circulating subtypes in the countryside of South Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop*, **48(3)**: 249-57.
- Loubet P., Charpentier C., Visseaux B., Borbor A., Nuta C., Adu E., Chapplain J.M., Baysah M., Tattevin P., Yazdanpanah Y. & Descamps D., 2015.-** Prevalence of HIV-1 drug resistance among patients failing first-line ART in Monrovia, Liberia: a cross-sectional study. *J Antimicrob Chemother*, **70(6)**: 1881-4.
- Loukou Y.G., Zinzendorf N.Y., Kouadio H., Djé L., Cablan M.A., Lathro S.J. & Akoua K.M-C., 2012.-** Genetic Diversity and Antiretroviral Drug Resistance among Drug-Naïve HIV-1 Infected Pregnant Women Attending Antenatal Clinics in Abidjan, Côte d'Ivoire. *World Journal of AIDS*, **2(2)**: 57-63.
- Madiba T.E., Muckart D.J. & Thomson S.R., 2009.-** Human immunodeficiency disease: how should it affect surgical decision making? *World J Surg*, **33(5)**: 899-909.
- Marcelin A-G. & Calvez V., 2007.-** Résistance du VIH aux inhibiteurs d'entrée. *Virologie*, **11(2)**: 130-134.
- Mattevi V.S. & Tagliari C.F., 2017.-** Pharmacogenetic considerations in the treatment of HIV. *Pharmacogenomics*, **18(1)**: 85-98.
- Mbopi-Keou F-X., Voundi E. V., Kalla G. C. M., Emah I., Angwafo F. & Muna W., 2014.-** Facteurs influençant l'initiation au traitement antirétroviral des personnes vivant avec le VIH dans les Centres de Traitement Agréés de Bamenda et de Bertoua au Cameroun. *The Pan Afr Med J*, **17**: 6.

## REFERENCES

---

- McIntosh K., FitzGerald G., Pitt J., Bremer J.W., Hillyer G.V., Landesman S., Rosenblatt H., Lew J.F., Davenny K. & Moye J., 1998.**- A comparison of peripheral blood coculture versus 18- or 24-month serology in the diagnosis of human immunodeficiency virus infection in the offspring of infected mothers. Women and Infants Transmission Study. *J Infect Dis*, **178**(2): 560-3.
- Mehellou Y. & De Clercq E., 2010.**- Twenty-six years of anti-HIV drug discovery: where do we stand and where do we go?. *J Med Chem*, **53**(2): 521-38.
- Michaud V., Bar-Magen T., Turgeon J., Flockhart D., Desta Z. & Wainberg M.A., 2012.**- The dual role of pharmacogenetics in HIV treatment: mutations and polymorphisms regulating antiretroviral drug resistance and disposition. *Pharmacol Rev* **64** (3): 803-33.
- MSHP., 2009.**- Carte sanitaire 2008 de la Côte d'Ivoire. Rapport DIPE, Côte d'Ivoire, 51p.
- Mossoro-Kpinde C.D., Gody J.C., Mboumba B.R.S., Mbitikon O., Jenabian M.A., Robin L., Matta M., Zeitouni K., Longo J.D., Costiniuk C., Grésenguet G., Touré K. N.C. & Bélec L., 2017.**- High levels of virological failure with major genotypic resistance mutations in HIV-1-infected children after 5 years of care according to WHO-recommended 1st-line and 2nd-line antiretroviral regimens in the Central African Republic: A cross-sectional study. *Medicine*, **96** (10): e6282.
- Mu L., Zhou R., Tang F., Liu X., Li S., Xie F., Xie X., Peng J. & Yu P., 2016.**- Intracellular pharmacokinetic study of zidovudine and its phosphorylated metabolites. *Acta Pharm Sin B* **6** (2): 158-62.
- Musmade D.S., Vakte S.S., Aher S.J., Ware A.L. & Patil P.P., 2012.**- CURRENT STATUS OF HIV-1 INTEGRASE INHIBITORS. *JGTPS* **3**(4): 856-869.
- Nasir I.A., Emeribe A.U., Ojeamiren I. Adekola H.A., 2017.**- Human Immunodeficiency Virus Resistance Testing Technologies and Their Applicability in Resource-Limited Settings of Africa. *Infect Dis (Auckl)* **10**: 1178633717749597.

## REFERENCES

---

- Ndahimana J.d., Riedel D.J, Mwumvaneza M., Sebuho D., Uwimbabazi J.C., Kubwimana M., Mugabo J., Mulindabigwi A., Kirk C., Kanters S., Forrest J.I., Jagodzinski L.L., Peel S.A., Ribakare M., Redfield R.R. & Nsanzimana S., 2016.-** Drug resistance mutations after the first 12 months on antiretroviral therapy and determinants of virological failure in Rwanda. *Trop Med Int Health*, **21(7)**: 928-35.
- Nikolaitchik O., Keele B., Gorelick R., Alvord W.G., Mazurov D., Pathak V.K. & Hu W.S., 2015.-** High recombination potential of subtype A HIV-1. *Virology*, **484**: 334-40.
- Nouhin J., Madec Y., Ngo-Giang-Huong N., Ferradini L. & Nerrienet E., 2013.-** Increased Risk of Q151M and K65R Mutations in Patients Failing StavudineContaining First-Line Antiretroviral Therapy in Cambodia. *PLoS ONE*, **8(8)**: e73744.
- Novotny L. & AL-Mutairi S., 2016.-** Antiretroviral Therapeutics with Different Mechanisms of Action on HIV Infection. *RJPBCS*, **7(2)**: 90.
- Nyamweya S., Hegedus A., Jaye A., Rowland-Jones S., Flanagan K.L. & Macallan D.C., 2013.-** Comparing HIV-1 and HIV-2 infection: Lessons for viral immunopathogenesis. *Rev Med Virol*, **23(4)**: 221-40.
- Ode H., Matsuda M., Matsuoka K., Hachiya A., Hattori J., Kito Y., Yokomaku Y., Iwatani Y. & Sugiura W., 2015.-** Quasispecies Analyses of the HIV-1 Near-full-length Genome With Illumina MiSeq. *Front Microbiol*, **6**: 1258.
- OMS., 2016.-** Lignes directrices unifiées relatives à l'utilisation de médicaments antirétroviraux pour le traitement et la prévention de l'infection à VIH – Dernières informations. – Novembre 2015. Note d'orientation, Suisse, 20 p.
- ONUSIDA., 2014.-** An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. Report 90–90–90, Switzerland, 33 p.
- ONUSIDA., 2016.-** Global AIDS update 2016. Global AIDS update, Switzerland, 13 p.
- ONUSIDA<sup>a</sup>., 2018.-** Statistiques mondiales sur le VIH en 2017. Fiche d'information, Suisse, 6 p.
- ONUSIDA<sup>b</sup>., 2018.-** Country factsheets CÔTE D'IVOIRE | 2017. HIV and AIDS Estimates, Switzerland, 9 p.

## REFERENCES

---

- Parkin N., Chappey C., Maroldo L., Bates M., Hellmann N.S. & Petropoulos C.J., 2002.-** Phenotypic and genotypic HIV-1 drug resistance assays provide complementary information. *J Acquir Immune Defic Syndr*, **31(2)**: 128-36.
- Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents., 2018.-** Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents Living with HIV, 332 p.
- Pankrac J., Klein K. & Mann J.F.S., 2017.-** Eradication of HIV-1 latent reservoirs through therapeutic vaccination. *AIDS Res Ther*, **14(1)**: 45.
- Pattery T., Verlinden Y., De Wolf H., Nauwelaers D., Van Baelen K., Van Houtte M., McKenna P. & Villacian J., 2012.-** Development and Performance of Conventional HIV-1 Phenotyping (Antivirogram®) and Genotype-Based Calculated Phenotyping Assay (virco@TYPE HIV-1) on Protease and Reverse Transcriptase Genes to Evaluate Drug Resistance. *Intervirology*, **55(2)**:138-46.
- Peeters M., D'Arc M. & Delaporte E., 2014.-** Origin and diversity of human retroviruses. *AIDS Rev*, **16(1)**: 23-34.
- Peeters M., Toure-Kane C. & Nkengasong J.N., 2003.-** Genetic diversity of HIV in Africa: impact on diagnosis, treatment, vaccine development and trials. *AIDS*, **17(18)**: 2547-60.
- Pérez-Losada M., Arenas M., Galán J.C., Palero F. & González-Candelas F., 2015.-** Recombination in viruses: mechanisms, methods of study, and evolutionary consequences. *Infect Genet Evol*, **30**: 296-307.
- Plantier J.C., Leoz M., Dickerson J.E., De Oliveira F., Cordonnier F., Lemée V., Damond F., Robertson D.L. & Simon F., 2009.-** A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med*, **15** (8): 871-2.
- PNLS<sup>a</sup>, 2015.-** Directives 2015 de prise en charge des personnes vivant avec le VIH en Côte d'Ivoire. Directive Nationales, Abidjan, 32 p.
- PNLS<sup>b</sup>, 2015.-** Directives 2015 de prise en charge des adultes et adolescents infectés par le VIH/SIDA. Note circulaire du 03 septembre 2015, Abidjan, 2 p.
- PNLS., 2016.-** Document de politique, normes et procédures des services de dépistage du VIH en Côte d'Ivoire Edition 2016. Normes et procédures des services de dépistage du VIH en Côte d'Ivoire, Abidjan, 90 p.

## REFERENCES

---

- PNLS., 2018.-** Communication autour du tester traiter tous en Côte d'Ivoire. Atelier d'élaboration et de révision de messages et matériels pour la communication autour de TESTER TRAITER TOUS, 22-27 octobre 2018, Abidjan, Côte d'Ivoire, 1 p.
- Potard V., Reynes J., Ferry T., Aubin C., Finkielsztejn L., Yazdanpanah Y., Costagliola D. & FHDH ANRS CO4., 2015.-** Durability and Effectiveness of Maraviroc-Containing Regimens in HIV-1-Infected Individuals with Virological Failure in Routine Clinical Practice. *PLoS One*, **10(12)**: e0144746.
- Presloid J.B. & Novella I.S., 2015.-** RNA Viruses and RNAi: Quasispecies Implications for Viral Escape. *Viruses*, **7(6)**: 3226-40.
- Prober J.M., Trainor G.L., Dam R.J., Hobbs F.W., Robertson C.W., Zagursky R.J., Cocuzza A.J., Jensen M.A. & Baumeister K., 1987.-** A system for rapid DNA sequencing with fluorescent chain-terminating dideoxynucleotides. *Science*, **238(4825)**: 336-41.
- Puertas M.C., Buzón M.J., Ballesteros M., Van Den Eede P., Clotet B., Prado J.G., Martinez-Picado J., 2012.-** Novel two-round phenotypic assay for protease inhibitor susceptibility testing of recombinant and primary HIV-1 isolates. *J Clin Microbiol*, **50 (12)**: 3909-16.
- Qari S.H., Respass R., Weinstock H., Beltrami E.M., Hertogs K., Larder B.A., Petropoulos C.J., Hellmann N., Heneine W., 2002.-** Comparative analysis of two commercial phenotypic assays for drug susceptibility testing of human immunodeficiency virus type 1. *J Clin Microbiol*, **40(1)**: 31-5.
- Quashie P.K., Sloan R.D. & Wainberg M.A., 2012.-** Novel therapeutic strategies targeting HIV integrase. *BMC Med*, **10**: 34.
- Rajarapu G., 2014.-** Genes and Genome of HIV-1. *J Phylogen Evolution Biol*, **2**: 126.
- Raugi D.N., Gottlieb G.S., Sow P.S., Toure M., Sall F., Gaye A., N'doye I., Kiviat N.B., Hawes S.E. & University of Washington-Dakar HIV Study Group., 2013.-** HIV-1 outcompetes HIV-2 in dually infected Senegalese individuals with low CD4<sup>+</sup> cell counts. *AIDS*, **27(15)**: 2441-50.

- Rhee S.Y., Jordan M.R., Raizes E., Chua A., Parkin N., Kantor R., Van Zyl G.U., Mukui I., Hosseinipour M.C., Frenkel L.M., Ndembi N., Hamers R.L., Rinke de Wit T.F., Wallis C.L., Gupta R.K., Fokam J., Zeh C., Schapiro J.M., Carmona S., Katzenstein D., Tang M., Aghokeng A.F., De Oliveira T., Wensing A.M., Gallant J.E., Wainberg M.A., Richman D.D., Fitzgibbon J.E., Schito M., Bertagnolio S., Yang C. & Shafer R.W., 2015.-** HIV-1 Drug Resistance Mutations: Potential Applications for Point-of-Care Genotypic Resistance Testing. *PLoS One*, **10(12)**: e0145772.
- Robertson D.L., Anderson J.P., Bradac J.A., Carr J.K., Foley B., Funkhouser R.K., Gao F., Hahn B.H., Kalish M.L., Kuiken C., Learn G.H., Leitner T., McCutchan F., Osmanov S., Peeters M., Pieniazek D., Salminen M., Sharp P.M., Wolinsky S. & Korber B., 2000.-** HIV-1 nomenclature proposal. *Science*, **288(5463)**: 55-6.
- Romeu M.A., Mestre M., González L., Valls A., Verdaguer J., Corominas M., Bas J., Massip E. & Buendia E., 1992.-** Lymphocyte immunophenotyping by flow cytometry in normal adults. Comparison of fresh whole blood lysis technique, Ficoll-Paque separation and cryopreservation. *J Immunol Methods*, **154(1)**: 7-10.
- Rosemary A., Chika O., Jonathan O., Godwin I., Georgina O., Azuka O., Zaidat M., Philippe C., Oliver E., Oche A., David O., Jay S., Ibrahim D., Mukhtar A., Joshua D., Chunfu Y., Elliot R., Beth C., Phyllis K., Emmanuel I., 2018.-** Genotyping performance evaluation of commercially available HIV-1 drug resistance test. *PLoS One*, **13(6)**: e0198246.
- Rossouw T.M., Feucht U.D., Melikian G., van Dyk G., Thomas W., du Plessis N.M. & Avenant T., 2015.-** Factors Associated with the Development of Drug Resistance Mutations in HIV-1 Infected Children Failing Protease Inhibitor-Based Antiretroviral Therapy in South Africa. *PLoS One*, **10(7)**: e0133452.
- Sachithanandham J., Konda R.K., Solomon K., David S., Kumar S.S., Vadhini R.V., Alexander P.S, Cherian A.O., Rupali P., Sridharan G. & Kannangai R., 2016.-** Effect of HIV-1 Subtype C integrase mutations implied using molecular modeling and docking data. *Bioinformation*, **12(3)**: 221-230.
- Sahoo C.K., Rao S.R.M. & Sudhakar M., 2016.-** Problems and Proceedings to Antiretroviral Therapy for the Treatment of AIDS. *SMU Medical Journal*, **3(1)**: 240-254.

## REFERENCES

---

- Salmas R.E., Yurtsever M. & Durdagi S., 2015.-** Investigation of Inhibition Mechanism of Chemokine Receptor CCR5 by Micro-second MolecularDynamics Simulations. *Sci Rep*, **5**:13180.
- Salou M., Dagnra A.Y., Butel C., Vidal N., Serrano L., Takassi E., Konou A.A., Houndenou S., Dapam N., Singo-Tokofai A., Pitche P., Atakouma Y., Prince-David M., Delaporte E. & Peeters M., 2016.-** High rates of virological failure and drug resistance in perinatally HIV-1-infected children and adolescents receiving lifelong antiretroviral therapy in routine clinics in Togo. *J Int AIDS Soc*, **19(1)**: 20683.
- Sanger F., Nicklen S. & Coulson A.R., 1977.-**DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*, **74(12)**: 5463-7.
- Santoro M.M. & Perno C.F., 2013.-** HIV-1 Genetic Variability and Clinical Implications. *ISRN Microbiol*, **2013**: 481314.
- Santos A.F. & Soares M.A., 2010.-** HIV Genetic Diversity and Drug Resistance. *Viruses*, **2(2)**: 503-31.
- Sarafianos S.G., Marchand B., Das K., Himmel D.M., Parniak M.A., Hughes S.H. & Arnold E., 2009.-** Structure and function of HIV-1 reverse transcriptase: molecular mechanisms of polymerization and inhibition. *J Mol Biol*, **385(3)**: 693-713.
- Scherrer A.U., von Wyl V., Yang W.L., Kouyos R.D., Böni J., Yerly S., Klimkait T., Aubert V., Cavassini M., Battegay M., Furrer H., Calmy A., Vernazza P., Bernasconi E., Günthard H.F.; Swiss HIV Cohort Study, Aubert V., Battegay M., Bernasconi E., Böni J., Braun D.L., Bucher H.C., Burton-Jeangros C., Calmy A., Cavassini M., Dollenmaier G., Egger M., Elzi L., Fehr J., Fellay J., Furrer H., Fux C.A., Gorgievski M., Günthard H., Haerry D., Hasse B., Hirsch H.H., Hoffmann M., Hösli I., Kahlert C., Kaiser L., Keiser O., Klimkait T., Kouyos R., Kovari H., Ledergerber B., Martinetti G., Martinez de Tejada B., Marzolini C., Metzner K., Müller N., Nadal D., Nicca D., Pantaleo G., Rauch A., Regenass S., Rudin C., Schöni-Affolter F., Schmid P., Speck R., Stöckle M., Tarr P., Trkola A., Vernazza P., Weber R. & Yerly S., 2016.-** Emergence of Acquired HIV-1 Drug Resistance Almost Stopped in Switzerland: A 15-Year Prospective Cohort Analysis. *Clin Infect Dis*, **62(10)**:1310-1317.

## REFERENCES

---

- Sarafianos S.G., Marchand B., Das K., Himmel D.M., Parniak M.A., Hughes S.H. & Arnold E., 2009.-** Structure and function of HIV-1 reverse transcriptase: molecular mechanisms of polymerization and inhibition. *J Mol Biol*, **385(3)**: 693-713.
- Scherrer A.U., von Wyl V., Yang W.L., Kouyos R.D., Böni J., Yerly S., Klimkait T., Aubert V., Cavassini M., Battegay M., Furrer H., Calmy A., Vernazza P., Bernasconi E., Günthard H.F.; Swiss HIV Cohort Study, Aubert V., Battegay M., Bernasconi E., Böni J., Braun D.L., Bucher H.C., Burton-Jeangros C., Calmy A., Cavassini M., Dollenmaier G., Egger M., Elzi L., Fehr J., Fellay J., Furrer H., Fux C.A., Gorgievski M., Günthard H., Haerry D., Hasse B., Hirsch H.H., Hoffmann M., Hösli I., Kahlert C., Kaiser L., Keiser O., Klimkait T., Kouyos R., Kovari H., Ledergerber B., Martinetti G., Martinez de Tejada B., Marzolini C., Metzner K., Müller N., Nadal D., Nicca D., Pantaleo G., Rauch A., Regenass S., Rudin C., Schöni-Affolter F., Schmid P., Speck R., Stöckle M., Tarr P., Trkola A., Vernazza P., Weber R. & Yerly S., 2016.-** Emergence of Acquired HIV-1 Drug Resistance Almost Stopped in Switzerland: A 15-Year Prospective Cohort Analysis. *Clin Infect Dis*, **62(10)**:1310-1317.
- Schwartz S.A. & Nair M.P., 1999.-** Current concepts in human immunodeficiency virus infection and AIDS. *Clin Diagn Lab Immunol*, **6(3)**: 295-305.
- Serafino S., Cella E., Montagna C., Cavallari E.N., Vittozzi P., Lo Presti A., Giovanetti M., Mazzuti L., Turriziani O., Ceccarelli G., d'Ettorre G., Vullo V. & Ciccozzi M., 2015.-** An epidemiological investigation to reconstruct a probable human immunodeficiency virus-1 transmission network: a case report. *J Med Case Rep*, **9** :253.
- Shafer R.W., 2002.-** Genotypic testing for human immunodeficiency virus type 1 drug resistance. *Clin Microbiol Rev*, **15(2)**: 247-77.
- Shafer RW, Schapiro JM., 2008.-** HIV-1 Drug Resistance Mutations: An Updated Framework for the Second Decade of HAART. *AIDS Reviews*, **10(2)**: 67-84.
- Sharp P.M. & Hahn B.H., 2011.-** Origins of HIV and the AIDS pandemic. *Cold Spring Harb Perspect Med*, **1(1)**: a006841.
- Simon-Lorière E., Galetto R. & Negroni M., 2006.-** Caractéristiques mécanistiques de la recombinaison chez le virus de l'immunodéficience humaine. *Virologie*, **10**: 431-42.

## REFERENCES

---

- Smith L.M., 1991.-** High-speed DNA sequencing by capillary gel electrophoresis. *Nature*, **349** : 812–813.
- Smith S.J., Zhao X.Z., Burke T.R. Jr., Hughes S.H., 2018.-** Efficacies of Cabotegravir and Bictegravir against drug-resistant HIV-1 integrase mutants. *Retrovirology*, **15(1)**: 37.
- Swenson L.C., Chui C.K., Brumme C.J., Chan D., Woods C.K., Mo T., Dong W., Chapman D., Lewis M., Demarest J.F., James I., Portsmouth S., Goodrich J., Heera J., Valdez H. & Harrigan P.R., 2013.-** Genotypic analysis of the V3 region of HIV from virologic nonresponders to maraviroc containing regimens reveals distinct patterns of failure. *Antimicrob Agents Chemother*, **57(12)**: 6122-30.
- Teeranaipong P., Sirivichayakul S., Mekprasan S., Ohata P.J., Avihingsanon A., Ruxrungtham K. & Puthcharoen O., 2016.-** Role of Rilpivirine and Etravirine in Efavirenz and Nevirapine-Based Regimens Failure in a Resource-Limited Country: A Cross- Sectional Study. *PLoS ONE*, **11(4)**: e0154221.
- Thammaporn R., Yagi-Utsumi M., Yamaguchi T., Boonsri P., Saparpakorn P., Choowongkamon K., Techasakul S., Kato K. & Hannongbua S., 2015.-** NMR characterization of HIV-1 reverse transcriptase binding to various non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors with different activities. *Sci. Rep*, **5** : 15806.
- Thompson J.D., Higgins D.G. & Gibson T.J., 1994.-** CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res*, **22(22)**: 4673-80.
- Tongo M., De Oliveira T. & Martin D.P., 2018.-** Patterns of genomic site inheritance in HIV-1 M inter-subtype recombinants delineate the most likely genomic sites of subtype-specific adaptation. *Virus Evol*, **4(1)** : vey015.
- Toni T.A., Masquelier B., Minga A., Anglaret X., Danel C., Coulibaly A., Chenal H., Dabis F., Salamon R., Fleury H.J., and the PRIMO-CI ANRS 1220 STUDY GROUP., 2007.-** HIV-1 Antiretroviral Drug Resistance in Recently Infected Patients in Abidjan, Côte d'Ivoire: A 4-Year Survey, 2002–2006. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **23(9)** : 1155-1160.

## REFERENCES

---

- Tovi. W. M. O., Ouattara. F. S. S., Abo. Y., Minga. A. & Kouakou K., 2014.-** Clinical and Biological Analysis of 149 Patients under Arv TriTherapy Treatment ( Zidovudine-Lamivudine-Nevirapine) at National Centre of Blood Donors of Abidjan in Côte D’ivoire. *J Phys Pharm Adv*, **4(6)**: 368-378.
- Tremblay C., Hardy I., Lalonde R., Trottier B., Tsarevsky I., Vézina L.P., Roger M., Wainberg M. & Baril J.G., 2013.-** HIV-1 tropism testing and clinical management of CCR5 antagonists: Quebec review and recommendations. *Can J Infect Dis Med Microbiol*, **24(4)**: 202-8.
- Turk G. & Carobene M.G., 2015.-** Deciphering How HIV-1 Intersubtype Recombination Shapes Viral Fitness and Disease Progression. *EBioMedicine*, **2(3)**: 188-9.
- Usach I., Melis V. & Peris J.E., 2013.-** Non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors: a review on pharmacokinetics, pharmacodynamics, safety and tolerability. *J Int AIDS Soc*, **16** :1-14.
- Vaidya K.A., Kadam A.V. & Nema V., 2016.-** Anti-Retroviral Drugs for HIV: Old and New. *Austin J HIV/AIDS Res*, **3(2)**: 1026.
- Vallari A., Holzmayer V., Harris B., Yamaguchi J., Ngansop C., Makamche F., Mbanya D., Kaptué L., Ndembi N., Gürtler L., Devare S. & Brennan C.A., 2011.-** Confirmation of putative HIV-1 group P in Cameroon. *J Virol*, **85(3)**: 1403-7.
- Vega Y., Delgado E., Fernández-García A., Cuevas M.T., Thomson M.M., Montero V., Sánchez M., Sánchez A.M., Pérez-Álvarez L. & Spanish Group for the Study of New HIV-1 Diagnoses in Galicia and Basque Country., 2015.-** Epidemiological Surveillance of HIV-1 Transmitted Drug Resistance in Spain in 2004-2012: Relevance of Transmission Clusters in the Propagation of Resistance Mutations. *PLoS One*, **10(5)**: e0125699.
- Vicenti I., Razzolini F., Saladini F., Romano L. & Zazzi M., 2007.-** Use of peripheral blood DNA for genotype antiretroviral resistance testing in drug naive HIV-infected subjects. *Clin Infect Dis*, **44(12)**: 1657-61.

## REFERENCES

---

- Villabona-Arenas C.J., Domyeum J., Mouacha F., Butel C., Delaporte E., Peeters M., Mpoudi-Ngole E. & Aghokeng A.F., 2015.-** HIV-1 group O infection in Cameroon from 2006 to 2013: Prevalence, genetic diversity, evolution and public health challenges. *Infect Genet Evol*, **36**: 210-216.
- Wainberg MA, Brenner BG., 2012.-** The Impact of HIV Genetic Polymorphisms and Subtype Differences on the Occurrence of Resistance to Antiretroviral Drugs. *Molecular Biology International*, **2012** : 256982-256982.
- Wainberg M.A. & Han Y.S., 2015.-** Will drug resistance against dolutegravir in initial therapy ever occur?. *Front Pharmacol*, **6**: 90.
- Wang R.R., Yang Q.H., Luo R.H., Peng Y.M., Dai S.X., Zhang X.J., Chen H., Cui X.Q., Liu Y.J., Huang J.F., Chang J.B. & Zheng Y.T., 2014.-** Azvudine, a novel nucleoside reverse transcriptase inhibitor showed good drug combination features and better inhibition on drug-resistant strains than lamivudine in vitro. *PLoS One*, **9(8)**: e105617.
- Wang Z., Yu Z., Kang D., Zhang J., Tian Y., Daelemans D., De Clercq E., Pannecouque C., Zhan P., Liu X., 2018.-** Design, synthesis and biological evaluation of novel acetamide-substituted doravirine and its prodrugs as potent HIV-1 NNRTIs. *Bioorg Med Chem*, **S0968-0896(18)**: 31963-1.
- Wensing A.M., Calvez V., Günthard H.F., Johnson V.A., Paredes R., Pillay D., Shafer R.W. & Richman D.D., 2015.-** 2015 Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Top Antivir Med*, **23(4)**: 132-41.
- WHO., 2009.-** Antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents. Rapid advice, Switzerland, 28 p.
- WHO., 2013.-** Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Recommendations for public health approach, Switzerland, 272 p.

## REFERENCES

---

- WHO., 2014.-** Guidelines on post-exposure prophylaxis for HIV and the use of cotrimoxazole prophylaxis for HIV-related infections among adults, adolescents and children: recommendations for a public health approach. December 2014 supplement to the 2013 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection, Switzerland, 49 p.
- WHO., 2017.-** HIV drug resistance report 2017. Geneva, 82 p.
- Yang W.L., Kouyos R., Scherrer A.U., Böni J., Shah C., Yerly S., Klimkait T., Aubert V., Furrer H., Battegay M., Cavassini M., Bernasconi E., Vernazza P., Held L., Ledergerber B., Günthard H.F. & Swiss HIV Cohort Study., 2015.-** Assessing the Paradox Between Transmitted and Acquired HIV Type 1 Drug Resistance Mutations in the Swiss HIV Cohort Study From 1998 to 2012. *J Infect Dis*, **212(1)**: 28-38.
- Yeni P., 2008.-** Prise en charge médicale des personnes infectées par le VIH. Recommandations du groupe d'experts, Sous la direction du Professeur Patrick Yeni, France, 432 p.
- Yilmaz M., Ozic C. & Gok İ., 2012.-** Principles of Nucleic Acid Separation by Agarose Gel Electrophoresis. In : Gel Electrophoresis - Principles and Basics. *InTech*, Japon, pp 33-40.
- Zhang D., He H., Liu M., Meng Z. & Guo S., 2016.-** A novel assay for screening inhibitors targeting HIV-1 integrase dimerization based on Ni-NTA magnetic agarose beads. *Sci Rep*, **6**: 25375.

## **ANNEXES**

**Annexe 1: Facs Calibre**



**Annexe 1: Facs Calibur (Becton Dickinson)**

**Annexe 2: Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan**



**Annexe 2: Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan (Roche Diagnostics, Mannheim, Allemagne)**

**Annexe 3: Thermocycleur Gene Amp PCR System 9700**



**Annexe 3:** Thermocycleur GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystem)

**Annexe 4: Dispositif d'électrophorèse sur gel d'Agarose**



**Annexe 4: Dispositif d'électrophorèse sur gel d'Agarose**

**Annexe 5: Transilluminateur**



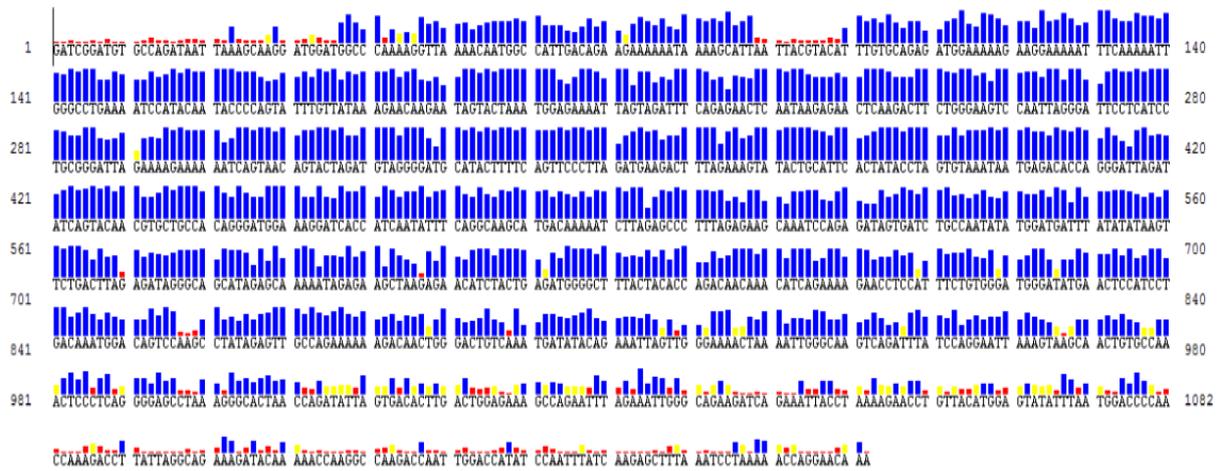
**Annexe 5: Transilluminateur (Spectroline, Westbury, New-York, USA)**

Annexe 6: Séquenceur Genetic Analyser 3130



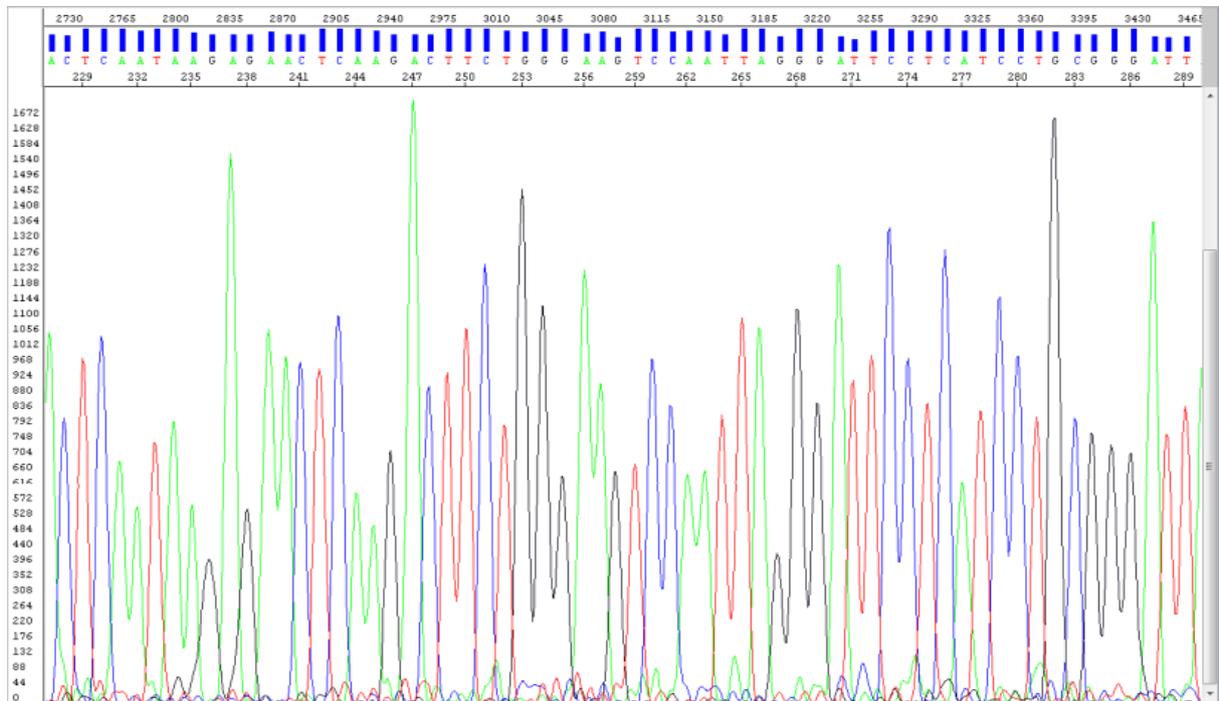
Annexe 6: Séquenceur Genetic Analyser 3130 (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France)

Annexe 7: Données du séquenceur visualisé sous forme de séquences nucléotidiques



Annexe 7 : Données du séquenceur visualisé sous forme de séquences nucléotidiques

Annexe 8: Données du séquenceur visualisé sous forme d'électrophorégrammes



Annexe 8 : Données du séquenceur visualisé sous forme d'électrophorégrammes

Annexe 9: Lettre d'accord du CNER (N° 3408/MSHP du 22/06/2012)



MINISTÈRE DE LA SANTÉ  
ET DE LA LUTTE CONTRE LE SIDA

CABINET

COMITÉ NATIONAL D'ÉTHIQUE ET  
DE LA RECHERCHE (CNER)

N° 3408 /MSLS/CNER-dkn

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE  
UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL

Abidjan, le 22 JUIN 2012

Au  
Docteur Thomas d'Aquin Toul  
(PASRES)

**OBJET:** Autorisation de mise en œuvre du projet de recherche intitulé « Evaluation de la résistance aux antirétroviraux chez des enfants traités depuis au moins 6 mois en Côte d'Ivoire » [PASRES].

Docteur,

Au cours de la session du mercredi 11 avril 2012, le Comité National d'Éthique et de la Recherche (CNER) a examiné votre demande d'autorisation de mise en œuvre du projet cité en objet.

Sous cette perspective, il a été émis un avis favorable sous réserve de la prise en compte des observations du comité à l'utilisation de ce protocole.

Par conséquent, je donne un avis favorable sous réserve des observations à prendre en compte.

Toutefois, il faut noter que la validité de cette autorisation est d'un (1) an à compter de la date de signature.

Par ailleurs, vous saurez gré de bien vouloir transmettre au CNER une copie du rapport de cette étude.

Je vous prie d'agréer, Docteur, l'expression de mes salutations distinguées.

Pour le Ministre et par délégation  
le Directeur du Cabinet  
  
Prof AM OUSOUA. Antoine

Cner-----Tél : +225 58 45 69 25 ----- fax : + 225 22 48 53 05 E-mail : eliarakumbn@yahoo.fr

**Annexe 10: Notice d'information**

**EVALUATION DE LA RESISTANCE AUX ANTIRETROVIRAUX CHEZ DES ENFANTS TRAITÉS DEPUIS AU MOINS 6 MOIS EN CÔTE D'IVOIRE**

**Approuvée par le Comité d'Éthique de Côte d'Ivoire N° 3408/MSHP du 22/06/2012**

Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan, Abidjan, Côte d'Ivoire

**Promoteur: PASRES, Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire**

Tél: (+225) 23-47-28-29

**Investigateur:** Dr Thomas d'Aquin Toni (CIRBA, Abidjan, Côte d'Ivoire)

**Note d'information au patient**

Merci de lire attentivement ce document d'information. Le médecin qui vous reçoit pourra vous donner toutes les informations complémentaires nécessaires à sa compréhension. N'hésitez pas à le refaire lire ou à demander des explications si vous ne comprenez pas certains passages.

Qu'est-ce que « l'infection par le virus VIH » et le « SIDA »?

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est désormais présente dans tous les pays du monde. En Côte d'Ivoire, un grand nombre de personnes ont déjà été contaminées. L'infection par le VIH ne veut pas nécessairement dire SIDA. Quand on est infecté par le virus, les défenses du corps contre les infections (on dit aussi les défenses immunitaires) disparaissent petit à petit. En général, au début on ne s'aperçoit de rien, puis au bout de quelques années les défenses immunitaires sont moins fortes, on devient fragile et on tombe de plus en plus souvent malade parce qu'on n'arrive plus à se défendre contre les maladies. Le SIDA est une maladie grave qui n'apparaît en général que plusieurs années après la contamination par le VIH. Si de nombreux progrès ont été réalisés dans la prise en charge des sujets infectés par le VIH, de nombreuses questions scientifiques et médicales restent encore sans réponses. Cette connaissance est essentielle pour l'amélioration de l'efficacité des traitements.

Il existe deux types de VIH appelés VIH-1 et VIH-2. Ces deux types de virus causent le SIDA. Il existe des traitements qui permettent de bloquer la réplication du virus. Ces traitements deviennent parfois inefficaces à cause de la résistance aux médicaments. Les tests de résistance sont très chers et ne sont pas offerts dans le cadre du programme national. Ces tests permettent

de savoir quel médicament est encore efficace et optimiser ainsi la nouvelle prescription des médecins.

Comment se déroulera l'étude?

Si vous acceptez de participer à cette étude, un médecin vous examinera soigneusement afin de connaître votre état. Ce même jour, un prélèvement de sang sera réalisé. Cette étude nécessite une (01) seule visite. Les examens biologiques de routines et les examens spécifiques de l'étude seront réalisés sur les échantillons de sang. Vous bénéficierez des résultats de ces examens.

Nous prendrons en charge sous la forme d'un forfait vos frais de déplacement pour ce rendez-vous. Vous aurez droit à une collation et bénéficierez gratuitement au cours de l'année de deux bilans biologiques comprenant la charge virale.

Confidentialité:

Toute information vous concernant sera rigoureusement confidentielle et protégée par les règles strictes du secret médical auquel est tenue toute l'équipe participant au projet. Les résultats des examens pratiqués sont strictement confidentiels. Les données recueillies seront rendues anonymes avant d'être utilisées dans le cadre de cette recherche par les responsables du projet. Enfin, si vous le souhaitez, vous serez personnellement informé(e) par votre médecin des résultats de cette recherche dès qu'ils seront disponibles.

Cette étude a été approuvée par le Comité National d'Ethique et de la Recherche.

Adresse boîte postale: 22 BP 80 Abidjan 22, Côte d'Ivoire Renseignements - Secrétariat: 22 40 29 26 / 24

Courriel : lou.penali@gmail.com

Projet approuvé par le Comité National de l'éthique et de la Recherche (no d'approbation...),

Date:...../...../.....

Si vous acceptez de participer à cette étude, il vous suffit de signer le formulaire de consentement de participation. Un exemplaire du document complet vous sera remis.

Nous vous remercions de votre collaboration.

Nom de l'investigateur ayant remis la note d'information: Dr Thomas d'Aquin Toni, FMRPS-CIRBA, 18 BP 2071 Abidjan 18, Tél: 21 24 09 24. Date ...../...../.....

**Annexe 11: Formulaire de consentement et d'assentiment**

**EVALUATION DE LA RESISTANCE AUX ANTIRETROVIRAUX CHEZ DES ENFANTS TRAITÉS DEPUIS AU MOINS 6 MOIS EN CÔTE D'IVOIRE**

**Approuvée par le Comité d'Éthique de Côte d'Ivoire N° 3408/MSHP du 22/06/2012**

Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan, Abidjan, Côte d'Ivoire

**Promoteur: PASRES, Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire**

Tél: (+225) 23-47-28-29

**Investigateur: Dr Thomas d'Aquin Toni (CIRBA, Abidjan, Côte d'Ivoire)**

**Formulaire de consentement**

Je soussigné, M ou Mme .....Certifie que:  
Le médecin désigné ci-dessous m'a proposé de participer à l'étude, selon ce qui est décrit dans la note d'information.

- J'ai lu cette note et je l'ai comprise
- On m'a lu cette note en français et je l'ai comprise
- On m'a traduit cette note et je l'ai comprise

J'en ai discuté avec ce médecin qui m'a expliqué les avantages et les inconvénients de cette étude.

J'ai notamment bien compris que je suis libre d'accepter ou de refuser cette proposition, et que si je m'engage dans cette étude, je pourrai ensuite changer d'avis et interrompre ma participation sans en être inquiété(e) et en continuant à bénéficier des mêmes conditions de traitement et de suivi.

J'accepte de participer à cette étude.

J'autorise que les données confidentielles qui me concernent soient consultées et analysées par les personnes qui collaborent à la recherche et qui sont tenues au secret médical.

J'accepte que des échantillons de mon sang soient conservés au laboratoire d'analyses biologiques dans mon pays. Ces échantillons pourraient être utiles pour des recherches futures sur le VIH, et seulement pour les analyses demandées.

Fait à Abidjan le

Signature

Je soussigné, Dr-----  
certifie avoir expliqué à la personne susnommée l'intérêt et les modalités d'inclusion et de suivi dans notre projet de recherche. Je m'engage à faire respecter les termes de la notice d'information, les droits et libertés individuels ainsi que les exigences d'un travail scientifique.

Cette explication s'est faite:

- Exclusivement en français
- Par moi-même, avec l'aide d'une autre langue
- Avec l'aide d'un traducteur, dans une autre langue

Fait à Abidjan le

Signature

---

**EVALUATION DE LA RESISTANCE AUX ANTIRETROVIRAUX CHEZ DES ENFANTS TRAITÉS DEPUIS AU MOINS 6 MOIS EN CÔTE D'IVOIRE**

**Approuvée par le Comité d’Ethique de Côte d’Ivoire N° 3408/MSHP du 22/06/2012**

Centre Intégré de Recherches Biocliniques d’Abidjan, Abidjan, Côte d’Ivoire

**Promoteur: PASRES, Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d’Ivoire**

Tél: (+225) 23-47-28-29

**Investigateur:** Dr Thomas d’Aquin Toni (CIRBA, Abidjan, Côte d’Ivoire)

**Formulaire d’assentiment**

Je soussigné, M ou Mme-----

Certifie que:

Le médecin désigné ci-dessous m’a proposé de participer à l’étude, selon ce qui est décrit dans la note d’information.

- J’ai lu cette note et je l’ai comprise
- On m’a lu cette note en français et je l’ai comprise
- On m’a traduit cette note et je l’ai comprise

J’en ai discuté avec ce médecin qui m’a expliqué les avantages et les inconvénients de cette étude.

J’ai notamment bien compris que je suis libre d’accepter ou de refuser cette proposition, et que si je m’engage dans cette étude, je pourrai ensuite changer d’avis et interrompre ma participation sans en être inquiété(e) et en continuant à bénéficier des mêmes conditions de traitement et de suivi.

J’accepte de participer à cette étude.

J’autorise que les données confidentielles qui me concernent soient consultées et analysées par les personnes qui collaborent à la recherche et qui sont tenues au secret médical.

J’accepte que des échantillons de mon sang soient conservés au laboratoire d’analyses biologiques dans mon pays. Ces échantillons pourraient être utiles pour des recherches futures sur le VIH, et seulement pour les analyses demandées.

Fait à Abidjan le

Signature

Je soussigné, Dr-----  
certifie avoir expliqué à la personne susnommée l'intérêt et les modalités d'inclusion et de suivi dans notre projet de recherche. Je m'engage à faire respecter les termes de la notice d'information, les droits et libertés individuels ainsi que les exigences d'un travail scientifique.

Cette explication s'est faite:

- Exclusivement en français
- Par moi-même, avec l'aide d'une autre langue
- Avec l'aide d'un traducteur, dans une autre langue

Fait à Abidjan le

Signature



**TRAITEMENT**

À demander au Patient où aux Parents:

12. Avez-vous déjà pris des ARVs avant votre prise en charge thérapeutique actuelle ?

O  N  NSP

13. Avez-vous bénéficié précédemment de la PTME ? O  N  NSP

14. Avez-vous changé de centre de traitement ? O  N  NSP

**Tous les traitements (modifications, interruptions, reprises) doivent être reportés de manière chronologique dans le tableau ci-dessous.**

Commencer par la date du début du traitement et sa description, penser aux changements de molécules depuis le début du traitement, noter si le patient a suspendu son traitement et s'il y a eu des ruptures de stock ARVs qui ont touché le patient.

**15. TABLEAU DES TRAITEMENTS (à remplir dans l'ordre chronologique)**

Traitement	De (jj/mm/aa)	À (jj/mm/aa)	Raison *	
			code	Préciser (pour 1, 2, 3, 4 ou 8

\* Code Raison : 1= Toxicité/ effets secondaires (préciser), 2= Échec thérapeutique (préciser les symptômes), 3 = Échec immunologique (préciser), 4 = Échec virologique (préciser), 5 = Désir de grossesse, 6 = Rupture d'approvisionnement, 7 = Patient, 8 = Autres (préciser).

**DONNÉES BIOLOGIQUES**

***Diagnostic***

16. Date du premier test VIH positif : Inconnue

Connue  |\_|\_|/|\_|\_|/|\_|\_|\_|\_|

17. Type de VIH : VIH-1  VIH-2  VIH-1+2  Non déterminé

**À l'initiation du traitement :**

18. Dosage CD4 à l'initiation : Oui  Non

19. Si oui, donner : Date des CD4 : |\_\_||\_\_||/|\_\_||\_\_||/|\_\_||\_\_||\_\_||\_\_||

Valeurs CD4: |\_\_||\_\_||\_\_||\_\_||/ cellules/mm<sup>3</sup> |\_\_| |\_\_| %

20. Mesure charge virale à l'initiation: Oui  Non

21. Si oui, donner: Date charge virale: |\_\_||\_\_||/|\_\_||\_\_||/|\_\_||\_\_||\_\_||\_\_||

Valeur charge virale: |\_\_||\_\_|| |\_\_||\_\_||\_\_|| |\_\_||\_\_||\_\_|| copies/ml  
|\_\_||\_\_||\_\_||\_\_||Log<sub>10</sub>

**Données pendant le suivi :**

22. Dosage CD4 : Oui  Non

23. Si oui, donner : Date des CD4 : |\_\_||\_\_||/|\_\_||\_\_||/|\_\_||\_\_||\_\_||\_\_||

Valeurs CD4: |\_\_||\_\_||\_\_||\_\_||/ cellules/mm<sup>3</sup> |\_\_| |\_\_| %

24. Mesure charge virale : Oui  Non

25. Si oui, donner : Date charge virale: |\_\_||\_\_||/|\_\_||\_\_||/|\_\_||\_\_||\_\_||\_\_||

Valeur charge virale: |\_\_||\_\_|| |\_\_||\_\_||\_\_|| |\_\_||\_\_||\_\_|| copies/ml  
|\_\_||\_\_||\_\_||\_\_||Log<sub>10</sub>

**OBSERVANCE**

26. Au cours de la semaine, vous est-il arrivé de manquer la prise de tout (ou partie) de vos médicaments antirétroviraux ?

Oui, 1 jour

Oui, 2 jours

Oui, 3 jours

Oui, 4 jours

Oui, plus de 4 jours

Non, jamais

Cochez une seule case

**27. Au cours des 4 dernières semaines, vous avez :**

Respecté strictement toutes les prises (rythme et quantités)

Respecté globalement les prises hormis quelques écarts

Souvent modifié les prises

Cochez une seule case

Rarement respecté les prises

Arrêté tout traitement à la demande du médecin

Arrêté tout traitement de votre propre initiative

Arrêté tout traitement pour d'autres raisons  précisez,.....

**28. Au cours des 4 dernières semaines, si vous avez arrêté vos médicaments antirétroviraux, à quand remonte la dernière prise ?**

A moins d'une semaine (1 à 7 jours)

Cochez une seule case

Entre 1 et 2 semaines (8 à 14 jours)

Entre 2 et 4 semaines (15 à 28 jours)

**29. En général, lorsque vous avez manqué un traitement, donnez les raisons principales :**

Motifs	Cocher
Oubli	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Trop contraignant (heures de prise, nombre de comprimés, à jeun...)	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Eviter effets secondaires, les effets désagréables des médicaments	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Etat psychologique (le patient se sent malade, déprimé...)	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Bon état général (le patient se sent en forme)	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Contraintes vis-à-vis de l'entourage (travail, famille...)	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Plus de médicament	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>
Autres raisons à préciser :	Oui <input type="checkbox"/> Non <input type="checkbox"/>

Annexe 13: Lettre d'accord du CNESVS (N° 138-18/MSHP du 05/10/2018)



MINISTÈRE DE LA SANTÉ  
ET DE L'HYGIÈNE PUBLIQUE

COMITÉ NATIONAL D'ÉTHIQUE  
DES SCIENCES DE LA VIE ET DE  
LA SANTÉ (CNESVS)

US DPT OF HHS REGISTRATION # : IORG00075

Le Président

N/Réf: 138-18/MSHP/CNESVS-km

REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE  
UNION-DISCIPLINE-TRAVAIL



Abidjan, le **05 OCT. 2018**

A  
**Monsieur DECHI Jean-Jacques Renaud**  
**Investigateur Principal/ Doctorant**  
**UFHB - CIRBA**  
**ABIDJAN**

**OBJET:** Autorisation de mise en œuvre du projet de recherche intitulé :

«**Résistance du VIH aux antirétroviraux dans une cohorte de patients suivis selon une approche de santé publique à Abidjan (République de Côte d'Ivoire)**».

**Monsieur,**

Le Comité National d'Éthique des Sciences de la Vie et de la Santé (CNESVS) a examiné votre demande d'autorisation de mise en œuvre du projet cité en objet.

Sous cette perspective, il a été émis **un avis favorable** à l'utilisation de ce protocole.

Par conséquent, je vous autorise à mettre en œuvre votre étude telle que soumise au Comité National d'Éthique.

Toutefois, il faut noter que la validité de cette autorisation est **d'un an (1) à compter de la date de signature**. Par ailleurs, je vous saurai gré de bien vouloir transmettre au CNESVS une copie du rapport de cette étude dès la fin de sa mise en œuvre.

Je vous prie d'agréer, **Monsieur**, l'expression de mes salutations distinguées.

  
  
**Dr Louis PENALI**

Annexe 14: Notice explicative

**RESISTANCE DU VIH AUX ANTIRETROVIRAUX DANS UNE COHORTE DE PATIENTS SUIVIS SELON UNE APPROCHE DE SANTE PUBLIQUE À ABIDJAN (REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE)**

Approuvée par le CNESVS N° 138-18/MSHP du 05/10/2018

Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan (CIRBA), Abidjan, Côte d'Ivoire

**Promoteur: CIRBA**

Tél: (+ 225) 21 24 09 24

**Étudiant en Thèse :** DECHI Jean-Jacques Renaud (CIRBA, Abidjan, Côte d'Ivoire)

**Encadreur Scientifique :** Dr Thomas d'Aquin Toni (CIRBA, Abidjan, Côte d'Ivoire)

**Directeur de Thèse :** Pr CAMARA Cisse-Massara (UFR-SM, Abidjan, Côte d'Ivoire)

**NOTICE EXPLICATIVE**

**RESUME**

Vous êtes invité à participer à une étude parce que vous avez été diagnostiqué avec une maladie spécifique et répondez aux critères d'étude de participation. Avant de décider, vous devez d'abord comprendre les risques et les avantages. Vous devrez lire attentivement cette notice d'informations, poser des questions aux personnels pour mieux comprendre l'importance de cette étude. Vous ne devriez pas y participer tant que vos questions ne sont pas traitées. Rassurez-vous, vous ne serez pas identifié, la confidentialité sera assurée par le fait que votre nom et votre/vos prénom (s) ne seront pas relevés; seul votre numéro d'anonymat sera enregistré. Dans la base finale, votre numéro d'anonymat sera remplacé par un numéro d'ordre ne permettant pas de remonter à vous.

**Le principal objectif d'une étude de recherche en biologie médicale** est de comprendre les phénomènes pour aider chaque patient. La décision d'y adhérer ne vous fera perdre aucun avantage médical. Votre médecin continuera à vous traiter selon les recommandations en vigueur. Ce faisant, des parties de votre dossier médical peuvent contribuer à la recherche par le promoteur de l'étude.

**Cette étude vise à** déterminer le profil de résistance du VIH aux antirétroviraux (ARV) et la phylogénie moléculaire chez des patients traités en échec thérapeutique à Abidjan (Côte d'Ivoire).

**Contexte et objet de la présente étude de recherche**

Mr DECHI Jean-Jacques Renaud est un étudiant inscrit en thèse de doctorat qui travaille sur la résistance du VIH aux ARV chez des patients sous traitement. Cette étude permettra d'inclure des patients sous traitement ARV depuis au moins 12 mois suivis en routine et ayant eu une indication pour un TGR du VIH. Aucun nouveau prélèvement biologique ne sera effectué. Les échantillons de plasma qui avaient été stockés dans la biothèque (-80°C) du CIRBA au cours des bilans biologiques de routine seront utilisés pour la réalisation des tests génotypiques résistance (TGR).

**PROCEDURES**

- 1- Votre consentement éclairé sera recueilli avant d'analyser votre échantillon.
- 2- l'analyse de votre échantillon consistera à le retrouver dans la biothèque (-80°C) du CIRBA et à effectuer le TGR.

3- Les fichiers de l'étude seront identifiés par des numéros d'anonymat. Dans la base finale, les numéros d'anonymat seront remplacés par des numéros d'ordre ne permettant pas de remonter à vous.

### **RISQUES**

Il n'y a aucun risque corporel pour le patient qui participe à l'étude. Aucun nouveau prélèvement biologique ne sera effectué. Pour éviter des fuites d'information sur l'identité des patients, les investigateurs seront formés à la confidentialité.

### **RESULTATS DE RECHERCHE**

Les résultats des analyses réalisées ne seront pas pertinents pour le patient participant à l'étude. En effet, l'échantillon de plasma qui sera analysé est stocké depuis plusieurs années antérieures à l'état virologique actuel du patient participant à l'étude.

### **AVANTAGES**

Les résultats de cette étude permettront d'améliorer le suivi virologique des PVVIH d'autant plus qu'ils seront obtenus à partir d'échantillon de patients suivis selon les recommandations nationales.

### **COMPENSATION**

La participation à cette étude est gratuite. Vous êtes responsable des coûts associés à vos soins médicaux de routine. Vous avez le choix de participer ou non à cette étude.

### **INFORMATIONS A RECUEILLIR DANS LA BASE DE DONNEES PATIENTS**

- Information démographique (âge, sexe) ;
- Temps sous ARV ;
- Charge virale (Copie/mL) ;
- Taux de CD4/mm<sup>3</sup> ;
- Protocole thérapeutique ;
- Ligne de traitement.

### **SOURCE DE FINANCEMENT DE L'ETUDE**

Le promoteur de cette étude est le CIRBA.

### **QUESTIONS / PROTECTION DE VOS DROITS**

Cette étude sera examinée par le Comité National d'Ethique des Sciences de la Vie et de la Santé (CNESVS).

Si vous acceptez de participer à cette étude, il vous suffit de signer le formulaire de consentement éclairé. Un exemplaire du formulaire de consentement éclairé vous sera remis. Nous vous remercions de votre collaboration.

Pour des questions ou préoccupations relatives à l'étude, contactez Dr Thomas Toni d'Aquin /DECHI Jean-Jacques Renaud. Tel : (+225)21240924/(+225)05898149/(+225)48102567, FMRPS/CIRBA km4 Bd. de Marseille devant CFAO Technologie - Treichville - 18 BP 2071 Abidjan 18, Abidjan - Côte d'Ivoire.

**Signature**

---

**Annexe 15: Formulaire de consentement éclairé**

**RESISTANCE DU VIH AUX ANTIRETROVIRAUX DANS UNE COHORTE DE PATIENTS SUIVIS SELON UNE APPROCHE DE SANTE PUBLIQUE À ABIDJAN (REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE)**

**Approuvée par le CNESVS N° 138-18/MSHP du 05/10/2018**

Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan (CIRBA), Abidjan, Côte d'Ivoire

**Promoteur: CIRBA**

Tél: (+ 225) 21 24 09 24

**Étudiant en Thèse :** DECHI Jean-Jacques Renaud (CIRBA, Abidjan, Côte d'Ivoire)

**Encadreur Scientifique :** Dr Thomas d'Aquin Toni (CIRBA, Abidjan, Côte d'Ivoire)

**Directeur de Thèse :** Pr CAMARA Cisse-Massara (UFR-SM, Abidjan, Côte d'Ivoire)

**CONSENTEMENT ECLAIRE**

J'ai lu ce formulaire de consentement (ou on me l'a lu). Des réponses satisfaisantes ont été données à toutes mes questions sur l'étude. J'ai compris les procédures et les risques de l'étude. Je consens alors librement à participer à cette étude. J'autorise la publication de mes données biologiques et de recherches dans le cadre de cette étude. En signant ce formulaire de consentement, je n'ai renoncé à aucun de mes droits légaux.

Je consens que mes échantillons soient utilisés dans ce protocole sous réserve de l'approbation du CNESVS :

OUI

NON

**Nom du Participant :** \_\_\_\_\_

**Signature du Participant et Date:** \_\_\_\_\_

**Nom de l'Investigateur :** \_\_\_\_\_

**Signature de l'Investigateur et Date:** \_\_\_\_\_

Annexe 16: Formulaire de recueil de données

**RESISTANCE DU VIH AUX ANTIRETROVIRAUX DANS UNE COHORTE DE  
PATIENTS SUIVIS SELON UNE APPROCHE DE SANTE PUBLIQUE À  
ABIDJAN (REPUBLIQUE DE CÔTE D'IVOIRE)  
(Approuvée par le CNESVS N° 138-18/MSHP du 05/10/2018)**

**FORMULAIRE DE RECUEIL DE DONNEES**

**IDENTIFICATION DU PATIENT**

1- Numéro d'anonymat : \_\_\_\_\_

2- Numéro d'ordre : \_\_\_\_\_

**DONNEES GENERALES SUR LE PATIENT**

1- Date de naissance (JJ/MM/AAAA): \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

2- Sexe : Homme  Femme

**CRITERE D'INCLUSION**

1- Date de stockage de l'échantillon de plasma (JJ/MM/AAAA): \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

2- Le patient est suivi en routine au CIRBA : Oui  Non

3- Le patient à une sérologie positive : VIH-1  VIH-2

4- Indication pour un TGR du VIH Mentionné dans le dossier patient : Oui  Non

5- Le patient est sous TAR depuis au moins 12 mois : Oui  Non

5-1- Si oui préciser:

- Le nombre d'années sous TAR: \_\_\_\_\_

- Le protocole thérapeutique: \_\_\_\_\_

- La ligne thérapeutique : 1<sup>ère</sup>  2<sup>ème</sup>  3<sup>ème</sup>

**NOTE:** Tous les critères d'inclusion **doivent être répondus OUI** pour être inclus dans l'étude

**CRITERE D'EXCLUSION**

1- Le patient n'est pas sous TAR: Oui  Non

**NOTE:** Le critère d'exclusion **doit être répondu NON** pour être inclus dans l'étude

**Le patient a-t-il satisfait aux critères d'éligibilité pour cette étude?** Oui  Non

**Signature de l'Investigateur et Date:**

## Annexe 17: Valorisation scientifique du travail

### Publications

**1- Renaud J-J. Dechi**, Thomas A. Toni, Phillippe J-L. N'din, Jean F. N'guessan, Emmanuel Brou, Ahoua Aguia, Kouadio Kouakou, Henri Chenal, Massara Camara-Cisse. (2018). Profil de mutation de résistance aux inhibiteurs de protéase chez les enfants sous traitement antirétroviral depuis au moins 6 mois à Abidjan (Côte d'Ivoire). *International Journal of Virology and Molecular Biology* **7** (2) : 33-37. DOI: 10.5923/j.ijvmb.20180702.02.

**2- Dechi J-J. Renaud**, TONI T. d'Aquin, N'DIN J-L. Philippe, N'GUESSAN J-F, KOUAKOU Kouadio, CHENAL Henri, CAMARA-Cisse Massara. (2018). Résistance aux antirétroviraux chez des personnes infectées par le VIH en échec virologique en Côte d'Ivoire, Afrique de l'ouest. *International Journal of Biochemistry, Bioinformatics and Biotechnology Studies* **3** (2) : 7-19.

### Posters

**1- DECHI Jean-Jacques Renaud**; TONI Thomas d'Aquin; N'DIN Jean-Louis Philippe; N'GUESSAN Jean François; BROU Emmanuel ; AGUIA Ahoua; KOUAKOU Kouadio; CHENAL Henri ; CAMARA-Cisse Massara. 19<sup>ème</sup> ICASA, Côte d'Ivoire, 04 au 09 Décembre 2017: Résistance du VIH-1 aux antirétroviraux chez des patients sous traitement depuis au moins 12 mois à Abidjan (Côte d'Ivoire). Numéro abstract : THPDB015.

### Communications

**1- TA TONI, JJ DECHI**, E MESSOU, JF NGUESSAN, E BROU, JL NDIN, S ESSIEN, H CHENAL. 7<sup>ème</sup> Conférence Internationale Francophone AFRAVIH- Montpellier Avril 2014: Profiles de résistance génotypique chez des enfants en échec virologique et suivis selon les recommandations nationales en Côte d'Ivoire.

**2- TA TONI, JJ DECHI**, E MESSOU, JF NGUESSAN, E BROU, JL NDIN, S ESSIEN, H CHENAL. 17<sup>ème</sup> International Conference ICASA/CISMA, Le Cap, Afrique du Sud, 7 au 11 Décembre 2013 : High Prevalence Of Genotypic Resistance Mutations And Genetic Variability In Children Failing First Line And Second Line Antiretroviral Treatment In Abidjan, Côte d'Ivoire.

# Protease Inhibitor Resistance Mutation Profile in Children on Antiretroviral Therapy for at Least Six Months in Abidjan (Côte d'Ivoire)

Renaud J-J. Dechi<sup>1,2</sup>, Thomas A. Toni<sup>1,\*</sup>, Phillipe J-L. N'din<sup>1,2</sup>, Jean F. N'guessan<sup>1</sup>, Emmanuel Brou<sup>1</sup>, Ahoua Aguia<sup>1</sup>, Kouadio Kouakou<sup>1</sup>, Henri Chenal<sup>1</sup>, Massara Camara-Cisse<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Virology Laboratory, Abidjan Integrated Bioclinical Research Center (CIRBA), Abidjan, Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Biochemistry Laboratory, Faculty of Medical Sciences, University of Félix Houphouët-Boigny (UFHB), Abidjan, Côte d'Ivoire

**Abstract** Protease inhibitors (PIs) select more mutations than any other class of antiretroviral drugs (ARV). The objective of our study was to determine minor and major mutations in HIV-1 protease that may decrease the efficacy of PIs in children. The determination of mutations and their interpretations were performed using ANRS techniques and algorithms ([www.hivfrenchresistance.org](http://www.hivfrenchresistance.org)). Sequence analysis identified 13% of children resistant to PIs. Frequent minor mutations were M36I and K20I (100% respectively), H69K (88%), L89M and I54V (75% respectively) and G16E (50%). The major mutations were V82A (75%), M46I (63%), L90M (38%) and L76V (13%). Resistance was noted to Indinavir (IDV) and Fosamprenavir/Ritonavir (FPV/r) (75% respectively), Nelfinavir (NFV) and Saquinavir/Ritonavir (SQV/r) (50% respectively), Atazanavir/Ritonavir (ATV/r) (38%) and Lopinavir/Ritonavir (LPV/r) (25%). This study identified mutations associated with PIs resistance in children. The minor mutations frequently encountered whose association with other mutations cause resistance to LPV/r and ATV/r respectively were I54V and G16E. The major mutation responsible for resistance to LPV/r was L76V. The combination of minor and major mutations frequently associated with PIs ineffectiveness was the combination of 4 mutations, I54V, V82A, L90M and M46I for LPV/r and 3 mutations, G16E, L90M and M46I for ATV/r. No resistance to DRV/r was observed, it could be a surrogate molecule.

**Keywords** Resistance mutation, Child, HIV-1, Protease inhibitor, Côte d'Ivoire

## 1. Introduction

The era of highly active antiretroviral therapy (HAART) began with the introduction of protease inhibitors (PIs) in combination with nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs) [1].

HAART has reduced HIV-related morbidity and mortality among children in resource-limited countries [2, 3].

But PIs select more mutations than any other class of antiretroviral drugs (ARV) [4]. The accumulation of these mutations will induce resistance to PIs [1]. Furthermore, the development of broad cross-resistance in this class presents a real challenge in clinical practice [1, 5] especially in children where there are difficulties in the limited number of paediatric dosage forms, adherence, social environment,

psychosocial factors and lack of biological monitoring [6].

The US Food and Drug Administration (US-FDA) has approved the marketing of 8 PIs [7]. In Côte d'Ivoire, only one is used in children [8]. It is therefore essential to monitor resistance mutations that may affect sensitivity to PIs in a context where therapeutic combination choices remain limited and the number of children on HAART is increasing.

With very little up-to-date data on mutations associated with PIs ineffectiveness in children in Côte d'Ivoire, we initiated this study to determine the minor and major mutations in the HIV-1 protease gene involved in the decreased efficacy of PIs.

## 2. Materials and Methods

### 2.1. Study Population

A sample of children from a prospective national cohort at the Abidjan Integrated Bioclinical Research Centre (CIRBA) from 2012 to 2013, including 260 children infected with HIV-1, constituted our study population. The children included in the study had HIV-1 or HIV-1+2 positive

\* Corresponding author:

ta\_toni@yahoo.com (Thomas A. Toni)

Published online at <http://journal.sapub.org/ijvmb>

Copyright © 2018 The Author(s). Published by Scientific & Academic Publishing

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International

License (CC BY). <http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>

serology, were under 18 years of age, had started and been on ARV therapy for at least 6 months at CIRBA, and had a viral load greater than 1000 copies/mL. The study was approved by the National Research and Ethics Committee (CNER).

## 2.2. Determination of Mutations in the Protease Gene

The determination of minor and major mutations on the protease gene was performed using ANRS AC11 reference techniques (<http://www.hivfrenchresistance.org>). To do this, the protease gene was amplified after extraction of viral RNA with the QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Germany). The Titan One Tube RT-PCR System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) was used for the first PCR and the Expand™ High Fidelity PCR System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) for the second PCR. The amplicons obtained were purified with the QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Germany). The sequence reaction was performed with the BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France). The products of the sequence reaction were precipitated and purified by an ethanol purification process according to the manufacturer's recommendations (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France). An electrophoretic migration of the purified products was done with the Genetic Analyser sequencer 3130 (Applied Bio system, Courtaboeuf, France) for sequence determination. The sequences obtained were aligned with the HIV-1 reference (HIV-1 HXB2, accession number GenBank: K03455) using SeqScape 3.0 software (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France). The list of mutations defined is that of the International Aids Society (IAS, <http://www.iasusa.org>). The interpretation was made using the ANRS algorithm (<http://www.hivfrenchresistance.org/>, September 2016, Version 26).

## 2.3. Phylogenetic Analyses

In order to specify the viral subtypes, the consensus sequences obtained were aligned with the reference sequences available in the GenBank (<http://hiv-web.lanl.gov/>). The sequences were aligned with Clustal W [9] software implemented in the BioEdit v7 program [10]. The phylogenetic trees were made with Mega 7 software [11].

## 2.4. Data Processing and Statistical Analysis

The SPSS Statistics 17.0.1 software was used for statistical analyses.

## 3. Results

### 3.1. Study Patient Characteristics

From a cohort of 260 children, 61 were included in our study, or 23% (n=61/260). Women represented 57% (n = 35/61) of the studied population. The median age was 11 years (03-17 years). The proportion of children on PIs was

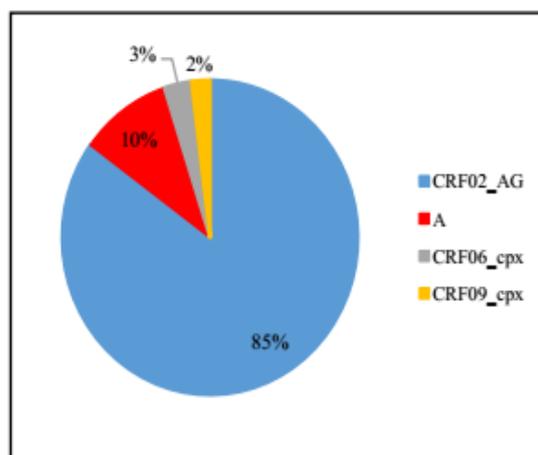
51% (n= 31/61). The median viral load was 4.4 log<sub>10</sub> copies/mL (03-6.6) with a median CD4 count of 411/mm<sup>3</sup> (33-1388). The median duration of treatment was 6 years (01-12) (Table 1).

**Table 1.** Social, biological, and therapeutic characteristics of the 61 children included in the CIRBA study in 2012 and 2013 (N=61/260, 23%)

Characteristics	Value	Interval
<b>Sex</b>		
Female (n, %)	35	57
<b>Age (year)</b> (median, IQR)	11	(03-17)
<b>CD4/mm<sup>3</sup></b> (median, IQR)	411	(33-1388)
<b>Viral load</b> (median log <sub>10</sub> , IQR)	4.4	(03-6.6)
<b>Duration under ART (year)</b> (median, IQR)	6	(01-12)
<b>First line ARV (N, %)</b>	30	49
<b>Second line ARV (N, %)</b>	31	51

### 3.2. Distribution of Viral Subtypes

The synthesis of the different phylogenetic analyses showed that CRF02\_AG represented 85% (n= 52/61) of the isolated viral subtypes. Then, subtypes of the viral population, A, CRF06\_cpx and CRF09\_cpx represented 10% (n = 6/61), 3% (n = 2/61) and 2% (n = 1/61) respectively. Non-B strains of HIV-1 represented 100% (n= 61/61) of the viral subtypes observed (Fig. 1).



**Figure 1.** Distribution of HIV-1 subtypes of the 61 children included in the study at CIRBA in 2012 and 2013 obtained from phylogenetic trees produced using BioEdit v7 and Mega7 software. The consensus sequences were aligned and compared with the reference sequences: subtype A (92UG-UGO37, 94SE-SE7523, and 94KE-Q23), subtype B (90US-WEAU160, 86US-JFRL, and 83FR-HXB2), subtype C (86ET-ETH2220, 96BW-0502, and 95IN-21068), subtype D (94UG-114, 83CD-NDK, and 99TCMN011), F1 subtype (93BR-20, 93BE-VI850, and 93FI-FIN9363), F2 subtype (95CM-MP255, CM-MP257, and CM53657), G subtype (93SE-SE61615, 93FI-HH8793, and 96DE-DRCBL), H subtype (90CF-CF056, BE.VI991, and BE.VI997), subtype J (93SE-SE92809 and 93SE-SE91733), subtype K (97CD-EQTB11 and 96CM-MP535), CRF02\_AG (IBNG, DJ263, and 98SE-MP1211), CRF06\_cpx (BFP90 and 95ML-84), and CRF09 (96GH2911, 95SN1795, and 95SN7808)

**3.3. Distribution of Mutations on the Protease Gene**

Analysis of the 61 sequences identified 56 substitutions of which 93% (n=52/56) were minor mutations and 7% (n=04/56) were major mutations. There were 24 mutations associated with resistance.

Minor mutations frequently associated with resistance were M36I (substitution of a methionine in position 36 by an isoleucine) and K20I (substitution of a lysine in position 20 by an isoleucine) with a respective frequency of 100% (n= 8/8), H69K (substitution of a histidine in position 69 by a lysine) 88% (n= 7/8), L89M (substitution of a leucine in position 89 by a methionine) and I54V (substitution of an isoleucine in position 54 by a valine) with a respective frequency of 75% (n= 6/8) and G16E (substitution of a glycine in position 16 by a glutamate) 50% (n= 4/8).

There were 8 children with PIs resistance, representing a prevalence of 13% (n=8/61). The major resistance mutations and their frequencies are presented in Table 2. The presence of V82A (substitution of a valine in position 82 by an alanine) 75% (n= 6/8), M46I (substitution of a methionine in position 46 by an isoleucine) 63% (n= 5/8), L90M (substitution of a methionine in position 36 by an isoleucine) 38% (n= 3/8) and L76V (substitution of a leucine in position 76 by a valine) 13% (n= 1/8) was noted.

**Table 2.** Major mutations in PIs resistance and their frequency in the 8 resistant children included in the CIRBA study in 2012 and 2013

Major mutation	Frequency (%)
V82A	75%
M46I	63%
L90M	38%
L76V	13%

**3.4. Genotypic Profiles and Resistant PIs in Children in Failure**

Genotypic profiles and PIs resistant in children are presented in Table 3. All children with resistance had in common the minor mutations M36I and K20I. H64K was present in 7 children (PR 02, 03, 04, 05, 06, 07 and 08), L89M and I54V were found in 6 children (PR 01, 02, 03, 05, 06, 08 and PR 01, 04, 05, 06, 07 08 respectively) and G16E in 4 children (PR 01, 02, 06 and 07). PR 07 had all major mutations (V82A, M46I, L90M and L76V) encountered in our study. PR 04, 05, 06 and 08 had in common the major mutations M46I and V82A. PR 02 and 03 had only one major mutation, the L90M. PR01 also had only one major mutation, V82A.

**3.5. PIs Resistance Frequency**

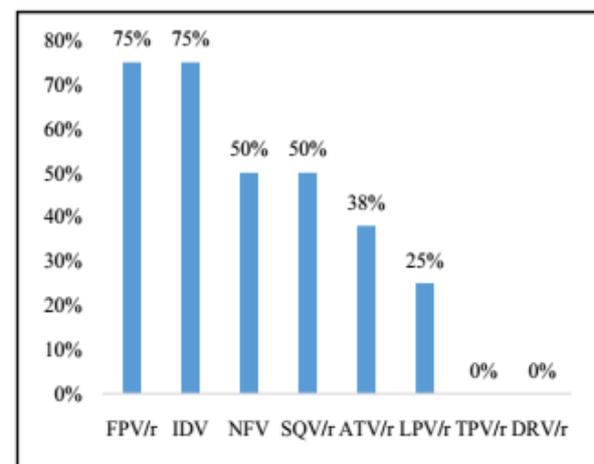
Among children with PIs resistance, 2 were in the first line of treatment. Their treatment regimens at the time of failure were DDI+3TC+EFV and AZT+3TC+EFV, respectively. There were 6 children in the second line of treatment who were PIs resistant. Of these, 3 were on a regimen at the time of failure ABC+DDI+LPV/r. Two others had ABC+3TC+LPV/r as their therapeutic regimen. The latter

had as therapeutic regimen AZT+DDI+ LPV/r.

No resistance to TPV/r and DRV/r was observed. Resistance was noted to IDV and FPV/r with a respective frequency of 75% (n= 6/8), NFV and SQV/r with a respective frequency of 50% (n= 4/8), ATV/r 38% (n= 3/8) and LPV/r 25% (n= 2/8). The frequency of PIs resistance is shown in Figure 2.

**Table 3.** Genotypic profiles and resistant PIs in the 8 resistant children included in the CIRBA study in 2012 and 2013

Patient ID	Resistant PI	Major Mutation	Minor Mutation
PR 01	IDV, FPV/r	V82A	M36I, K20I, L89M, I54V, G16E, L10V, L63P
PR 02	NFV	L90M	M36I, K20I, L89M, H69K, G16E
PR 03	NFV	L90M	M36I, K20I, L89M/V, H69K, L10V
PR 04	IDV, FPV/r, LPV/r, ATV/r	M46I, V82A	M36I, K20I, H69K, I54V, L10V, L63P, A71T, L89I, L33I
PR 05	IDV, SQV/r, FPV/r	M46I, V82A	M36I, K20I, L89M, H69K, I54V, I62V, L10I, T74P
PR 06	IDV, SQV/r, NFV, FPV/r, ATV/r	M46I, V82A	M36I, K20I, L89M, H69K, I54V, G16E, L10I, L24I, Q58E
PR 07	IDV, SQV/r, NFV, FPV/r, LPV/r, ATV/r	M46I, L76V, V82A, L90M	M36I, K20I, H69K, G16E, I54V, L89I, L10F, I62V, I15V
PR 08	IDV, SQV/r, FPV/r	M46I, V82A	M36I, K20I, L89M, H69K, I54V, L10I, T74P, I62V



**Figure 2.** HIV-1 PIs resistance frequencies in the 8 resistant children included in the CIRBA study in 2012 and 2013

**4. Discussion**

Phylogenetic analysis of the protease gene in children revealed a heterogeneous distribution of 4 non-B strains of HIV-1 among which CRF02\_AG (85%) was predominant.

Our study indicated that children infected with non-B strains of HIV-1 had a high frequency of minor mutations.

The most frequent were: M36I, K20I, H69K, L89M, I54V and G16E. The major mutations encountered were V82A, M46I, L90M and L76V.

Our results are in agreement with those of Anejo-Okopi *et al.*, 2014 [12] and Mossoro-Kpinde *et al.*, 2017 [13] who estimate that the minor mutations M36I, K20I, H69K, L89M and G16E are part of the mutations commonly found in non-B strains of HIV-1 and would correspond to the natural polymorphism in the protease gene of these strains. However, accumulation and association with other « minor » mutations, such as codon 10, may affect the sensitivity of some PIs such as SQV/r and ATV/r.

The major mutations in our study have been found in other studies of resistance in children. Thus, Rossouw *et al.*, 2015 [3] and Salou *et al.*, 2016 [6] observed all major mutations in our study, namely V82A, M46I, L90M and L76V. Kuhn *et al.*, 2014 [14] identified 3 of the 4 major mutations, namely M46I, V82A and L76V. Giandhari *et al.*, 2015 [15] observed 2 of the 4 major mutations, namely V82A and M46I.

All children with resistance shared the minor M36I and K20I mutation profiles characteristic of non-B HIV-1 subtypes. The resistance profiles also included H69K (88%), L89M (75%), I54V (63%), G16E (50%) and V82A (75%), M46I (63%), L90M (38%), L76V (13%) for minor and major mutations respectively.

The interpretation of these mutations according to the ANRS algorithm (September 2016) made it possible to associate them with the ineffectiveness of HIV-1 PIs. Thus, M36I is one of the minor mutations associated with other mutations that cause resistance to IDV, FPV/r and TPV/r. Similarly, the addition of K20I to other mutations results in resistance to SQV/r. In the same register, H69K and L89M cause resistance to TPV/r in HIV-1 subtype B. Also the association of I54V with certain mutations leads to resistance to IDV, FPV/r and LPV/r. G16E in combination with other mutations causes resistance to ATV/r. V82A and M46I are responsible for resistance to IDV. L90M and L76V are responsible for resistance to NFV and LPV/r respectively.

Among children with resistance, 2 were in the first line of treatment. Their treatment regimens at the time of failure were DDI+3TC+EFV and AZT+3TC+EFV, respectively. There were 6 children in the second row, with therapeutic regimens consisting of ABC+DDI+LPV/r, ABC+3TC+LPV/r and AZT+DDI+ LPV/r for 3, 2 and 1 children respectively. No resistance to TPV/r and DRV/r was observed. Resistance was noted to IDV and FPV/r with a respective frequency of 75% (n= 6/8), NFV and SQV/r with a respective frequency of 50% (n= 4/8), ATV/r 38% (n= 3/8) and LPV/r 25% (n= 2/8).

In Côte d'Ivoire, LPV/r and ATV/r are the 2 PIs commonly used in children. The prevalence of resistance to these drugs remains moderately high. The resistance developed by children in the first line would probably be the result of resistant viruses transmitted. Children in the second line were on an LPV/r regimen at the time of failure. Resistance to ATV/r, IDV, FPV/r, NFV and SQV/r would be cross-resistance.

## 5. Conclusions

This study confirmed the prevalence of non-B strains of HIV-1, particularly CRF02\_AG. It also identified minor and major mutations in the HIV-1 protease gene associated with PIs resistance in children in Côte d'Ivoire. LPV/r and ATV/r are the 2 PIs commonly used in children infected with HIV-1. Some minor mutations frequently encountered in our study whose association with other mutations led to resistance to LPV/r and ATV/r respectively. The major mutation responsible for resistance to LPV/r was L76V. No single major mutation was responsible for resistance to ATV/r. The combination of minor and major mutations frequently associated with molecule ineffectiveness was the combination of 4 mutations, I54V, V82A, L90M and M46I for LPV/r and 3 mutations, G16E, L90M and M46I for ATV/r. No resistance to TPV/r and DRV/r was observed. TPV/r is not being available in our context; DRV/r because of its genetic barrier remains a molecule of choice in relay treatments with PIs.

## ACKNOWLEDGEMENTS

We thank all the others members of Abidjan Integrated Bioclinical Research Center (CIRBA), PO Box, 2071, Abidjan 18-Côte d'Ivoire for their reception of the office and cooperation.

We thank also the Biochemistry Laboratory, Faculty of Medical Sciences, University of Félix Houphouët-Boigny (UFHB), PO Box, 582 Abidjan 22-Côte d'Ivoire.

We would like to express our deepest gratitude to Strategic Support Program for Scientific Scientist (PASRES), PO Box 1303 Abidjan 01-Côte d'Ivoire for financing this study.

## Abbreviation

ID: patient identity, PI: protease inhibitor, IDV: Indinavir, FPV/r: Fosamprenavir/ Ritonavir, NFV: Nelfinavir, LPV/r: Lopinavir/Ritonavir, ATV/r: Atazanavir/Ritonavir, SQV/r: Saquinavir/ Ritonavir, V: Valine, A: Alanine, L: Leucine, M: Méthionine, I: Isoleucine, K: Lysine, G: Glycine, P: Proline, H: Histidine, T: Thréonine, Q: Glutamine, TPV/r: tipranavir/ritonavir, DRV/r: Darunavir/ritonavir.

## REFERENCES

- [1] Baxter, J. D., Chasanov, W. M., and Adams, J. L., 2016, An Update on HIV-1 Protease Inhibitor Resistance, *Journal of AIDS & Clinical Research*, 7(6), 1000581. <https://doi.org/10.4172/2155-6113.1000581>.
- [2] Budambula, V., Musumba, F. O., Webale, M. K., Kahiga, T. M., Ongecha-Owuor, F., Kiarie, J. N., Sowayi, G. A., Ahmed, A. A., Ouma, C., and Were, T., 2015, HIV-1 protease

- inhibitor drug resistance in Kenyan antiretroviral treatment-naïve and -experienced injection drug users and non-drug users, *AIDS Research and Therapy*, 12, 27. <https://doi.org/10.1186/s12981-015-0070-y>.
- [3] Rossouw, T. M., Feucht, U. D., Melikian, G., van Dyk, G., Thomas, W., du Plessis, N. M., and Avenant, T., 2015, Factors Associated with the Development of Drug Resistance Mutations in HIV-1 Infected Children Failing Protease Inhibitor-Based Antiretroviral Therapy in South Africa, *PloS One*, 10(7), e0133452. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0133452>.
- [4] Shafer, R. W., and Schapiro, J. M., 2008, HIV-1 Drug Resistance Mutations: An Updated Framework for the Second Decade of HAART, *AIDS Reviews*, 10 (2), 67-84.
- [5] Hu, G., Ma, A., Dou, X., Zhao, L., and Wang, J., 2016, Computational Studies of a Mechanism for Binding and Drug Resistance in the Wild Type and Four Mutations of HIV-1 Protease with a GRL-0519 Inhibitor, *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 819. <https://doi.org/10.3390/ijms17060819>.
- [6] Salou, M., Dagnra, A. Y., Butel, C., Vidal, N., Serrano, L., Takassi, E., Konou, A. A., Houndenou, S., Dapam, N., Singo-Tokofaï, A., Pitche, P., Atakouma, Y., Prince-David, M., Delaporte, E., and Peeters, M., 2016, High Rates of Virological Failure and Drug Resistance in Perinatally HIV-1-Infected Children and Adolescents Receiving Lifelong Antiretroviral Therapy in Routine Clinics in Togo, *Journal of the International AIDS Society*, 19(1), 20683. <http://dx.doi.org/10.7448/IAS.19.1.20683>.
- [7] Acharya, A., Salil, V., Harsh, P., Rabindra, N. M., Minal, W., and Pratap, N. M., 2016, Human Immunodeficiency Virus: Discovery to Drug Resistance - A Review Update, *Biol Syst Open Access*, 5(1), 1000154. <https://doi.org/10.4172/2329-6577.1000154>.
- [8] Ministère de la Santé et de la lutte contre le SIDA de Côte d'Ivoire. Recueil des protocoles thérapeutiques nationaux des pathologies. (2013). [Online]. Available: <http://apps.who.int/medicinedocs/fr/m/abstract/Js20987fr/>.
- [9] Thompson, J. D., Higgins, D. G., and Gibson, T. J., 1994, CLUSTAL W: Improving the Sensitivity of Progressive Multiple Sequence Alignment through Sequence Weighting, Position-Specific Gap Penalties and Weight Matrix Choice, *Nucleic Acids Res*, 22, 4673-4680.
- [10] Hall, T. A., 1999, BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT, *Nucleic Acids Symp*, 41, 95-98.
- [11] Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K., 2016, MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets », *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870-74. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.
- [12] Anejo-Okopi, J. A., Onywera, H., Ebonyi, A. O., Agbaji, O. O., Agaba, P. A., James, A., Were, K., Otecko, N., Owiti, P., Isa, S. E., Sagay, S. A., Oguiche, S., Jatau, D. E., Olonitola, S. O., Nimzing, L., and Idoko, J. A., 2014, High Frequency of Non-B Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Subtype Specific Mutations at the Protease Gene among Treatment-naïve HIV-1 Infected Individuals in Jos, Nigeria, *British Journal of Medicine & Medical Research*, 4(13), 2503-2516.
- [13] Mossoro-Kpinde, C. D., Gody, J-C., Bouassa, R-S. M., Mbitikon, O., Jenabian, M-A., Robin, L., Matta, M., Zeitouni, K., Longo, J. D. D., Costiniuk, C., Grésenguet, G., Kane, N. C. T., and Bélec, L., 2017, High Levels of Virological Failure with Major Genotypic Resistance Mutations in HIV-1-Infected Children after 5 Years of Care According to WHO-Recommended 1st-Line and 2nd-Line Antiretroviral Regimens in the Central African Republic: A Cross-Sectional Study, *Medicine*, 96(10), e6282. <https://doi.org/10.1097/MD.0000000000006282>.
- [14] Kuhn, L., Hunt, G., Technau, K-G., Coovadia, A., Ledwaba, J., Pickerill, S., Penazzato, M., Bertagnolio, S., Mellins, C. A., Black, V., Morris, L., and Abrams, E. J., 2014, Drug Resistance among Newly Diagnosed HIV-Infected Children in the Era of More Efficacious Antiretroviral Prophylaxis, *AIDS*, 28(11), 1673-78. <https://doi.org/10.1097/QAD.000000000000261>.
- [15] Giandhari, J., Basson, A. E., Coovadia, A., Kuhn, L., Abrams, E. J., Strehlau R., Morris, L., and Hunt, G. M., 2015, Genetic Changes in HIV-1 Gag-Protease Associated with Protease Inhibitor-Based Therapy Failure in Pediatric Patients, *AIDS Research and Human Retroviruses*, 31(8), 776-82. <https://doi.org/10.1089/aid.2014.0349>.

**ANTIRETROVIRAL RESISTANCE IN HIV-INFECTED PERSONS AT  
VIROLOGICAL FAILURE IN CÔTE D'IVOIRE, WEST AFRICA**

**Dechi J. J. Renaud<sup>1,2</sup>, Toni T. d'Aquin<sup>\*1</sup>, N'din J.L. Philippe<sup>1,2</sup>, N'guessan J. François<sup>1</sup>,  
Kouakou Kouadio<sup>1</sup>, Chenal Henri<sup>1</sup>, Camara-Cisse Massara<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Virology Laboratory, Abidjan Integrated Bioclinical Research Centre (CIRBA), PO Box, 2071, Abidjan 18-Côte d'Ivoire

<sup>2</sup>Biochemistry Laboratory, Faculty of Medical Sciences, University of Félix Houphouët-Boigny (UFHB), PO Box, 582 Abidjan 22-Côte d'Ivoire

---

**ABSTRACT:** *The selection of resistance mutations is one of the main consequences of virological failure. The objective of our study was to determine the resistance profile of HIV-1 to ARVs and molecular phylogeny in patients treated with virological failure in Côte d'Ivoire. The genotypic resistance testing (GRT) were performed and interpreted according to the ANRS algorithm ([www.hivfrenchresistance.org](http://www.hivfrenchresistance.org)). Phylogenetic trees were created using BioEdit v7 and Mega7 software. Phylogenetic analysis showed that CRF02\_AG (83%) was the most represented. Also noted are the circulation of subtype A (9%), B (2%), C (1%), D (1%) and complex recombinants CRF02/A1 (1%), CRF02/CRF09 (1%), CRF09\_cpx (2%), CRF06\_cpx (2%). The frequency of resistance to at least one ARV molecule was 74%. It was 87% for nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), 81% for non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) and 37% for protease inhibitors (PIs). The resistance frequency at two classes was 45% and 12% respectively at NRTIs/NNRTIs and NRTIs/PIs. The frequency of resistance to all three classes (NRTIs /NNRTIs/PIs) was 24%. Frequently encountered resistance mutations were for NRTIs: M184V (88%), "thymidine analogue mutations" (23%); for NNRTIs: K103N (65%). As for PIs, resistance to lopinavir/ritonavir, atazanavir/ritonavir and darunavir/ritonavir were 78%, 57% and 14% of PIs resistance, respectively. The analyses showed a high prevalence of resistance in patients in therapeutic failure followed routinely. These data support more accessible monitoring for the viral load and GRT in subjects treated for therapeutic failure.*

**KEYWORDS:** HIV-1, ARV Resistance, Molecular Phylogeny, Côte d'Ivoire.

---

## **INTRODUCTION**

Since treatment intensification began in the 2000s, the level of resistance of the human immunodeficiency virus (HIV) to antiretrovirals (ARVs) has gradually increased (WHO, 2012; Gupta *et al.*, 2012) and resistance has been identified as one of the main consequences compromising the effectiveness of commonly used therapeutic regimens (Hamers *et al.*, 2012; Wittkop *et al.*, 2011).

The adoption of the « Test and Treat All » strategy to achieve the 90-90-90 targets has resulted in a considerable increase in people receiving antiretroviral treatment (ART) and requiring follow-up. But this situation could result in an increase in resistance in the population, which would be at the root of not achieving one of UNAIDS' objectives, which is to have 90% of people on ART with a viral load suppressed (UNAIDS, 2014).

This increase in resistance would probably come from difficulties in accessing ARVs and monitoring response to treatment. Indeed, these strategies should involve virological tests such as viral load and possibly genotypic resistance testing (GRT). However, access to viral load in Côte d'Ivoire is still limited to certain centres and GRT to reference centres.

Thus, therapeutic regimens are generally initiated or modified without taking into account the level of viral replication and resistance developed by the virus. In addition, HIV-1 subtypes and recombinants have natural resistance to certain molecules (Wainberg and Brenner, 2012 ; Santos and Soares, 2010).

Therefore, monitoring of resistance in people on ART is essential, in a context where therapeutic combination choices remain limited and the number of people on treatment is increasing.

The aim of our study is to determine the resistance profile of HIV-1 to ARVs and molecular phylogeny in patients treated for at least 12 months in Abidjan (Côte d'Ivoire).

## **MATERIALS AND METHODS**

### **Study population**

This is an analytical, descriptive study that analyzed the plasmas of patients with an indication of HIV-1 GRT and followed routinely from June 2015 to July 2017 at the Abidjan Integrated Bioclinical Research Center (CIRBA). The study was approved by the National Ethics Committee for life and health sciences (CNESVS).

### **Determination of HIV-1 resistance patterns to ARVs**

HIV-1 resistance profiles to ARVs have been determined using techniques developed by the ANRS AC11 (<http://www.hivfrenchresistance.org/>). To do this, plasma aliquots of at least 1 mL obtained from samples taken from Ethylene-Diamine-Tetra-Acetic (EDTA) tubes were stored at -80°C until the GRT were obtained. Viral RNA was extracted from plasma using the QIAamp Viral RNA Mini Kit (Qiagen, Germany). The Titan One Tube RT-PCR System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) was used for the first PCR and the Expand™ High Fidelity PCR System (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) for the second PCR. The amplicons obtained were purified with the QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Germany). The sequencing of protease and reverse transcriptase genes was performed with the BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France) and the Genetic Analyser 3130 sequencer (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France) according to the manufacturer's recommendations (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France). The sequences obtained were aligned with the HIV-1 reference (HIV-1 HXB2, accession number GenBank : K03455) using SeqScape software 3.0 (Applied Biosystem, Courtaboeuf, France). The list of defined mutations is that of the International Aids Society (IAS, <http://www.iasusa.org>). The interpretation was made using the ANRS algorithm (<http://www.hivfrenchresistance.org/>, September 2017, Version 27).

### **Phylogenetic analyses**

In order to specify the viral subtypes, the consensus sequences obtained were aligned with the reference sequences available in the GenBank (<http://hiv-web.lanl.gov/>). The sequences were

aligned with Clustal W (Thompson *et al.*, 1994) software implemented in the BioEdit v7 program (Hall, 1999). The phylogenetic trees were made with Mega 7 software (Kumar *et al.*, 2016).

### Data processing and statistical analysis

The SPSS Statistics 17.0.1 software was used for statistical analyses.

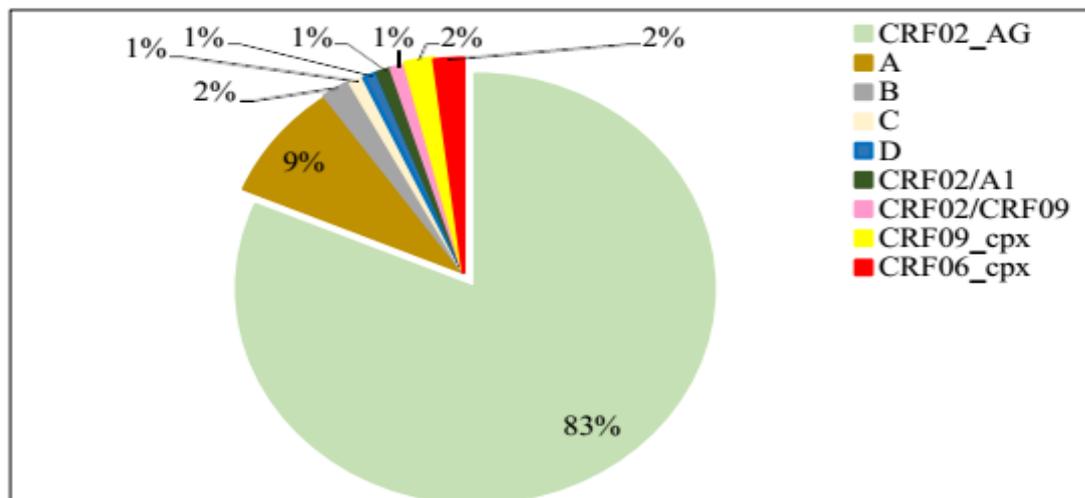
## RESULTS

### Study Patient Characteristics

One hundred eighty-two (N=182) patient plasmas were analyzed over the period June 2015 to July 2017. Patients had a median age of 43 years (18-75). Female gender represented 53% (n = 96/182).

### Overall distribution of viral subtypes and recombinants

The synthesis of the different phylogenetic analyses showed that CRF02\_AG was the most represented 83% (n= 151/182). Also noted were circulation of subtype A (9%; n= 16/182), B (2%; n= 3/182), C (1%; n= 1/182), D (1%; n= 1/182) and complex recombinants CRF02/A1 (1%; n= 1/182), CRF02/CRF09 (1%; n= 1/182), CRF09\_cpx (2%; n= 4/182) and CRF06\_cpx (2%; n= 4/182) (Fig. 1).

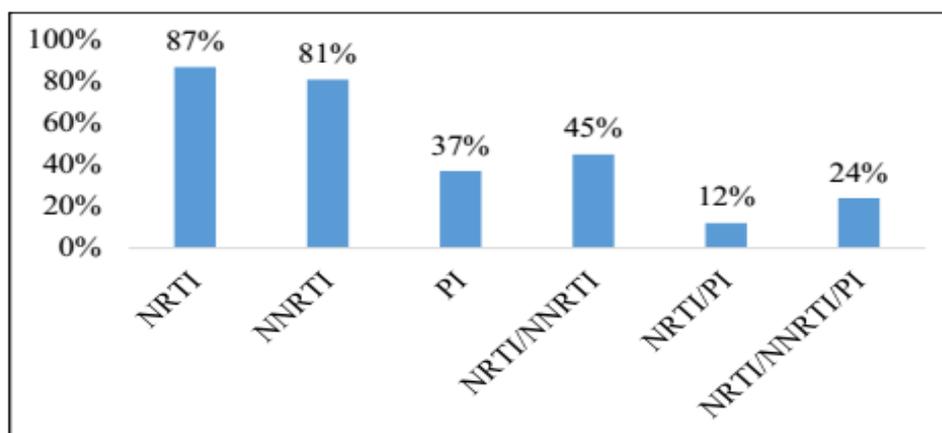


**Figure 1 : Global distribution of subtypes and viral recombinants of 182 HIV-1 patients routinely monitored from June 2015 to July 2017 at CIRBA obtained from phylogenetic trees produced using BioEdit v7 and Mega7 software.** The consensus sequences were aligned and compared with the reference sequences: subtype A (92UG-UGO37, 94SE-SE7523, and 94KE-Q23), subtype B (90US-WEAU160, 86US-JFRL, and 83FR-HXB2), subtype C (86ET-ETH2220, 96BW-0502, and 95IN-21068), subtype D (94UG-114, 83CD-NDK, and 99TCMN011), F1 subtype (93BR-20, 93BE-VI850, and 93FI-FIN9363), F2 subtype (95CM-MP255, CM-MP257, and CM53657), G subtype (93SE-SE61615, 93FI-HH8793,

and 96DE-DRCBL), H subtype (90CF-CF056, BE.VI991, and BE.VI997), subtype J (93SE-SE92809 and 93SE-SE91733), subtype K (97CD-EQTB11 and 96CM-MP535), CRF02\_AG (IBNG, DJ263, and 98SE-MP1211), CRF06\_cpx (BFP90 and 95ML-84), and CRF09 (96GH2911, 95SN1795, and 95SN7808).

### Frequency of resistance to different classes of ARVs

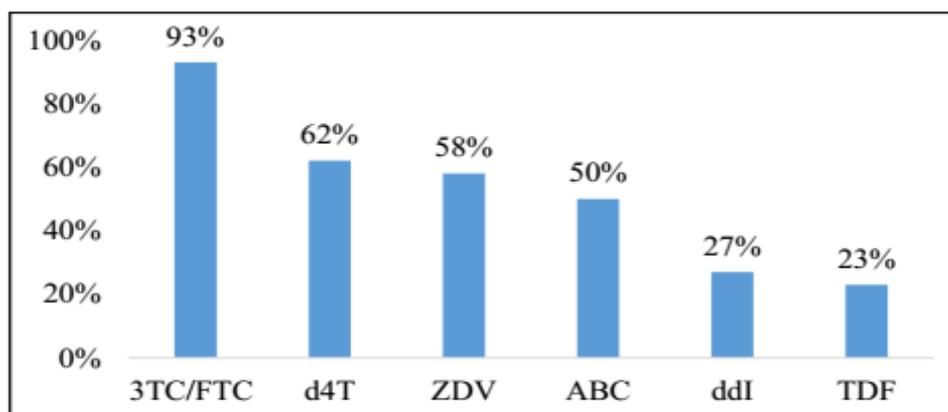
The frequency of resistance to at least one ARV molecule was 74% (n= 134/182). It was 87% (n= 117/134) for nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NRTIs), 81% (n= 108/134) for non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) and 37% (n= 49/134) for protease inhibitors (PIs). The frequency of resistance to two classes was 45% (60/134) at NRTIs/NNRTIs and 12% (16/134) at NRTIs/PIs. The frequency of resistance to all three classes (NRTIs/NNRTIs/PIs) was 24% (32/134) (Fig. 2).



**Figure 2: Frequency of resistance of 134 patients to different classes of ARVs out of 182 HIV-1 patients routinely followed from June 2015 to July 2017 at CIRBA.** NRTI : nucleoside reverse transcriptase inhibitor ; NNRTI : non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor ; PI : protease inhibitor.

### Frequency of resistance to NRTIs

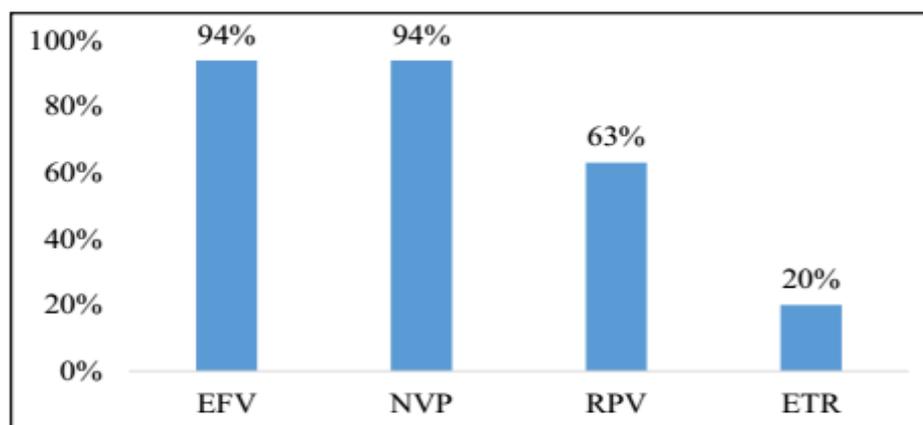
The resistance frequency at 3TC/FTC was 93% (n= 109/117), 62% (n= 73/117) at d4T, 58% (n= 68/117) at ZDV, 50% (n= 59/117) at ABC, 27% (32/117) at ddI, and 23% (28/117) at TDF (Fig. 3).



**Figure 3: Frequency of resistance of 117 patients to NRTIs out of 134 HIV-1 patients resistant to at least one ARV molecule routinely monitored from June 2015 to July 2017 at CIRBA.** 3TC: lamivudine ; FTC: emtricitabine ; d4T: stavudine ; ZDV: zidovudine ; ABC: abacavir, ddI: didanosine ; TDF: tenofovir.

#### Frequency of resistance to NNRTIs

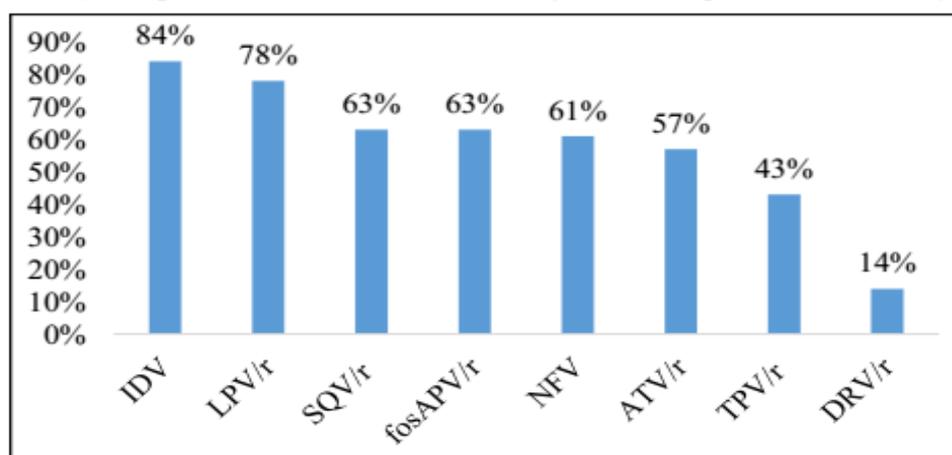
The frequency of resistance to EFV and NVP was 94% (n= 102/108 and n= 101/108 respectively). The RPV was 63% (n= 22/108) and 20% ETR (Fig. 4).



**Figure 4: Frequency of resistance of 108 patients to NNRTIs out of 134 HIV-1 patients resistant to at least one ARV molecule routinely monitored from June 2015 to July 2017 at CIRBA.** EFV: efavirenz ; NVP: nevirapine ; RPV: Rilpivirine ; ETR: Etravirine.

#### PIs resistance frequency

The frequency of resistance to IDV was 84% (n= 41/49), 78% (n= 38/49) to LPV/r, 63% (n= 31/49) respectively to SQV/r and fosAPV/r, 61% (n= 30/49) to NFV, 57% (n= 28/49) to ATV/r, 43% (n= 21/49) to TPV/r and 14% (n= 7/49) to DRV/r (Fig. 5).



**Figure 5: Frequency of resistance of 49 patients to PIs out of 134 HIV-1 patients resistant to at least one ARV molecule routinely monitored from June 2015 to July 2017 at CIRBA.** IDV: indinavir ; LPV/r: lopinavir/ ritonavir ; SQV/r: saquinavir/ ritonavir ; fosAPV/r: fosamprenavir/ritonavir ; NFV: nelfinavir ; ATV/r: atazanavir/ ritonavir ; TPV/r: tipranavir/ ritonavir ; DRV/r: Darunavir/ritonavir.

#### Frequency of resistance mutations in different classes of ARVs

Frequently encountered resistance mutations were M184V (88%) and "thymidine analogue mutations (TAMS)" (T215Y/F, M41L, L210W, D67N, K70R and K219Q/E) (23%) for NRTIs. For NNRTIs, K103N (65%) was frequently encountered. Concerning PIs, the most common were H69K (84%), K20I (73%) and M36I (71%) for minor mutations and M46I (67%) for major mutations.

#### Distribution of primary mutations responsible for resistance to a wide range of ARVs

Primary mutations responsible for resistance to a wide range of ARVs have been found in all classes of ARVs. Thus, resistance to a wide range of the 7 ARVs in the NRTIs class was found in K65R (71%; n= 5/7) and Q151M (57%; n= 4/7) in 1 and 5 patients, respectively. Resistance to all NNRTIs was observed in 23 patients. It was due to Y181C (100%; n= 4/4). Also, 75% (n= 3/4) of ARV resistance in this class was due to K101E, E138K or M230L. These mutations were found in 5, 1 and 2 patients respectively. In the PIs class, the major mutations responsible for the 22% resistance (n=2/9) of ARVs were I84V and N88S found in 20 and 2 patients respectively (Table 1).

**Table 1: Distribution of ARV resistance obtained in 134 HIV-1 patients out of a total of 182 routinely followed from June 2015 to July 2017 at CIRBA**

Mutations (ARVs affected by mutations)	Number of patients (%)
<b>Mutations : NRTI (N= 117)</b>	
M184V/I (3TC/FTC)	106 (91)
T215I/N/V/Y/F (ZDV, d4T)	53 (45)
Q151M (ZDV, ddI, d4T, ABC)	1 (1)
K65R (3TC/FTC, ddI, d4T, ABC, TDF)	5 (4)
L74V/I (ddi, ABC)	25 (9)
V75M/T (d4T)	5 (4)
Y115F (ABC)	7 (6)
K70E (TDF)	9 (8)
<b>Mutations : NNRTI (N= 108)</b>	
K103N/S (EFV, NVP)	72 (67)
L100I (EFV, NVP)	8 (7)
K101E (EFV, NVP, RPV)	5 (5)
K101P (RPV)	2 (2)
V106M (EFV, NVP)	1 (1)
E138K (EFV, RPV, ETR)	1 (1)
E138A/G/Q (RPV)	20 (19)
Y181C (EFV, NVP, RPV, ETR)	23 (21)
Y181V (RPV, ETR)	1 (1)
Y188C/L (EFV, NVP)	13 (12)
Y188L (RPV)	11 (10)
G190A/S (EFV, NVP)	17 (16)
P225H (EFV)	22 (20)
M230L (EFV, NVP, RPV)	2 (2)
A98S (NVP)	2 (2)
H221Y (RPV, ETR)	13 (12)
<b>Mutations : PI (N= 49)</b>	
M46I/L (IDV)	34 (69)
V82A/F/T (IDV)	18 (37)
I84V (IDV, NFV)	20 (41)
G48V (SQV/r)	2 (4)
N88S (NFV, ATV/r)	2 (4)
L90M (NFV)	4 (8)
I50V (fosAPV)	49 (2)
I47A (LPV/r)	2 (4)
L76V (LPV/r)	20 (41)

N : Number of persons with a mutation ; NRTI : nucleoside reverse transcriptase inhibitor ; NNRTI : non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor ; PI : protease inhibitor ; M : Méthionine ; V : Valine ; T : Thréonine ; Y : Tyrosine ; F : Phénylalanine ; L : Leucine ; N : Asparagine ; K : Lysine ; Q : Glutamine ; E : Acide glutamique ; R : Arginine ; I : Isoleucine ; S : Sérine ; C : Cystéine ; P : Proline ; H : Histidine ; A : Alanine ; G : Glycine ; 3TC: lamivudine ; FTC: emtricitabine ; d4T: stavudine ; ZDV: zidovudine ; ABC: abacavir, ddI: didanosine ; TDF: tenofovir ; EFV: efavirenz ; NVP: nevirapine ; RPV: Rilpivirine ; ETR:

Etravirine ; IDV: indinavir ; LPV/r: lopinavir/ ritonavir ; SQV/r: saquinavir/ ritonavir ; fosAPV/r: fosamprenavir/ritonavir ; NFV: nelfinavir ; ATV/r: atazanavir/ ritonavir ; TPV/r: tipranavir/ ritonavir ; DRV/r: Darunavir/ritonavir.

## DISCUSSION

In this study, we determined the phylogenetic and resistance profiles of HIV-1 to ARVs in patients treated for at least 12 months in Abidjan (Côte d'Ivoire).

We found that 26% of patients on treatment for at least 12 months, who had an indication for GRT, had no resistance mutation. This proportion is approximately equal to that obtained in Rwanda (27%) in patients in virological failure without ARV resistance mutations (Ndahimana *et al.*, 2016).

Therefore, one of UNAIDS' goals of having 90% of people on ART with viral load suppressed (UNAIDS, 2014) is not yet achieved. Health authorities must make efforts in this direction to achieve this objective by 2020.

Almost three quarters of patients (74%) had viruses resistant to at least one ARV molecule. This prevalence is close to that obtained in Senegal and Guinea Conakry (Diouara *et al.*, 2014). The proportion of patients with mono-class resistant viruses were 87%, 81% and 37% respectively at NRTIs, NNRTIs and PIs. It is substantially equal to that obtained in Mali and Kenya with regard to NRTIs and NNRTIs (Fofana *et al.*, 2014 ; Kantor *et al.*, 2014). As for PIs, it varies between 0% and 50% in resource-limited countries (Hosseini *et al.*, 2013). Prevalences of 18% and 22% were observed in the same region (Ajose *et al.*, 2012 ; Boender *et al.*, 2016). Our study confirms this trend.

Viruses resistant to dual classes were identified in 45% and 12% of patients for NRTIs/NNRTIs and NRTIs/PIs respectively. For the NRTIs/NNRTIs association, the prevalence is estimated at 47% in Zambia and 52% in Cameroon and Guatemala respectively (WHO, 2017). These values are similar to those of our study. Regarding the NRTIs/PIs association, the prevalence noted in our study is lower than that obtained by other authors (22%) (Boender *et al.*, 2016).

In 24% of cases, patients had viruses resistant to all three classes (NRTIs/NNRTIs/PIs). This challenges us on the need for virological monitoring including GRT for treatment optimization.

Our study thus confirms a high prevalence of resistance to different classes of ARVs in Côte d'Ivoire.

The resistance profiles of ARVs analysed individually revealed lower resistance to ddI (27%) and TDF (23%) in the NRTIs class. In NNRTIs, only 6% of patients had viruses susceptible to EFV and NVP respectively. Moderate resistance to ETR (20%) was found in contrast to RPV (63%). For PIs, 86% of patients had a virus susceptible to DRV/r and 57% to TPV/r.

Our study confirmed the resistance of viruses to the second generation of NNRTIs (ETR and RPV). Our results corroborate those obtained in Togo with roughly equal proportions, 21.5% and 64.4% respectively for ETR and RPV (Konou *et al.*, 2015).

The resistance mutations frequently encountered in our study were M184V (88%) and TAMS (23%) for NRTIs. For NNRTIs, we had K103N (65%). For PIs, H69K (84%), K20I (73%) and M36I (71%) for minor mutations and M46I (67%) for major mutations.

The high prevalence of these mutations in our study has been confirmed by other authors.

As regards mutations at NRTIs, our results are close to those obtained in Togo (M184V (88%) and the TAMS frequently encountered were M41L, D67N/D, K70R, K219E/Q and T215Y/F) (Dagnra *et al.*, 2016), Nigeria (M184V (89%) and TAMS (27%)) (Chaplin *et al.*, 2011) and Mali (M184V (76%) and the TAMS found were M41L, D67N, L210W and T215Y/F/N) (Fofana *et al.*, 2014).

Concerning mutations at NNRTIs, our observations are not very far from those obtained in South Africa (K103N (50%)) (Etta *et al.*, 2017) and Mauritania (K103N (43%)) (Fall-Malick *et al.*, 2014).

A study in India revealed that the mutations frequently observed conferring resistance to NNRTIs and NNRTIs respectively were M184V (90%) and K103N (45%) (Kandathil *et al.*, 2009).

As far as major mutations to PIs are concerned, our results are in agreement with those of a study conducted in sub-Saharan Africa which indicates that M46I (86%) is frequently encountered (Boender *et al.*, 2016). The same finding has been made in patients in India (Kandathil *et al.*, 2009). The minor mutations in our study were identified as part of the minor mutations frequently found in patients in Nigeria (M36I (93%), K20I (77%) and H69K (86%)) (Okopi *et al.*, 2013). This same observation was made in patients who had CRF02\_AG in common (Anejo-Okopi *et al.*, 2014).

Mutations that can induce major resistance as a function of ART are K65R and Q151M for NRTIs, Y181C for NNRTIs and I84V and N88S for PIs.

Indeed, the administration of d4T is associated with the emergence of Q151M and K65R mutations which confer cross-resistance to NRTIs (Nouhin *et al.*, 2013). The selection of such mutations is a critical issue in Côte d'Ivoire where NRTIs molecules available for second-line treatment remain limited. Although the main reasons why World Health Organization (WHO) recommended in 2010 to reduce or discontinue the use of d4T in first-line ARV treatment in resource-limited countries are related to excessive toxicity (WHO, 2009), our observations support this direction because of the association with mutations that make the virus resistant to most or all of the NRTIs available in Côte d'Ivoire.

Many countries with limited resources, such as Côte d'Ivoire, have adopted and adapted to their contexts the 2013 and 2014 recommendations of the WHO (PNLS, 2015; WHO, 2014; WHO, 2013). Thus, the NNRTI-based treatment protocol is widely used as an initial regimen for adult and adolescent patients who have never received HIV-1 treatment (PNLS, 2015). But the problem with the first generation of NNRTIs is its low genetic barrier and broad cross-resistance (Teeranaipong *et al.*, 2016). Thus, a mutation such as Y181C leads to high level resistance to the first generation of NNRTIs (NVP and EFV) and intermediate level resistance to the second generation (RPV and ETR) (Teeranaipong *et al.*, 2016; Diphoko *et al.*, 2018) not yet available in Côte d'Ivoire (PNLS, 2015). In addition, the association of Y181C with other mutations may synergistically exacerbate resistance to ETR and RPV (Teeranaipong *et al.*,

2016). Therefore, early detection of such a mutation would be essential to preserve the activity of future therapeutic regimens including NNRTIs.

PIs resistance is the consequence of the accumulation of amino acid substitutions in the protease (Baxter *et al.*, 2016). Thus I84V and N88S are non-polymorphic mutations leading to resistance to IDV and NFV for the former and to ATV/r and NFV for the latter (<http://www.hivfrenchresistance.org/>, September 2017, Version 27). The panel on antiretroviral guidelines for adults and adolescents, recommends the non-use of certain ARVs including IDV and NFV due to suboptimal antiviral potency, unacceptable toxicities, high pill load, or pharmacological concerns (Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2018). Our observations corroborate this orientation because of their associations with mutations that make the virus resistant to certain PIs including ATV/r which is the preferred option in second line schemes in Côte d'Ivoire (PNLS, 2015).

In light of the evidence, there is a real and growing need for increased access to third line drug options, ideally guided by genotypic resistance testing, to ensure successful HIV-1 treatment in Côte d'Ivoire. In anticipation, increased efforts are needed to reduce the prices of currently unaffordable third line drugs, including DRV/r and Raltegravir (RAL) inhibitors.

The synthesis of the different phylogenetic analyses showed that CRF02\_AG (83%) was the most represented. Circulation was also noted for subtype A (9%), B (2%), C (1%), D (1%) and complex recombinants CRF02/A1 (1%), CRF02/CRF09 (1%), CRF09\_cpx (2%) and CRF06\_cpx (2%).

The predominance of CRF02\_AG and the evolution of the genetic diversity of circulating strains has been observed in several West African countries (Dagnra *et al.*, 2016 ; Anejo-Okopi *et al.*, 2014; Loubet *et al.*, 2015). Our study thus confirms this trend and the need to establish monitoring of the dynamics of these strains.

## CONCLUSIONS

This study confirmed the predominance of CRF02\_AG but showed an evolution in the genetic diversity of circulating strains. The analyses showed a high prevalence of resistance in patients in therapeutic failure followed routinely for at least 12 months. These data support more accessible monitoring for viral load and GRT in subjects treated for therapeutic failure.

## REFERENCES

- Ajose, O., Mookerjee, S., Mills, E. J., Boulle, A. and Ford, N. (2012). Treatment outcomes of patients on second-line antiretroviral therapy in resource-limited settings: a systematic review and meta-analysis. *AIDS*, 26 (8): 929–938.  
<https://doi.org/10.1097/QAD.0b013e328351f5b2>.
- Anejo-Okopi, J. A., Agaba, P. A., Nimzing, L., Ugoagwu, P. O., Were, K., Onywera, H., Owiti, P., Otecko, N., Isa, S. E., Okwori, J. A. E., Sagay, S. A., Oguiche, S., Idoko, J. A., Agbaji, O. O., Jatau, D. E. and Olonitola. S. O. (2013). Prevalence of minor mutations and natural polymorphisms at the protease gene among treatment-naïve human immunodeficiency virus-1 infected individuals in Jos, Nigeria. *Journal of HIV*

- and Human Reproduction, 1 (1) : 8-14. <http://www.j-hhr.org/text.asp?2013/1/1/8/116534>.
- Anejo-Okopi, J. A., Onywera, H., Ebonyi, A. O., Agbaji, O. O., Agaba, P. A., James, A., Were, K., Otecko, N., Owiti, P., Isa, S. E., Sagay, S. A., Oguiche, S., Jatau, D. E., Olonitola, S. O., Nimzing, L. and Idoko, J. A. (2014). High frequency of non-B human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) subtype specific mutations at the protease gene among treatment-naive HIV-1 infected individuals in Jos, Nigeria. *British Journal of Medicine & Medical Research*, 4 (13): 2503-2516.
- Baxter, J. D., Chasanov, W. M. and Adams, J. L. (2016). An Update on HIV-1 Protease Inhibitor Resistance. *Journal of AIDS & Clinical Research*, 7:581. <https://doi.org/10.4172/2155-6113.1000581>.
- Boender, T. S., Hamers, R. L., Ondoa, P., Wellington, M., Chimbetete, C., Siwale, M., Maksimos, E. E. F. L., Balinda, S. N., Kityo, C. M., Adeyemo, T. A., Akanmu, A. S., Mandaliya, K., Botes, M. E., Stevens, W., de Wit, T. F. R. and Sigaloff, K. C. E. (2016). Protease Inhibitor Resistance in the First 3 Years of Second-Line Antiretroviral Therapy for HIV-1 in Sub-Saharan Africa. *The Journal of Infectious Diseases*, 214 (6) : 873–883. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiw219>.
- Chaplin, B., Eisen, G., Idoko, J., Onwujekwe, D., Idigbe, E., Adewole, I., Gashau, W., Meloni, S., Sarr, A.D., Sankalé, J. L., Ekong, E., Murphy, R. L. and Kanki, P. (2011). Impact of HIV Type 1 Subtype on Drug Resistance Mutations in Nigerian Patients Failing First-Line Therapy. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 27 (1) : 71–80. <https://doi.org/10.1089/aid.2010.0050>.
- Dagnra, A., Konou, A., Salou, M., Kodah, P., Kombate, D. and David, P. (2016). Drug Resistance Mutations and Genetic Diversity in Patients Treated for HIV Type 1 Infection in Rural Care Centers in Togo. *Open Journal of Medical Microbiology*, 6 (3) : 111-115 <https://doi.org/10.4236/ojmm.2016.63015>.
- Diouara, A. A. M., Ndiaye, H. D., Guindo, I., Bangoura, N., Cissé, M., Edmond, T., Bougoudogo, F., Mboup, S., Peeters, M., Ayouba, A. and Kane, N. C. T. (2014). Antiretroviral treatment outcome in HIV-1-infected patients routinely followed up in capital cities and remote areas of Senegal, Mali and Guinea-Conakry. *Journal of the International AIDS Society*, 17: 19315. <https://doi.org/10.7448/IAS.17.1.19315>.
- Diphoko, T., Gaseitsiwe, S., Kasvosve, I., Moyo, S., Okatch, H., Musonda, R., Wainberg, M., Makhema, J., Marlink, R., Novitsky, V. and Essex, M. (2018). Prevalence of Rilpivirine and Etravirine Resistance Mutations in HIV-1 Subtype C-Infected Patients Failing Nevirapine or Efavirenz-Based Combination Antiretroviral Therapy in Botswana. *AIDS Research and Human Retroviruses*, 2018. <https://doi.org/10.1089/AID.2017.0135>.
- Etta, E. M., Mavhandu, L., Manhaeve, C., McGonigle, K., Jackson, P., Rekosh, D., Hammarskjold, M-L., Bessong, P. O. and Tebit, D. M. (2017). High level of HIV-1 drug resistance mutations in patients with unsuppressed viral loads in rural northern South Africa. *AIDS Research and Therapy*, 14: 36. <https://doi.org/10.1186/s12981-017-0161-z>.
- Fall-Malick, F-Z., Tchiakpé, E., Soufiane, S. O., Diop-Ndiaye, H., Baye, A. M., Babana, A. O. H., Kane, C. T., Lo, B. and Mboup, S. (2014). Drug resistance mutations and genetic diversity in adults treated for HIV type 1 infection in Mauritania. *Journal of Medical Virology*, 86: 404–410. <https://doi.org/10.1002/jmv.23860>.
- Fofana, D. B., Soulié, C., Baldé, A., Lambert-Niclot, S., Sylla, M., Ait-Arkoub, Z., Diallo, F., Sangaré, B., Cissé, M., Maïga, I. A., Fourati, S., Koita, O., Calvez, V., Marcelin, A. G. and Maïga A. I. (2014). High level of HIV-1 resistance in patients failing long-term first-line antiretroviral therapy in Mali. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 69 (9) : 2531–2535. <https://doi.org/10.1093/jac/dku153>.

- Gupta, R. K., Jordan, M. R., Sultan, B. J., Hill, A., Davis, D. H., Gregson, J., Sawyer, A. W., Hamers, R.L., Ndembu, N., Pillay, D. and Bertagnolio, S. (2012). Global trends in antiretroviral resistance in treatment-naive individuals with HIV after rollout of antiretroviral treatment in resource-limited settings: a global collaborative study and meta-regression analysis. *The Lancet*, 380 (9849): 1250–1258. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61038-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61038-1).
- Hall, T. (1999). BioEdit : a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series*, 41 : 95–98.
- Hamers, R. L., Schuurman, R., Sigaloff, K. C., Wallis, C. L., Kityo, C., Siwale, M., Mandaliya, K., Ive, P., Botes, M. E., Wellington, M., Osibogun, A., Wit, F. W., van Vugt, M., Stevens, W. S., and de Wit, T. F. R. (2012). Effect of pretreatment HIV-1 drug resistance on immunological, virological, and drug-resistance outcomes of first-line antiretroviral treatment in sub-Saharan Africa: a multicentre cohort study. *The Lancet Infectious Diseases*, 12 (4): 307–317. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70255-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70255-9).
- Hosseinipour, M. C., Gupta, R. K., Van Zyl, G., Eron, J. J. and Nachega J. B. (2013). Emergence of HIV Drug Resistance During First- and Second-Line Antiretroviral Therapy in Resource-Limited Settings. *The Journal of Infectious Diseases*, 207 (2) : S49–S56. <https://doi.org/10.1093/infdis/jit107>.
- Kandathil, A. J., Kannangai, R., Verghese, V. P., Pulimood, S. A., Rupali, P., Sridharan, G., Grant, P., Pillay, D. and Abraham O. C. (2009). Drug resistant mutations detected by genotypic drug resistance testing in patients failing therapy in clade C HIV-1 infected individuals from India. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 27 (3) : 231-236. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.53205>.
- Kantor, R., DeLong, A., Balamane, M., Schreier, L., Lloyd, R. M., Injera, W., Kamle, L., Mambo, F., Muyonga, S., Katzenstein, D., Hogan, J., Buziba, N. and Diero, L. (2014). HIV diversity and drug resistance from plasma and non-plasma analytes in a large treatment programme in western Kenya. *Journal of the International AIDS Society*, 17:19262. <https://doi.org/10.7448/IAS.17.1.19262>.
- Konou, A. A., Dagnra, A. Y., Vidal, N., Salou, M., Adam, Z., Singo-Tokofai, A., Delaporte, E., Prince-David, M. and Peeters, M. (2015). Alarming rates of virological failure and drug resistance in patients on long-term antiretroviral treatment in routine HIV clinics in Togo. *AIDS*, 29 (18) :2527–2530. <https://doi.org/10.1097/QAD.0000000000000906>.
- Kumar, S., Stecher, G. and Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33 (7) : 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>.
- Loubet, P., Charpentier, C., Visseaux, B., Borbor, A., Nuta, C., Adu, E., Chaplain, J-M., Baysah, M., Tattevin, P., Yazdanpanah, Y. and Descamps, D. (2015). Prevalence of HIV-1 drug resistance among patients failing first-line ART in Monrovia, Liberia: a cross-sectional study. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 70 (6) : 1881–1884. <https://doi.org/10.1093/jac/dkv030>.
- Ndahimana, J. d, Riedel, D. J., Mwumvaneza, M., Sebuho, D., Uwimbabazi, J. C., Kubwimana, M., Mugabo, J., Mulindabigwi, A., Kirk, C., Kanters, S., Forrest, J. I., Jagodzinski, L. L., Peel, S. A., Ribakare, M., Redfield, R. R. and Nsanzimana S. (2016). Drug resistance mutations after the first 12 months on antiretroviral therapy and determinants of virological failure in Rwanda. *Tropical medicine & international health*, 21 (7) : 928–935. <https://doi.org/10.1111/tmi.12717>.
- Nouhin, J., Madec, Y., Ngo-Giang-Huong, N., Ferradini, L. and Nerrienet, E. (2013) Increased Risk of Q151M and K65R Mutations in Patients Failing StavudineContaining

- First-Line Antiretroviral Therapy in Cambodia. PLoS ONE, 8 (8): e73744. doi:10.1371/journal.pone.0073744.
- Panel on Antiretroviral Guidelines for Adults and Adolescents, 2018. Guidelines for the Use of Antiretroviral Agents in Adults and Adolescents Living with HIV. (2018) <http://www.aidsinfo.nih.gov/ContentFiles/AdultandAdolescentGL.pdf>.
- PNLS. Directives 2015 de prise en charge des personnes vivant avec le VIH en Côte d'Ivoire. (2015). [https://aidsfree.usaid.gov/sites/default/files/ci\\_directives\\_2\\_2015\\_vih.pdf](https://aidsfree.usaid.gov/sites/default/files/ci_directives_2_2015_vih.pdf)
- Santos, A. F. and Soares M. A. (2010). HIV Genetic Diversity and Drug Resistance. *Viruses*, 2 (2) : 503-531. <https://doi.org/10.3390/v2020503>.
- Teeranaipong, P., Sirivichayakul, S., Mekprasan, S., Ohata, P. J., Avihingsanon, A., Ruxrungtham, K. and Putcharoen, O. (2016). Role of Rilpivirine and Etravirine in Efavirenz and Nevirapine-Based Regimens Failure in a Resource-Limited Country: A Cross-Sectional Study. PLoS ONE, 11 (4): e0154221. doi:10.1371/journal.pone.0154221.
- Thompson, J. D., Higgins, D. G. and Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22 (22) : 4673-4680. <https://doi.org/10.1093/nar/22.22.4673>.
- UNAIDS. 90-90-90: An ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. (2014). [http://www.unaids.org/sites/default/files/media\\_asset/90-90-90\\_en.pdf](http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/90-90-90_en.pdf).
- Wainberg, M. A. and Brenner, B. G. (2012). The Impact of HIV Genetic Polymorphisms and Subtype Differences on the Occurrence of Resistance to Antiretroviral Drugs. *Molecular Biology International*, 2012 : 256982-256982. <https://doi.org/10.1155/2012/256982>.
- WHO. Consolidated guidelines. The use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. Recommendations for public health approach. (2013). <https://www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/download/en/>.
- WHO. Guidelines on post-exposure prophylaxis for HIV and the use of cotrimoxazole prophylaxis for HIV-related infections among adults, adolescents and children: recommendations for a public health approach. December 2014 supplement to the 2013 consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection. (2014). [http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/arvs2013supplement\\_dec2014/en/](http://www.who.int/hiv/pub/guidelines/arv2013/arvs2013supplement_dec2014/en/).
- WHO. HIV drug resistance report 2017. (2017). <http://www.who.int/hiv/pub/drugresistance/hivdr-report-2017/en/>.
- WHO. Rapid advice: antiretroviral therapy for HIV infection in adults and adolescents. (2009). [http://www.who.int/hiv/pub/arv/rapid\\_advice\\_art.pdf](http://www.who.int/hiv/pub/arv/rapid_advice_art.pdf).
- WHO. The HIV drug resistance report-2012. (2012). <http://www.who.int/hiv/pub/drugresistance/report2012/en/>.
- Wittkop, L., Günthard, H. F., de Wolf, F., Dunn, D., Cozzi-Lepri, A., de Luca, A., Kücherer, C., Obel, N., von Wyl, V., Masquelier, B., Stephan, C., Torti, C., Antinori, A., García, F., Judd, A., Porter, K., Thiébaud, R., Castro, H., van Sighem, A. I., Colin, C., Kjaer, J., Lundgren, J. D., Paredes, R., Pozniak, A., Clotet, B., Phillips, A., Pillay, D. and Chêne, G. (2011). 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. *The Lancet Infectious Diseases*, 11 (5) : 363-371. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70032-9](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70032-9).

# Résistance du VIH-1 aux antirétroviraux chez des patients sous traitement depuis au moins 12 mois à Abidjan (Côte d'Ivoire)

DECHI Jean-Jacques Renaud <sup>1,2</sup>; TONI Thomas d'Aquin <sup>1</sup>; N'DIN Jean-Louis Philippe <sup>1,2</sup>; N'GUESSAN Jean François <sup>1</sup>; BROU Emmanuel <sup>1</sup>; AGUIA Ahoua <sup>1</sup>; KOUAKOU Kouadio <sup>1</sup>; CHENAL Henri <sup>1</sup>; CAMARA-Cisse Massara <sup>2</sup>

<sup>1</sup> Laboratoire de Virologie du Centre Intégré de Recherches Biocliniques d'Abidjan (CIRBA), BP 2071 Abidjan 18-Côte d'Ivoire,

<sup>2</sup> Laboratoire de Biochimie, UFR Sciences Médicales, Université Félix Houphouët-Boigny, BP 582 Abidjan 22-Côte d'Ivoire

Email : rdechi@gmail.com

## Background

- ✓ Sélection des mutations de résistance principales conséquences de l'échec virologique
- ✓ Accès à la charge virale reste limité et les tests génotypiques de résistance (TGR) rares
- ✓ **Objectif** : déterminer le profil de résistance du VIH-1 aux ARV et la phylogénie moléculaire chez des patients traités depuis au moins 12 mois à Abidjan (Côte d'Ivoire)

## Méthodes

- ✓ Etude analytique et descriptive
- ✓ Patients ayant une indication de TGR du VIH-1
- ✓ TGR sur les gènes de la protéase et de la transcriptase inverse
- ✓ Analyse phylogénétique

Dossiers Patients CIRBA (Juin 2015 – Juillet 2017)

Patients sous traitement depuis au moins 12 mois, ayant une indication de TGR

Détermination des profils de résistance du VIH-1 aux ARV (Techniques AC11-ANRS, <http://www.hivfrenchresistance.org/>)

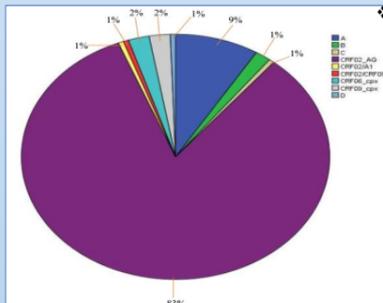
Interprétation des profils de résistance du VIH-1 aux ARV (Algorithme ANRS, <http://www.hivfrenchresistance.org/>)

Analyse phylogénétique (Clustal W, BioEdit v7, Mega 4)

Schématisation de la démarche méthodologique

## Résultats

- ✓ Patients inclus : 182
- ✓ Age médian: 43 ans (10-75).
- ✓ Genre féminin: 53% (n = 96/182)



Confirmation de la prédominance du CRF02\_AG en RCI.

Figure 1 : Distribution globale des sous-types et recombinants viraux de 182 patients VIH-1 suivis en routine de Juin 2015 à Juillet 2017 au CIRBA obtenue à partir d'arbres phylogénétiques réalisés grâce aux logiciels BioEdit v7 et Mega4



Figure 2 : Fréquence de résistance de 134 patients aux différentes classes d'ARV sur 182 patients VIH-1 suivis en routine de Juin 2015 à Juillet 2017 au CIRBA

Résistance moindre aux IP et à leurs associations aux INTI.

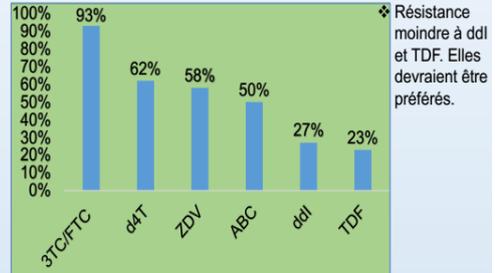


Figure 3 : Fréquence de résistance de 117 patients aux INTI sur 134 patients VIH-1 résistants à au moins une molécule ARV suivis en routine de Juin 2015 à Juillet 2017 au CIRBA

Résistance moindre à ddI et TDF. Elles devraient être préférées.



Figure 4 : Fréquence de résistance de 108 patients aux INNNTI sur 134 patients VIH-1 résistants à au moins une molécule ARV suivis en routine de Juin 2015 à Juillet 2017 au CIRBA

Résistance moindre à ETR. Elle serait souhaitable.

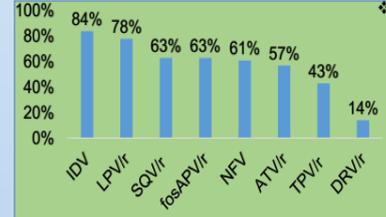


Figure 5 : Fréquence de résistance de 49 patients aux IP sur 134 patients VIH-1 résistants à au moins une molécule ARV suivis en routine de Juin 2015 à Juillet 2017 au CIRBA

Résistance moindre à DRV/r. Elle devrait être recommandée

Tableau I : Fréquence des mutations de résistance dans différentes classes d'ARV obtenu chez 134 patients VIH-1 sur un total de 182 suivis en routine de Juin 2015 à Juillet 2017 au CIRBA

Mutations de résistance aux INTI		Mutations de résistance aux INNNTI		Mutations de résistance aux IP		mutacions fréquentes
N°	n (%)	N°	n (%)	N°	n (%)	
M184V	103 (88%)	K103N	70 (65%)	H69K	41 (84%)	INTI
T215YF	48 (41%)	V50I	29 (27%)	K20I	36 (73%)	M184V
M41L	46 (39%)	Y181C	23 (21%)	M36I	35 (71%)	TAMS
L210W	31 (26%)	P225H	22 (20%)	M46I	33 (67%)	INNNTI
D67N	24 (21%)	A98G	19 (18%)	IS4V, L10V	22 (45%)	K103N
K219Q/E	21 (18%)	G190A	16 (15%)	BB4V, L76V	20 (41%)	IP
K70R	20 (17%)	E138A	14 (13%)	L89I	19 (39%)	H69K
E44D	23 (20%)	H221Y	13 (12%)	L89M	18 (37%)	K20I
L74I	16 (14%)	Y188L	11 (10%)	Q38E	16 (33%)	M36I
K70E, L74V, T69N	9 (8%)	L100I	8 (7%)	L10I	15 (31%)	M46I
Y115F	7 (6%)	K101E, V106I, V179I	5 (5%)	G16E, V82A	14 (29%)	
K65R	5 (4%)	E138G, K103R	4 (4%)	V11I	10 (20%)	
T68S, T68D	4 (3%)	A88S, E138Q, K101H, K101P, K101R, K103S, M230L, Y188C	2 (2%)	I15V	9 (18%)	
M184L, V75M	3 (3%)	E138K, G190S, V109M, V179D, V179T, Y181V	1 (1%)	A71V, L83P, L89V	8 (16%)	
T215I, T215V, V75T	2 (2%)			D60E, H47V, R22V, L10F, L33I	6 (12%)	
Q151M, T215N	1 (1%)			IS4L, L24L, L33F, L89T, L90M	4 (8%)	
				F53L, K20M, K20R	3(6%)	
				A71I, A71T, F53Y, G48V, G73S, I47A, K20T, N88S, V82F, V82I, V82T	2 (4%)	
				V83C, M36L, M36V, V77I, M46L, L10M, IS4M, IS5V, H69Q, H69R, H69Y	1 (2%)	

## Conclusions et Recommandations

Cette étude a permis de confirmer la prédominance du CRF02\_AG mais a montré une évolution de la diversité génétique des souches circulantes. Les analyses ont montré une prévalence élevée de la résistance chez les patients en échec thérapeutique suivi en routine. Ces données sont en faveur d'un monitoring plus accessible pour la charge virale et le TGR chez les sujets traités en échec thérapeutique.

## **RESUME**

**Justification :** La sélection des mutations de résistance est l'une des principales conséquences de l'échec virologique. L'accès à la charge virale permettant de détecter les échecs virologiques précoces reste limité et les tests génotypiques de résistance (TGR) sont rares. Il est nécessaire de déterminer le profil de résistance du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) aux antirétroviraux (ARV) et la phylogénie moléculaire chez des patients traités en échec thérapeutique à Abidjan (Côte d'Ivoire).

**Objectifs :** Le but de notre étude est d'étudier les profils de résistance du VIH-1 chez des patients traités par des ARV à Abidjan (Côte d'Ivoire).

**Matériel et méthodes :** Les patients de cette étude ont été recrutés entre 2012 et 2017, dans le cadre de différents projets de recherches thématiques de l'unité de biologie moléculaire du laboratoire de virologie du CIRBA. Il s'agit de deux cohortes. La première cohorte était constituée à partir de 61 enfants issus d'une cohorte nationale prospective au CIRBA de 2012 à 2013 regroupant 260 enfants infectés par le VIH-1. La seconde cohorte était constituée à partir de 182 patients adultes suivis en routine au CIRBA de juin 2015 à juillet 2017. Au total, nous avons disposé d'une cohorte de 243 patients. Les TGR sur les gènes de la protéase et de la transcriptase inverse ont été réalisés et interprétés selon l'algorithme de l'ANRS ([www.hivfrenchresistance.org](http://www.hivfrenchresistance.org)). Les arbres phylogénétiques réalisés grâce aux logiciels BioEdit v7 et Mega7 ont permis de déterminer les sous-types viraux.

**Résultats :** Dans la première cohorte, il ressort qu'à partir de 260 enfants, 61 ont été inclus dans notre étude soit 23 % (n=61/260). Le genre féminin représentait 57 % (n=35/61). L'âge médian était de 11 ans (03-17). La charge virale médiane était de 4,4 log<sub>10</sub> copies/mL (03-6,6) avec une médiane de CD4 de 411/mm<sup>3</sup> (33-1388). La médiane de durée sous traitement était de 6 ans (01-12). Les souches non B du VIH-1 représentaient 100 % (n= 61/61) des sous-types viraux observés. L'analyse des 61 séquences a permis d'identifier 56 substitutions dont 93 % (n=52/56) étaient des mutations mineures et 7 % (n=04/56) des mutations majeures. Parmi les enfants, 8 étaient résistants aux IP soit une prévalence de 13 % (n= 8/61). Les mutations associées à la résistance étaient au nombre de 24. Les mutations mineures plus fréquentes étaient M36I et K20I avec une fréquence respective de 100 % (n= 8/8), H69K 88 % (n= 7/8), L89M et I54V avec une fréquence respective de 75 % (n= 6/8) et G16E 50 % (n= 4/8). Les mutations majeures étaient V82A 75 % (n= 6/8), M46I 63 % (n= 5/8), L90M 38 % (n= 3/8) et L76V 13 % (n= 1/8). Aucune résistance à TPV/r et DRV/r n'a été observée. On a noté une résistance à IDV et FPV/r avec une fréquence respective de 75 % (n= 6/8), NFV et SQV/r avec une fréquence respective de 50 % (n= 4/8), ATV/r 38 % (n= 3/8) et LPV/r 25 % (n= 2/8). Dans la deuxième cohorte, il ressort que 182 patients ont été inclus dans notre étude sur la période de juin 2015 à juillet 2017. L'âge médian était de 43 ans (18-75). Le genre féminin représentait 53 % (n = 96/182). L'analyse phylogénétique a montré que le CRF02\_AG était le plus représenté (83 %). On note également la circulation du sous-type A (9 %), B (2 %), C (1 %), D (1 %) et de recombinants complexes CRF02/A1 (1 %), CRF02/CRF09 (1 %), CRF09\_cpx (2 %) et CRF06\_cpx (2 %). La fréquence de résistance à au moins une molécule ARV était de 74 % (n= 134/182). Elle était de 87 % (n= 117/134) aux INTI, 81 % (n= 108/134) aux INNTI et 37 % (n= 49/134) aux IP. La fréquence de résistance à deux classes était de 45 % (60/134) aux INTI/INNTI et 12 % (16/134) aux INTI/IP. La fréquence de résistance aux trois classes (INTI/INNTI/IP) était de 24 % (32/134). Les mutations de résistances fréquemment rencontrées étaient pour les INTI : M184V (88 %), les « thymidine analogue mutations » (23 %) ; pour les INNTI : la K103N (65 %). Quant aux IP, la résistance à LPV/r, ATV/r et DRV/r étaient respectivement de 78 %, 57 % et 14 % de la résistance aux IP.

**Conclusion :** Les différents travaux réalisés au cours de cette thèse ont permis de confirmer la prédominance du CRF02\_AG mais ont montré une évolution de la diversité génétique des souches circulantes. Les analyses ont montré une prévalence élevée de la résistance chez les patients en échec thérapeutique suivi en routine. Ces données sont en faveur d'un accès accru à des options de médicaments de troisième ligne, idéalement guidées par des TGR, pour assurer le succès du traitement du VIH-1 en Côte d'Ivoire. En prévision, des efforts accrus doivent être déployés pour réduire les prix des médicaments de troisième ligne actuellement inabordables, y compris les inhibiteurs DRV/r et raltégravir (RAL).

**Mots-clés :** VIH-1, Résistance aux ARV, Phylogénie moléculaire, Côte d'Ivoire.