

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de La Recherche Scientifique

UNIVERSITE DE BLIDA I



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie cellulaire

**Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme de master
En Biologie**

Option : Bio signalisation cellulaire et moléculaire: Immunologie

Thème :

**Numération des LT CD4+ chez les personnes infectées par le
VIH**

Présenté par :

Benmehidi Yasmina

Soutenu publiquement le : 18/09/2017.

Devant le jury composé de:

Mr Benyahia Noureddine	Maître Assistant A	Président
Mme Benchabane Sarah	Maître de Conférences B	Examinatrice
Mme Kechout Nadia	Maître de Conférences A	Promotrice
Mme Aissani-El Fertas R.	Maître de Conférences B	Co-promotrice

Promotion 2016/2017

Remerciements

A Madame Nadia Kechout, merci pour la confiance que vous avez placée en moi pour effectuer ce travail.

A Madame Radia Aissani, merci pour votre rigueur et engagement. Vous avez accepté de lire, de critiquer et d'instruire ce mémoire. Merci pour les conseils reçus de vous pendant cette année et de votre disponibilité. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma sincère gratitude et de mon profond respect.

A Monsieur Nouredine Benyahia Je vous remercie de l'honneur que vous me faites en présidant ce jury de mémoire. Je vous suis également très reconnaissante des connaissances transmises. Assister à vos cours a été pour moi d'une grande luminosité.

A Madame Sarah Benchabane, Merci d'avoir accepté de prendre de votre temps pour participer à ce jury, lire ce travail et le juger. J'en suis très honorée et vous en remercie vivement.

A Monsieur Ricardo Jiménez Sanchez, merci pour votre clarté et rigueur. Vous m'avez guidé dans la rédaction scientifique et vous avez chaque fois répondu quand je vous ai sollicité. Sans votre soutien, il m'aurait été impossible de conduire ce travail.

A Madame Chafia Ben Omar, Lors de ma venue à l'institut Pasteur d'Alger, vous m'avez aidé dans toutes mes démarches et ainsi permis de concrétiser ce travail. Soyez assurée de toute ma reconnaissance.

A toute l'équipe du CCU, Je vous remercie de votre accueil, disponibilité et convivialité. Je garderai un excellent souvenir de cette année passée à vos côtés.

A toute l'équipe du laboratoire d'immunologie de l'Institut Pasteur d'Alger, Je vous remercie de votre bonne humeur, j'ai apprécié être parmi vous le long de cette année.

A ma famille, Merci pour votre tolérance, votre compréhension et votre soutien indéfectible.

Dédicaces

A mes parents.

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

Résumé

De nombreuses études portant sur l'infection VIH affirme que l'intensité de la réplication virale et les effets cytotoxiques qui y sont associés conduirait inéluctablement à la déplétion des LT CD4+.

Ce travail a été établi à partir d'une population de 45 cas séropositifs pour le VIH, pour qui un suivi de l'évolution du taux des LTCD4+ a été réalisé par cytométrie en flux. La collecte des données relatives à nos patients s'est faite à partir des archives de l'IPA.

Dans cette étude, nous avons noté qu'au cours des trois stades de l'infection, la moyenne du taux des LTCD4+ est plus élevée chez les femmes (26,63%) que chez les hommes (20,67 %). Par ailleurs, nous avons remarqué l'existence d'une différence significative entre la moyenne des LTCD4+ des sujets âgés (16,8%), des adultes (27,8%) et des enfants (24,9 %).

Certains de nos patients ont bénéficiés d'une trithérapie. La différence entre la moyenne des LTCD4+ avant et après trithérapie est significative ($P= 0,009$), soit une augmentation du taux de LTCD4+. A l'opposé chez les patients non traités on assiste à une chute du taux des LTCD4+.

La trithérapie augmente le nombre des LTCD4 +, son initiation précoce donne des résultats plus fructueux. L'efficacité de cette dernière n'est observable qu'à partir de 6 mois de traitement.

Mots clés : VIH, cytotoxique, LTCD4+, cytométrie en flux, trithérapie

Abstract

Many studies of HIV infection suggest that the intensity of viral replication and associated cytotoxic effects would inevitably lead to depletion of CD4 + T cells.

This work was established from a population of 45 HIV-positive cases, for which a follow-up of the evolution of the level of the LTCD4 + was carried out by flow cytometry. The data collection relating to our patients was done from the archives of the IPA. The various statistical tests ANOVA, Non parametric Test and Mann and Whitney Test were used to process the results obtained

In this study, the level of the LTCD4 + of women (26.63%) was higher than the level of the LTCD4+ of men (20.67%) during the three stages of infection. There was a significant difference between the level of the LTCD4 + of the elderly (16.8%) of adults (27.8%) and children (24.9%).

Some of our patients have undergone triple therapy. The difference between the level LTCD4 + before and after triple therapy is significant ($p = 0.009$), there is an increase in the LTCD4 + level. In the untreated patients who have not undergone triple therapy, there is a drop in the level of LTCD4 +.

Triple therapy increases the number of LTCD4 +, its early initiation gives more fruitful results. The efficacy can only be observed after 6 months of treatment.

Keywords: HIV, cytotoxic, LTCD4 +, cytometry, triple therapy

ملخص

وتشير العديد من الدراسات عن عدوى فيروس نقص المناعة البشرية أن شدة تكرار الفيروس والآثار مبيد للجراثيم المرتبطة بها من شأنه أن يؤدي حتما إلى نضوب CD4 + لوت.

واستند هذا العمل على عدد السكان من 45 حالة إيجابية لفيروس نقص المناعة البشرية، والتي تم متابعة معدل 4LTCD + من قبل التدفق الخلوي. وقد تم جمع البيانات المتعلقة بمرضاينا من أرشيف إيبا.

في هذه الدراسة، لاحظنا أن متوسط معدل 4LTCD + كان أعلى لدى النساء (26.63%) منه لدى الرجال (20.67%) في المراحل الثلاث من العدوى. ، لاحظنا فرقا كبيرا بين متوسط + 4LTD كبار السن (16.8%) والبالغين (27.8%) والأطفال (24.9%).

بعض مرضانا خضعوا للعلاج الثلاثي. الفرق بين متوسط 4LTCD + قبل وبعد العلاج الثلاثي هو كبير ($P = 0.009$)، أي زيادة في 4LTCD +. في المرضى غير المعالجين، هناك انخفاض في مستوى 4LTCD +.

العلاج الثلاثي يزيد من عدد 4LTCD +، في بداية مبكرة يعطي نتائج أكثر مثمرة. لا يمكن ملاحظة فعالية هذا الأخير إلا بعد 6 أشهر من العلاج.

الكلمات الرئيسية:

فيروس نقص المناعة البشرية، سيتوسيد، 4LTCD +، التدفق الخلوي، والعلاج الثلاثي

Résumé

Liste des figures et des tableaux

Liste des figures	Nº de page
Figure 1 : Structure génomique de l'ADN proviral des VIH1 et VIH2	6
Figure 2 : Echappement du VIH-1 aux cellules dendritiques et reconnaissance du VIH-2 par ces cellules.	9
Figure 3 : Modèle de détection de l'ADN viral du VIH par les cellules dendritiques	9
Figure 4 : Evolution des paramètres liés à l'infection VIH	13
Figure 5 : Schéma d'un cytomètre en flux	21
Figure 6 : Diagramme de Jablonski	22
Figure 7 : Répartition de la population selon le sexe	25
Figure 8 : Répartition de la population selon l'âge	26
Figure 9 : Répartition de des patients selon leurs provenances	26
Figure 10 : Répartition de la population en fonction du stade de l'infection VIH	27
Figure 11 : Récapitulatif de l'ensemble des patients suivis	29
Figure 12 : Taux des LTCD4+ en fonction de l'âge	32
Figure 13 : Taux des LTCD4+ selon le stade de l'infection VIH	35
Figure 14 : suivi du taux des LTCD4+ chez les patients non traités	36
Figure 15 : Taux des LTCD4+ avant et après traitement	37
<hr/>	
Liste des tableaux	Nº de page
Tableau I : Informations données par la cytométrie en flux	23
Tableau II : Moyennes du taux des LTCD4+ selon le sexe et le stade de l'infection	31
Tableau III : Patients dont la durée de traitement est supérieure à 6 mois	39
Tableau IV : Patients dont la durée de traitement est inférieure à 6 mois	40

LISTE DES ABREVIATIONS

AC : Anticorps

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ADNc : Acide désoxyribonucléique complémentaire

ARN : Acide Ribonucléique

ARNm: Acide Ribonucléique messenger

CCR5 : CC-chemokine Récepteur 5

CD4 /8 : Cluster de Différenciation 4/8

CMH : Complexe majeur d'histocompatibilité

CRFs : Formes recombinantes circulantes

CXCR4: CXC-chemokine recepteur 4.

DC : dendritic cell

DC-SIGN : dendritic cell-specific ICAM-3-grabbing nonintegrin

ELISA : Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay

env : enveloppe

GAS : Interferon-Gamma Activated Sequence

Gag : groupe antigène

Gp : glycoprotéine

LB : Lymphocytes B

LT : Lymphocytes T (thymocyte)

LTC : lymphocytes T Cytotoxiques

LTR: Long Terminal Repeat sequence

MIP1 α / β : Macrophage Inflammatory Protein 1 α / β

NK : Natural Killer

ONUSIDA : Programme commun des Nations Unies sur le VIH/sida

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

Pol : Polymérase

RANTES :Regulated upon Activation, Normal T-Express and presumably Secreted

SAMHD1 : Sterile alpha motif domain- and HD domain-containing protein .

SIDA : Syndrôme de l'Immunodéficience Acquise

SIV : Virus de l'immunodéficience simienne

SIVcpz : Virus de l'immunodéficience simienne chez les chimpanzés

SIVgor : Virus de l'immunodéficience simienne chez les gorilles

SNC : Système nerveux central

Tat : Transactivateur de transcription

Nef : Negative Regulatory Factor (Facteur regulateur negative)

TI : Transcriptase Invers

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine

Vif : Viral infectivity factor

Vpr : Viral Protein R

Vpx: virion-associated protein

Introduction :

Bien qu'isolé en 1983 à l'Institut Pasteur de Paris par l'équipe du P^r Luc Montagnier, l'existence du virus de l'immunodéficience humaine V.I.H. remonte aux années cinquante. Des sérums sanguins contaminés par le virus, stockés en 1954 aux États-Unis ont été retrouvés. C'est jusqu'en 1986, que des chercheurs français découvrent l'existence d'un deuxième virus, baptisé V.I.H.2, doté d'une structure proche de celle du V.I.H.1, et dont l'origine géographique se situe principalement en Afrique de l'Ouest.

L'OMS explique que « le VIH s'attaque aux cellules du système immunitaire et les détruit ou les rend inefficaces. Aux premiers stades de l'infection, le sujet ne présente pas de symptômes. Cependant, l'évolution de l'infection entraîne un affaiblissement du système immunitaire et une vulnérabilité accrue aux infections opportunistes. Le syndrome d'immunodéficience acquise SIDA est le dernier stade de l'infection à VIH. Il peut se déclarer au bout de 10 à 15 ans » [1]. L'épidémie de l'infection à VIH/sida frappe aujourd'hui le monde entier et modifie l'avenir de certaines sociétés par ses conséquences multiples, particulièrement dans les pays en voie de développement.

Ce travail, réalisé à l'institut Pasteur d'Alger (Dely Brahim), concerne la numération des lymphocytes T CD4+, par cytométrie en flux, à partir du sang périphérique de patients infectés par le VIH dans les différentes phases de l'infection.

L'objectif de cette étude était de montrer l'intérêt de la numération des lymphocytes T CD4+ à l'aide d'un cytomètre de flux chez les patients infectés par le VIH qu'ils soient sous traitement antirétroviral ou pas. Cette étude nous a permis de suivre l'évolution immunitaire des patients.

I. Généralités sur le virus de l'immunodéficience humaine :

I. 1. Epidémiologie :

En 2015, dans son rapport, ONUSIDA estimait à 36.7 millions [34.0 millions–39.8 millions] le nombre de personnes vivant avec le VIH dans le monde. Ce nombre est supérieur à celui estimé en 2000, néanmoins le nombre de personnes nouvellement infectées par le VIH dans le monde est passé de 3.2 millions en 2000 à 2.1 millions fin 2015 soit une diminution de 35% [2].

En 2014, 9103 personnes vivaient avec le VIH en Algérie. Parmi elles 845 nouvellement infectées, 51,4 % des hommes et 48,6 % des femmes. Les tranches d'âges les plus touchés sont les 25- 29 ans et les 30-34 ans avec respectivement 13.2 % et 16.3 % des nouveaux cas. Les patients ayant entre 0 et 4 ans ne représentent que 3.9 % des nouvelles infections ce qui montre la rareté de la transmission verticale. Quant à la répartition géographique, l'ensemble du territoire algérien est concerné par l'infection VIH, les taux les plus élevés de notification sont observés dans les régions Centre et Ouest, tout en considérant la probabilité que les personnes testées puissent ne pas résider dans la région où le test VIH a été effectué [3].

En 2015, 8800 personnes vivaient avec le VIH en Algérie. On estime à 8600 le nombre d'adultes infectés par le VIH, 45,3% des femmes et 54,7% des hommes. Près de 150 décès ont été recensés sur l'ensemble du territoire national, cela correspond à un taux de mortalité de 1,7 [3].

I. 2. Taxonomie et classification du VIH :

Le VIH fait partie de la famille des rétrovirus, qui doivent leur nom à l'action de la transcriptase inverse (TI) dans la rétrotranscription de l'ARN génomique en ADN lors de leur cycle viral [4]. Les rétrovirus humains se répartissent en trois genres :

- **Les spumavirus** : ils ne sont à l'heure actuelle associés à aucune pathologie connue chez l'homme.

- **Les oncovirus** : ils peuvent être la cause d'apparition de certaines tumeurs cancéreuses.

Généralités

- **Les lentivirus** : ils provoquent des maladies à évolution lente et ont la particularité d'induire la mort des cellules infectées [5].

Les VIH-1 et VIH-2, agents causals du Sida chez l'homme appartiennent à la sous-famille des *Orthoretrovirinae* et au genre des Lentivirus. Ils sont apparentés vu leurs similarités structurales et génomiques aux lentivirus de primates appelés SIV pour *Simian Immunodeficiency Virus* présent chez plus de 18 espèces de singes. Les SIVcpz et SIVgor retrouvés chez les chimpanzés et les gorilles d'Afrique Centrale de l'ouest sont les plus proches du VIH-1. Le SIV le plus proche du VIH-2 est le SIVsmm retrouvés chez les mangabeys enfumés d'Afrique de l'Ouest [4-6].

Sur la base des distances génétiques on distingue à l'intérieur de l'ensemble VIH1 trois groupes de virus :

- **Le groupe M (Majeur)** : qui est responsable de la pandémie. Ce groupe inclut 9 sous- types (A, B, C, D, E, F, G, H, J, K) auxquels s'ajoutent une quarantaine de formes recombinantes CRFs pour " circulating recombinant forms " [5]. Le sous type C est largement prédominant au niveau mondial et constitue 50 % des cas d'infections [7].

Les formes recombinantes proviennent d'évènements de recombinaison résultant des erreurs de copie effectuées par la TI lors de la rétrotranscription de leurs ARN dans une cellule coinfectée par différents sous-types [4]. En effet, chez un même sujet le VIH peut être présent sous forme d'une population polymorphe avec une multitude de génomes différents. Au cours de la primo-infection, les virus circulants sont génétiquement très homogènes puis apparait progressivement une mixture complexe de variant qui va évoluer d'une façon différente et indépendante au niveau des différents tissus et cellules [7].

Cette variabilité confère au virus un grand pouvoir d'adaptation à son hôte, et donc d'échappement aux réponses immunes ou aux thérapies antivirales par sélection de mutants capables de résister aux processus d'inhibition de la réplication viral. Cette variabilité constitue l'un des obstacles à l'élaboration d'un vaccin préventif [8].

- **Le groupe N (New)** : Il est originaire du Cameroun [6].

- **Le groupe O (Outlier)** : Il est peu fréquent, présent essentiellement en Afrique centrale [9].

En 2009 chez une patiente camerounaise un nouveau groupe variant VIH1 a été isolé. Ce variant proche de SIVgor a été classé dans un nouveau **groupe (P)** [9].

I. 3. Origine des VIH :

Suite à la découverte du VIH-1 en 1983, les équipes de recherches commencèrent à s'interroger sur les origines du VIH. Le rapprochement phylogénique et la superposition géographique entre le lieu d'apparition de l'épidémie des VIH et l'aire de répartition des primates, ont conduit à émettre l'hypothèse que l'Homme ne serait pas l'hôte naturel des VIH, mais que ces derniers auraient une origine simienne. L'hypothèse sera confirmée par la mise en évidence de similitudes entre les souches de VIH-1 isolées chez des patients camerounais et les SIVcpz chez les chimpanzés de la même région. Cette confirmation de l'origine simienne des souches humaines du VIH laisserait penser au passage du SIV du singe à L'Homme [4, 5, 6].

C'est le franchissement de la barrière des espèces qui se serait produit entre 1890-1941 qui serait à l'origine du VIH [5]. Au moins quatre franchissements de la barrière d'espèce des SIV des chimpanzés et gorilles d'Afrique de l'Ouest ont été à l'origine du VIH-1, et au moins huit transmissions indépendantes des SIV des mangabeys enfumés d'Afrique de l'Ouest ont été à l'origine du VIH2 [9].

Le mode de transmission exact des virus simiens à l'homme est encore méconnu, mais l'exposition à du sang ou à des sécrétions d'animaux infectés lors de la chasse ou de la préparation de la viande de brousse et les morsures de singes domestiqués sont les causes les plus probables à l'origine de l'émergence du virus chez l'homme [4].

I. 4. Structure du VIH :

Dans les années qui suivirent la reconnaissance du SIDA comme étant une maladie infectieuse ; l'agent causal, maintenant connu sous le nom de VIH-1 a été découvert et caractérisé grâce aux efforts des laboratoires de Luc Montagnier et Françoise Barré-Sinoussi à Paris et de Robert Gallo à Bethesda [10]. En microscopie électronique, le VIH1 et le VIH2 après leurs libérations par bourgeonnement par les cellules infectées présentent les caractéristiques morphologiques des lentivirus avec une nucléocapside excentrée tronculaire

et une enveloppe avec des spicules [11]. Le VIH-1 est structuré de l'extérieur à l'intérieur comme suit (**Figure 1 ,Annexe 1**):

✓ **L'enveloppe virale :**

Elle est constituée d'une double bicouche lipidique d'origine cellulaire et de deux sortes de glycoprotéines (gp) virales: la gp 41 qui est une molécule transmembranaire et la gp120 qui occupe une position plus périphérique et fait saillie à la surface du virus sous forme de spicules. Les deux glycoprotéines s'assemblent par des liaisons non covalentes pour former un trimère à la surface de l'enveloppe virale [11, 12].

✓ **La matrice :**

La matrice externe est formée par la p 17, elle est liée au feuillet interne de la membrane plasmique et forme une coquille externe qui entoure la capsid on trouve aussi au sein de la matrice la p11 (protéase) qui participe à la maturation des virions [6, 11].

✓ **La capsid :**

C'est une coque protéique constituée de la p24 (ou CA). Elle protège la nucléocapsid où se trouve deux brins d'ARN identiques, des nucléoprotéines p7, et un certain nombre de protéines à activité enzymatique la p51-p66 (transcriptase inverse) et la p32 (intégrase) [6, 12].

I. 5. Organisation génomique des VIH :

Le génome du VIH se présente sous forme de deux copies d'ARN simple brins d'environ 9200 nucléotides flanqués de chaque côté par des séquences respectives, qui après rétrotranscription donneront les LTR. Les LTR jouent un rôle essentiel dans l'intégration du virus et la transcription du génome (**Figure 1**) [12]. Comme tout les rétrovirus, les VIH ont trois gènes principaux qui définissent leur structure :

- **Le gène gag** (groupe antigène) code pour les protéines de la nucléocapsid, la protéine gag est d'abord synthétisée sous forme d'un précurseur p55 à partir d'ARNm non épissé [13].

Généralités

- **Le gène *pol*** (polymérase) code pour les enzymes de réplication toujours initialement exprimées sous forme d'un précurseur gag-pol. Parmi ces enzymes la transcriptase inverse qui convertit un ARN viral simple brin en ADN complémentaire «ADNc» double brin, l'intégrase qui permet l'intégration de l'ADNc à l'ADN chromosomique de l'hôte et la protéase joue un rôle dans la séparation des protéines générées pour qu'elles puissent être assemblées en nouveaux virions [8, 13].

- **Le gène *env*** (enveloppe) responsable de la synthèse des protéines de surface de la particule virale. Il code pour la protéine précurseur gp160 qui après clivage donnera naissance à la gp41 responsable de la fusion de l'enveloppe virale et de la membrane cellulaire et à la gp 120 protéine déminant le tropisme du virus et responsable de l'interaction avec le récepteur CD4 et les corécepteurs de l'hôte [6].

De plus, les VIH ont six autres gènes sont : *tat, nef, vif, Vpr* (ou *Vpx* pour le VIH-2), qui codent pour des protéines régulatrices [8].

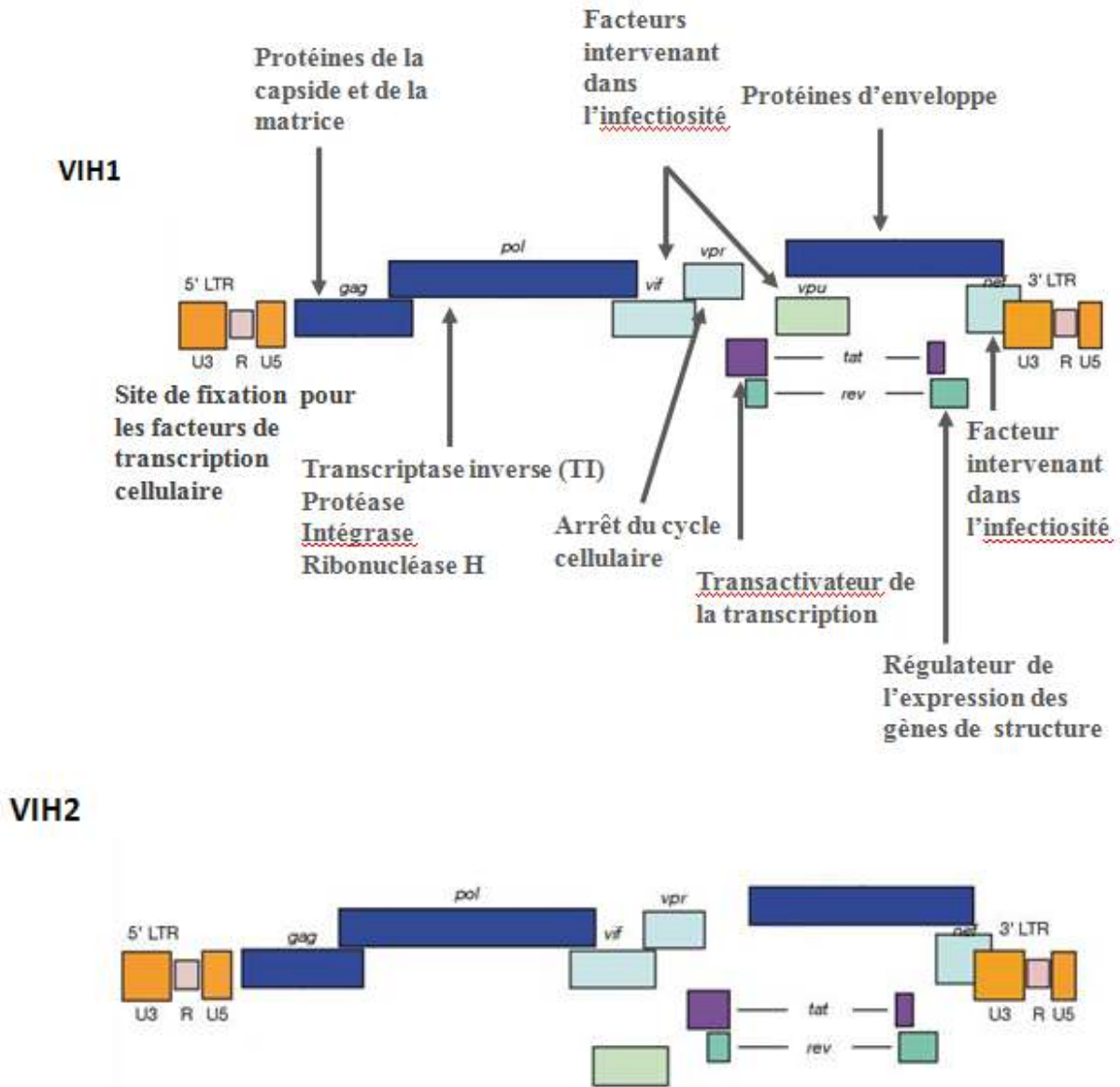


Figure 1 : Structure génomique de l'ADN proviral des VIH1 et VIH2

L'ADN proviral est encadré par les deux LTR. Il exprime son information génétique à travers les trois cadres de lecture. En plus de trois gènes de structure gag, pol et env, codant respectivement les protéines internes, les trois enzymes virales et les glycoprotéines d'enveloppe, les VIH ont six gènes supplémentaires, régulateurs de la réplication virale.

L'homologie globale entre VIH1 et VIH2 est de l'ordre de 50 % [7].

I. 6. Cellules cibles du VIH :

La grande affinité qu'a la molécule CD4 pour la glycoprotéine gp 120 présente sur l'enveloppe du virus fait de cette molécule le premier récepteur du VIH. Ainsi elle permet de déterminer l'aptitude du VIH à infecter une cellule et de l'orienter vers sa première cible les lymphocytes TCD4+ et vers d'autres cellules exprimant le CD4 : les cellules de lignée monocyte-macrophages, cellules de la microglie (SNC), des précurseurs hématopoïétique, cellules dendritiques des ganglions, cellules de Langerhans de la peau et des muqueuses, cellules dendritiques (DC) du sang et leurs homologues. A la différence des autres cellules, les cellules dendritiques possèdent une molécule de surface DC-SIGN exprimée capable de lier le VIH et de le transmettre aux LT CD4+ [6, 9, 11].

En raison de leur rôle physiologique sentinelle, les macrophages sont souvent les premières cellules à être infectées. Elles participent activement à l'établissement de l'infection et au maintien des réservoirs de virus grâce à leur capacité de survivre à l'infection tout en produisant des virus contrairement aux lymphocytes TCD4 qui meurent rapidement [6].

L'expression du récepteur CD4 seul n'est pas suffisante pour rendre une cellule susceptible d'être infectée, la présence de corécepteurs CXCR4 et CCR5, appartenant à la famille des récepteurs de chimiokines est nécessaire. Les corécepteurs CCR5 sont exprimés par les cellules dendritiques et les macrophages, les virus qui utilisent ce récepteur sont dits à « tropisme R5 ». Les corécepteurs CXCR4 eux sont exprimés par de nombreux types cellulaires dont les lymphocytes T CD4. Les virus qui présentent une affinité pour cette molécule sont dits à « tropisme X4 » [6,8].

I. 7. Cycle de réplication :

Le cycle viral du VIH est composé de plusieurs étapes décrites dans la figure 2, annexe 1.

II. Physiopathologie de la réponse immunitaire au cours de l'infection VIH :

La réponse immunitaire induite par l'infection VIH peut s'avérer efficace pendant les premiers mois de l'infection et assurer ainsi la protection de l'hôte en contrôlant la dissémination du virus dans l'organisme. Cependant cette réaction peut à long terme se révéler inefficace [6].

II. 1 Physiopathologie de la réponse immunitaire innée :

La réponse immunitaire innée encore appelée naturelle ou naïve, correspond à une réponse constitutive d'action immédiate non spécifique aux pathogènes tels que le VIH (**Figure 3, Annexe 1**). Cette première ligne de défense comprend les barrières muqueuses. Parmi ces muqueuses on compte la muqueuse génitale qui empêche la pénétration du virus dans l'organisme de par son rôle mécanique, et qui s'oppose à la réplication locale du virus par ses sécrétions notamment par la sécrétion de peptides antimicrobiens, de cytokines et de chimiokines pro-inflammatoires [14]. Cette réponse cytokinique/chimiokinique permet le recrutement des neutrophiles, macrophages, et des DC qui modulent la réaction immunitaire spécifique via la production d'INF γ , [8, 14]. On peut dire que les DC jouent un rôle de dirigeant. Elles associent la détection des pathogènes par les mécanismes de l'immunité innée à l'amorçage du système immunitaire adaptatif [15].

Les immunologistes de l'Institut Curie de Paris ont montré que le VIH de type 2 sensibilise les cellules dendritiques à induire une réponse innée (**Figure 2**). Effectivement la protéine cGAS présente dans la cellule dendritique a une capacité à activer la réponse naïve suite à son interaction avec l'ADNc viral synthétisé à partir de l'ARN présent dans le virus (**Figure 3**). Cette réaction ne se met pas en place avec le VIH-1 en raison de la coque protéique qui protège son génome viral. La composition de sa capsidite lui permettrait donc d'échapper à la réponse innée [16].

Les cellules NK peuvent réduire la réplication virale par cytolysse des cellules infectées grâce à leur activité cytotoxique et par sécrétion des β -chimiokines ou d'autres molécules antivirales. De plus, elles coopèrent avec les cellules dendritiques pour la mise en place d'une réponse T spécifique par présentation de l'antigène aux lymphocytes. Ces réponses précoces permettent de contrôler la réplication du virus mais en parallèle, elles facilitent la dissémination du pathogène en augmentant localement la quantité de cellules cibles [8,14].

D'autres facteurs immunitaires non spécifiques mais capables d'inhiber l'entrée du VIH-1 ont été détectés chez des personnes exposées mais non infectées (partenaires d'individus infectés par le VIH-1). Il s'agit d'auto-anticorps dirigés contre les molécules CD4 et CCR5 qui servent de récepteurs et de corécepteurs au VIH-1 » [8].

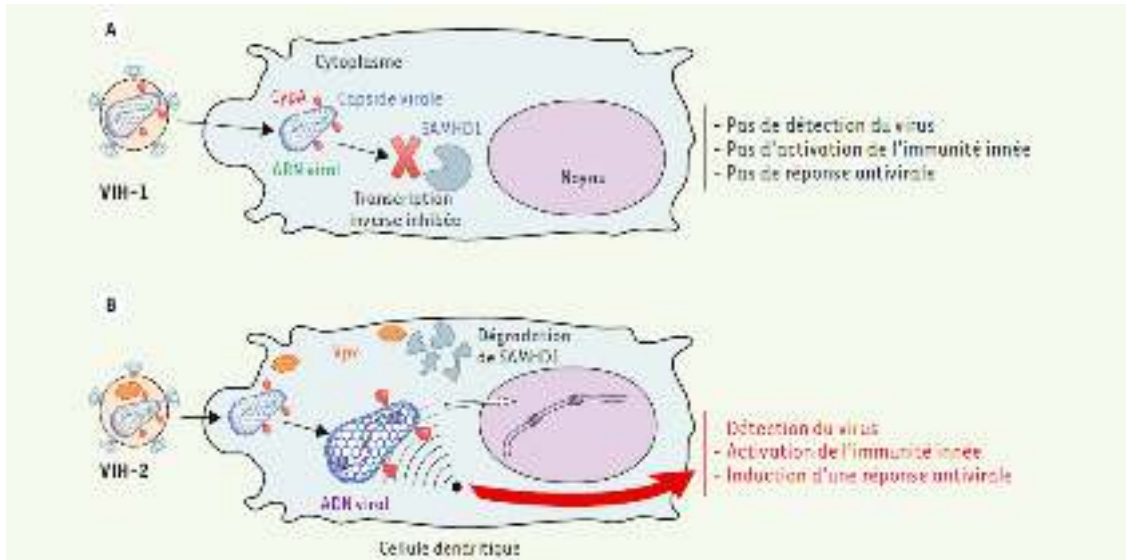


Figure 2 : Echappement du VIH-1 aux cellules dendritiques et reconnaissance du VIH-2 par ces cellules.

A) Lorsque le VIH-1 infecte les cellules dendritiques, en l'absence de Vpx, la transcription inverse est limitée par SAMHD1, et le virus échappe à la détection innée. B) Le VIH-2 contient Vpx qui induit la dégradation de SAMHD1 et permet une transcription inverse efficace de l'ADN viral dans les cellules dendritiques. La capside virale et son interaction avec la CypA déterminent si cet ADN va être reconnu ou s'il va échapper à la détection. Si l'ADN est reconnu, l'immunité innée est activée et une réponse antivirale est induite [15].

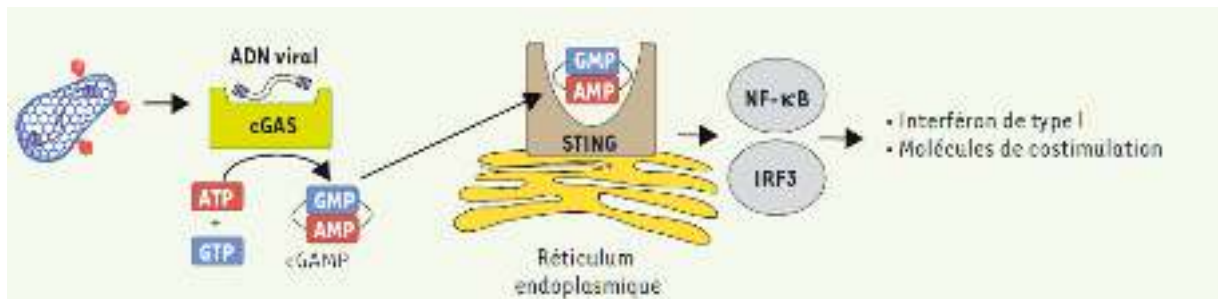


Figure 3 : Modèle de détection de l'ADN viral du VIH par les cellules dendritiques.

La protéine cGAS détecte l'ADN viral et synthétise le second messenger cGAMP. cGAMP se lie à STING et active les facteurs de transcription IRF3 et NF-κB, conduisant à l'activation d'une réponse innée antivirale caractérisée par la production d'interféron de type I et à l'expression de molécule de costimulation [15].

II. 2 Physiopathologie de la réponse immunitaire adaptative :

La réponse immunitaire adaptative ou appelée acquise, est une réponse limitée dans le temps et tardive car elle implique une cascade d'activation des cellules capables de reconnaître spécifiquement les antigènes viraux. Il est admis que cette réponse contrôle la production du virus mais ne peut pas l'éliminer [14].

II. 2 .1 L'immunité cellulaire :

Lors de l'infection VIH, les principaux acteurs de cette réponse immunitaire sont les lymphocytes cytotoxiques. (Figure 4, Annexe 1)

- **Les lymphocytes T CD8:** Dès le 20^e jour post-infection, les LT CD8+ deviennent détectables. Cette apparition coïncide avec la décroissance de la virémie plasmatique. Le nombre des LT CD8+ peut atteindre jusqu'à 20 fois la valeur normale [14]. A l'aide des LT helpers les LTCD8+ naïfs détectent les antigènes viraux entraînent ainsi leurs activation. Elles prolifèrent puis se différencient en LT cytotoxiques (LTC) effecteurs et mémoires. [6].

Les LTC effectrices visent à éliminer les cibles antigéniques (p24 et p17 du VIH) et les cellules infectées source de nouveau virus. Les LTC sont à la fois les seuls effecteurs capables d'éliminer les cellules infectées, par production β chimiokines (RANTES, MIP-1 α et MIP-1 β), et les destructeurs des cellules immunitaires LT CD4+. [6, 8, 14, 17]. La destruction des LT CD4+ aboutit à l'affaiblissement progressif de l'efficacité de la réponse immunitaire. [8].

La réponse des LT CD8+ naturellement suscitée s'épuise dans le temps, à cause de : l'émergence de nombreux mutants, de l'activation chronique et de l'intensité de la réponse TH1. La réponse à des épitopes plus conservés a probablement un impact important dans le contrôle de la réplication virale pendant l'infection. En effet Cheret Antoine nous explique dans sa thèse de doctorat que la réponse à des épitopes plus conservés a probablement un impact important dans le contrôle au long cours de l'infection. Car les patients qui contrôlent l'infection à long terme présentent un phénotype HLA-B*27, HLA-B*5701, HLA-B*5703, HLA-B*5801 avec des T CD8 qui reconnaissent des zones moins variables du virus (Gag) [18].

- **Les lymphocytes T CD4+:** Suite à l'action des LTCD8+ le taux des LT CD4+ diminue fortement dès lors de la primo-infection (Figure 4) [14]. Les lymphocytes T CD4+ appelés

aussi lymphocytes T helpers ou T auxiliaires, sont des orchestrateurs de la réponse immunitaire. En effet ces cellules produites par le thymus sont responsables de la coordination et de l'activation de la réponse immunitaire. Les LT CD4+ peuvent reconnaître plusieurs épitopes (protéines de capsid du virus, p24, p17, p41, gp 120) ce qui aide au déclenchement de la réponse immunitaire, c'est à dire l'activation des T CD8, des macrophages ou la production des cytokines antivirales (INF γ).

Suite au contact avec un antigène, les T4 s'activent, entrent en prolifération et orientent la réponse immunitaire vers :

- ✓ **Une immunité à médiation cellulaire** implique la stimulation des LTC pour une destruction directe des cellules infectées.
- ✓ **Une immunité à médiation humorale** permet la production d'anticorps car en détruisant les LT CD4+, le VIH inhibe le mécanisme de défense immunitaire à sa source. Toute activation des principales défenses immunitaires devient donc impossible.

La fonction essentielle des cellules T lors de l'infection est leur capacité à se répandre car le contrôle de la charge virale est plus associé à la prolifération des cellules mémoires qu'à la production d'IFN- γ [17,18].

Les cellules T γ δ 2 ont un phénotype modifié et une fonction altérée chez des patients infectés par le VIH-1.

II. 2. 2 L'immunité humorale :

La réponse humorale se traduit par la réponse lymphocytaire B soit l'apparition 3 à 12 semaines après la contamination d'anticorps (AC) anti-VIH (**Figure 4**).

La production d'AC se diversifie progressivement au cours de la réponse. Il existe des AC contre la plus part des composants du VIH : protéines de l'enveloppe, matrice, enzymes et protéines de régulation. Les AC anti-Env sont les plus produits et visent à empêcher la fixation des particules virales sur leurs cibles.

Les AC anti-VIH agissent par des mécanismes d'ADCC. Ces AC sont responsables de la destruction des cellules infectées, et également de cellules non infectées. Car les récepteurs CD4 des cellules non infectées peuvent être associés aux protéines d'enveloppe virale sous leur forme solubles [6, 8, 14].

Généralités

La production d'AC neutralisants *broadly neutralizing antibodies* (bNAb) est faible, et elle est détectée tardivement entre 2 et 6 mois post-infection. Ce type d'AC est capable d'empêcher la contamination de nouvelles cellules par la reconnaissance : du site de liaison au CD4 (CD4bs, *CD4 binding site*), des boucles variables V1/V2 et V3 associées aux glycanes, ainsi que la région proximale externe de la sous-unité gp41 (MPER) [14,19].

Des chercheurs de l'Institut Pasteur de Paris mentionnent que «certains patients, après deux à quatre ans d'infection, développent des anticorps neutralisants a large spectre (bNAb), dits *cross-clade*, neutralisant *in vitro*, la plupart sont des isolats de VIH-1. Alors qu'ils étaient considérés comme des exceptions il y a quelques années, ces individus représenteraient jusqu'à 10 à 20 % des personnes infectées. Malheureusement pour ces patients, la présence de bNAb n'est pas corrélée avec une évolution favorable de la maladie en absence de traitement antirétroviral, des virus résistants à la réponse humorale apparaissant continuellement. »

Quelque soit le mécanisme de défense, le résultat de l'infection par le VIH dans les tissus lymphoïdes consiste en un bouleversement progressif de l'architecture lymphoïde, ce qui conduit éventuellement à la destruction des follicules lymphoïdes au cours des stades suivants de l'infection [9].

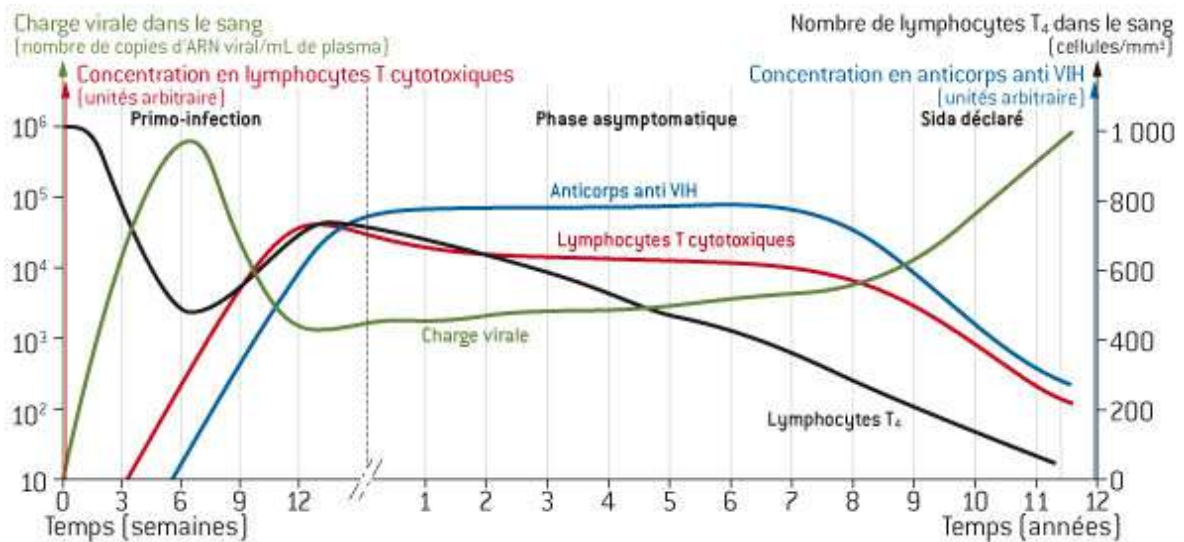


Figure 4 : Evolution des paramètres liés à l'infection par le VIH

Les quelques premières semaines sont caractérisées par un état grippal aigu, parfois appelé maladie de la séroconversion, avec des titres élevés du virus dans le sang. Une réponse immunitaire adaptative s'en suit qui contrôle la phase aiguë et restaure largement le taux des cellules T CD4 mais n'éradique pas le virus. Des infections opportunistes et d'autres symptômes deviennent plus fréquents lorsque le nombre de cellules de 500 cellules / μL . La maladie entre alors dans la phase symptomatique. Lorsque le nombre de cellules TCD4 tombe en dessous de 200 cellules / μL on dit que la patient a le syndrome d'immunodéficience acquise [8].

III. Latence et persistance du VIH :

Le VIH est un virus qui peut ne pas exprimer son génome chez l'hôte et résider sans induire un effet cytopathique, de cette façon il établit une infection persistante. Ainsi donc il est capable d'échapper au contrôle du système immunitaire dans les cellules microgliales du système nerveux central (SNC), où la réponse immunitaire est naturellement réduite, et dans les lymphocytes T au niveau des organes lymphoïdes où il adopte un état de latence [20]. Cet événement, bien que rare puisque concernant une cellule sur un million, est important car il aboutit à l'établissement d'un réservoir quiescent qui explique la persistance du virus dans l'organisme. L'hypothèse de la constitution de réservoirs a pris toute son importance en 1996 peu de temps après l'introduction de la multithérapie active [18]. Deux modalités différentes interviennent dans le processus de la latence :

- ✓ **Latence préintégrative** : survient, avant l'intégration de l'ADN dans le génome de la cellule infectée. Elle est fréquemment observée dans LT CD4+ naïves. Elle ne perdure

pas longtemps dans l'hôte et n'est pas cliniquement importante. Toutefois elle participe dans la formation des réservoirs viraux.

- ✓ **Latence post-intégrative** : survient après l'intégration du génome. Elle explique la persistance à long terme du virus dans les réservoirs cellulaires. Cette latence ne se fait pas dans les cellules naïves mais dans des cellules activées qui retournent à l'état de repos, rejoignant le groupe des cellules T CD4+ mémoires [21].

Des facteurs cellulaires et viraux peuvent contribuer à la latence provirale. Parmi ces derniers :

- La protéine Tat du VIH joue un rôle très important. D'abord, le VIH s'intègre occasionnellement dans une région du génome où la transcription est peu ou pas activée dans ces régions de l'hétérochromatine, ni l'initiation ni l'élongation de la transcription n'y sont observées [21]. Le niveau des facteurs de transcription NF- κ B et NFAT dans ces cellules serait trop faible pour leur permettre de recruter le P-TEFb au LTR donc seule l'initiation de la transcription virale a lieu. Le niveau de la cycline T1, cofacteur essentiel pour l'activité de Tat, est très faible dans les cellules quiescentes. De plus la protéine Tat pourrait également diminuer l'expression du CMH-I en agissant au niveau de la transcription du gène [20].

- **La protéine Nef** permet l'inhibition de l'expression du CMH-I à la surface des cellules infectées. La présence de Nef empêche la migration du CMH-I vers la membrane cellulaire et la dévie vers les endosomes. L'absence du CMH I à la surface des cellules infectées empêche la reconnaissance des cellules infectées par les LTC ainsi elles ne vont pas être éliminées. Par ailleurs, la protéine Nef en inhibant ASK-1 protège les cellules infectées de l'apoptose et contribue à leur persistance comme réservoir du virus [18, 20].

IV. Histoire naturelle:

Après le contact infectant, environ la moitié des sujets présentent des symptômes de primo-infection. Le risque de développer la maladie dépend du type d'exposition, de sa sévérité et de tout facteur influençant la contamination. [22,23] En 1993, les *Centers of Diseases Control (CDC)* ont proposés une classification modifiée de l'infection VIH, en trois stades de Sévérité croissante (primo-infection, asymptomatique, SIDA), sans possibilité pour un même patient

d'appartenir simultanément à deux stades ni de revenir, au cours de son évolution à un stade classant antérieur [9].

IV. 1 Primo-infection: elle commence au moment de la contamination et dure plusieurs semaines [23]. Cette phase correspond à une multiplication initiale du virus, reflétée par une virémie importante (10^6 - 10^8 copies d'ARN par ml). À ce moment une leucopénie se manifeste accompagnée d'un fléchissement des cellules T CD4. Deux semaines à trois mois après on observe l'apparition d'AC anti-VIH neutralisants et de cellules Cytotoxiques spécifiques. Ce système de défense immunitaire permet la réduction de la virémie plasmatique. Ainsi donc un équilibre entre la multiplication virale et les capacités de défense immunitaire est installé (**Figure 9**). Au cours de la primo-infection des symptômes peuvent apparaître et ressemblant à une mononucléose (fièvre, éruptions cutanées) [20, 22].

IV. 2 Phase asymptomatique : Après la phase silencieuse, malgré l'endommagement continu de leur système immunitaire, les individus infectés restent asymptomatiques. Cette latence clinique peut durer de nombreuses années sans nécessairement refléter la réplication virale. Car le virus échappe au système immunitaire grâce aux nombreuses mutations produites dans son génome. Cet échappement lui permet donc de continuer sa réplication principalement dans les organes lymphoïdes, alors qu'en périphérie la charge virale est minime [20, 23,24]. La déplétion lymphocytaire qui découle de la réplication virale est estimée à $2 \cdot 10^8$ cellules T CD4+ par jour. Cette perte est compensée par le renouvellement des LTCD8+ et des LTCD4+ ($2 \cdot 10^9$ cellules/jour) et de leur mobilisation à partir des réservoirs périphériques [20,22].

Le phénomène de compensation se fait au détriment de la qualité du répertoire. C'est ce qui explique l'apparition d'anomalies fonctionnelles des cellules immunitaires. Le système immunitaire semble être donc capable de mettre en jeu un processus d'homéostasie aveugle. [20,22].

Au cours de cette phase les patients ne présentent souvent que des adénopathies banales. Après une évolution de 10 ans, 20% des cas seront au stade d'infections mineures, 70% seront au stade SIDA et 10% ne présenteront aucune évolution (non-progresseurs à long terme) [23,24].

IV. 3 SIDA : cette phase est définie par la survenue de complications tumorales comme les lymphomes malins non hodgkiniens ou des infections opportunistes comme la pneumocystose ou la toxoplasmose qui ne s'expriment pas chez les sujets immunocompétents. La survenue de ces infections est liée à la déficience des mécanismes de régulation tel la disparition des cellules T régulatrices. Le SIDA est déclaré lorsque le nombre des cellules T CD4⁺ est inférieur ou égale à 200 cellules/ μ l ce qui impose une intervention thérapeutique et on admet qu'il en est de même en dessous de 500 200 lymphocytes CD4 / mm³ quand la pente de décroissance est rapide. La durée de vie moyenne à ce stade de la maladie est d'environ 2 ans [14, 20,22].

V. Anomalies immunitaires lors de l'infection VIH :

L'anomalie immunologique centrale de l'infection VIH est la déplétion des lymphocytes T CD4⁺. Celle-ci est précédée par des anomalies fonctionnelles [14]. En effet les réponses spécifiques d'AG sont altérées alors que les réponses aux alloantigènes restent préservées. Les lymphocytes T CD4⁺ ont donc un déficit de réponse aux mitogènes. Ces anomalies concernent aussi bien les cellules infectées par le virus que les cellules non infectées [22]. Dans un premier temps les cellules T CD4⁺ mémoire sont touchées puis ultérieurement on observe une décroissance parallèle des cellules T naïves [6]. Les protéines d'enveloppe tel la gp120 peuvent entraîner directement ces anomalies, causant ainsi un état d'anergie (perte d'expression de CD28) [14].

L'effet du VIH ne se limite pas au déficit des T CD4⁺, il affecte également les cellules T CD8⁺, les lymphocytes B, les NK et les CPA [6]. On remarque qu'avec l'évolution de la maladie le nombre des lymphocytes CD8⁺ augmente alors que l'expression de l'AG CD28 tend à diminuer, ils deviennent alors difficilement activables et sensibles aux signaux d'apoptose (interaction Fas-ligand / Fas) [22]. Les lymphocytes B, par contre, ont des réponses diminuées aux mitogènes mais sont paradoxalement l'objet d'une hyperactivation polyclonale. Ceci engendre une augmentation de la production spontanée d'IG par les lymphocytes B. Parmi ces IG il est fréquent d'observer des autoanticorps non spécifiques d'organes [22,24].

Le VIH provoque donc un dysfonctionnement global du système immunitaire. Après pénétration dans l'organisme, le virus est retenu massivement dans les ganglions où se fera la

présentation antigénique par les cellules dendritiques aux lymphocytes B. Cette présentation permanente contribue à l'hyperactivation immunitaire, ainsi tout lymphocyte T CD4 qui traverse un ganglion pourra être infecté par des particules virales qui restent infectantes (l'hyperplasie lymphoïde) [22,25].

A terme, la capacité de présentation des cellules dendritiques est altérée, l'architecture ganglionnaire est détruite et une atrophie est observable dans le thymus. Ainsi les ganglions ne pouvant plus assurés leur rôle de stockage de mémoire immunitaire, la réponse immunitaire mémoire s'altère [22,25].

Les cellules mononuclées des patients adoptent à un stade avancé de l'infection une réponse de type TH2 avec une sécrétion prédominante d'IL4. Alors qu'au début de l'infection elles sécrètent de l'IL2 et de l'INF γ ce qui évoque une réponse de type TH1. Ce changement ne serait pas la cause de l'évolution vers le déficit immunitaire mais peut contribuer à expliquer les anomalies de fonction [22].

VI. Mécanismes de déplétion des lymphocytes T CD4+ :

Trois principaux mécanismes de déplétion des lymphocytes T CD4 sont évoqués :

- **L'effet cytopathogène direct du virus** : il n'est pas une explication d'ensemble car seule une minorité de cellules T CD4+ est infectées par le virus à un instant donnée [22].
- **Les effets indirects** : comme l'adsorption de la gp 120 libre sur les cellules T CD4+ qui induit une cytotoxicité dépendante des AC. Les réactions auto-immunes par antigénicité croisée peuvent contribuer à la destruction des cellules non infectées [6].
- **L'orientation exagérée vers l'apoptose** : peut survenir aussi bien dans des lymphocytes T CD4 infectés, que dans les lymphocytes T non infectés. Elle peut être induite par des interactions directes entre le virus et la cellule cible et par l'activation des systèmes immunitaires et inflammatoires de l'hôte. Parmi les déterminants viraux impliqués dans ce phénomène les protéines d'enveloppe gp120 et gp41 qui interagissent avec le récepteur CD4.

Certain travaux montrent que le corécepteur CXCR4 active une voie de signalisation conduisant à la voie intrinsèque d'apoptose (relargage de cytochrome c de la mitochondrie,

activation des caspases 9 puis 3), et ainsi à la mort des cellules T CD4 par apoptose sans infection ni réplication virale [26].

VIII. Traitements :

Les antirétroviraux constituent l'arsenal thérapeutique contre le VIH, qui s'étoffe progressivement. Ils ont pour but d'interférer sur différents mécanismes, d'une part sur les enzymes nécessaires à la réplication du VIH et d'autre part sur ses mécanismes d'entrée dans la cellule [6]. L'objectif du traitement antirétroviral est de réduire au maximum la réplication du virus pour le rendre indétectable dans le plasma, soit l'obtention d'une charge virale plasmatique inférieure au seuil de détection, en général < 50 copies/ml [22,24]. Les antirétroviraux sont classés suivant leur domaine d'action :

- ✓ **Inhibiteurs de la transcriptase inverse** : ils empêchent la synthèse d'ADN proviral à partir de l'ARN viral. Nous retrouvons dans cette classe :

- Inhibiteurs Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse (INTI) : ils ont constitué la première classe d'antirétroviraux. Ce sont des prodrogues devant être phosphorylées pour conduire à des dérivés actifs sur la transcriptase inverse. Ils comprennent la Zidovudine (AZT), la Didanosine (DDI), la Zalcitabine (DDC), la Stavudine (D4T), la Lamivudine (3TC), l'Abacavir (ABC) et l'Emtricitabine (FTC) [11,27].

- Inhibiteurs Non Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse (INNTI) : ce sont des inhibiteurs puissants et très sélectifs de la transcriptase inverse du VIH. Leur particularité est qu'ils n'ont pas besoin d'être métabolisés pour inhiber la transcriptase inverse du VIH. Ils ne sont pas actifs sur le VIH-2 et le groupe O du VIH-1. Dans cette classe il y a la Nevirapine (NVP), l'Efavirenz (EFV) et la Delavirdine (DLV) [11,27].

- Analogues nucléotidiques : comme le Ténofovir (TDF) ils sont des composés de synthèse organophosphorés. Ils s'incorporent sous leur forme triphosphorylée, à la chaîne d'ADN en formation lors de la transcription de l'ARN du virus et en bloquent l'étape finale [11,27].

- ✓ **Inhibiteurs de la Protéase (IP)** : agissent en inhibant l'action de la protéase virale qui permet le découpage et l'assemblage des protéines virales, processus indispensable à l'obtention de virus infectieux. Les virions ainsi obtenus sont incapables d'infecter de

nouvelles cellules. Les IP sont actifs sur le VIH-1 et le VIH-2. Quatre inhibiteurs de la protéase sont actuellement utilisés dans le traitement du VIH : le Lopinavir/Ritonavir (LPV/r), le Saquinavir (SQV/r), l'Indinavir (IDV/r) et le Nelfinavir [11,27].

✓ **Inhibiteurs d'entrée**

- Inhibiteur de fusion (IF) : interviennent au début du cycle de réplication du VIH en bloquant les protéines de surface du VIH (gp120 ou gp41) ou perturbant les co-récepteurs des cellules ciblées par le VIH (CCR5 ou CXCR4). Exemple: le T-20 ou Enfuvirtide.

- Inhibiteur de CCR5 : le Maraviroc et le Vicriviroc agissent en inhibant l'entrée du VIH dans les cellules par effet allostérique après liaison au corécepteur CCR5 [11,27].

✓ **Inhibiteurs d'intégrase** : Ces inhibiteurs bloquent l'action de l'intégrase et empêchent ainsi le génome viral de se lier à celui de la cellule cible. Bien que ces médicaments puissent avoir des effets secondaires passagers ou permanents qui peuvent conduire à l'arrêt ou surtout la modification du traitement, ils ont une efficacité relativement importante lorsque le traitement est correctement suivi. Le traitement antirétroviral de première ligne repose actuellement sur une trithérapie associant généralement deux inhibiteurs nucléosidiques différents et un inhibiteur non nucléosidique ou un inhibiteur de protéase [11,27].

Cette étude a été effectuée entre Janvier et Juin 2017, au sein du laboratoire d'immunologie cellulaire de l'Institut Pasteur d'Algérie (IPA), nouveau siège social situé à Dely-Brahim.

Il s'agit d'une étude rétrospective à visée descriptive portant sur 45 patients infectés par le VIH et suivis au laboratoire d'immunologie cellulaire à l'IPA.

Durant la période s'étalant de 2015 à 2017, 217 individus ont été enregistrés à l'IPA comme étant séropositif pour le VIH. Nous n'avons pu effectuer un suivi du taux des LTCD4+ que pour 45 d'entre eux.

I. Population de l'étude :

45 patients ont été sélectionnés, âgés de 6 mois à 74 ans, VIH séropositif, ont bénéficiés au laboratoire d'immunologie cellulaire d'une numération des LTCD4+ dans le sang. Ces examens immunologiques étaient à visés diagnostique pour certains et thérapeutiques pour d'autres.

Ce groupe de 45 patients comprend des individus des deux sexes à différents stades de la maladie asymptomatique (n= 10), symptomatique (n =17) , SIDA(n =18). 15 d'entre eux ont été traités par une trithérapie et 11 non traités. Pour les 19 restants leur statut thérapeutique n'a pas été indiqué.

Les 45 patients d'origine algérienne et étrangère nous ont été envoyés par les différents centres hospitaliers du territoire national. 21 patients de l'EHS ELAADI FLICI, 9 patients EPH BOUFARIK, 6 patients de l'EPH CHLEF, un patient de l'EPH BATNA et 8 patients du CHU BEJAIA).

II. Matériel:

II. 1 Matériel biologique

L'évaluation du taux des lymphocytes T CD4 a été réalisée à partir du sang périphérique. Nous avons prélevé 15 ml de sang périphérique frais sur un tube contenant un anticoagulant l'Acide Ethylène diamine Tétracétique (EDTA). Le jeun des patients n'est pas un paramètre élémentaire, et aucune précaution particulière ne doit être observée par ce dernier.

Nous avons aussi utilisé des anticorps anti CD4 murins, monoclonaux de type IgG1 marqués par le RD1 (phycoérythrine) : la RD1 appartient à la famille des phycobiliprotéines. C'est un pigment rouge extrait des algues rouge, qui permet le marquage d'AC anti CD4 murins, monoclonaux de type IgG1. Il peut être excité par une longueur d'onde unique 488nm et présente des spectres d'émission différents 580 et 528 nm [28].

II.2 Matériel non biologique :

Nous avons utilisés des appareillages, de la verrerie, des réactifs et des solutions mentionnés dans les annexes 2.

III. Méthodologie :

III .1 La cytométrie en flux :

La numération des L T CD4+ par cytométrie en flux (CMF) mesure le nombre de cellules CD4 par 1 μ l de sang. Elle est de plus en plus réalisée du fait de son importance considérable au cours de l'évolution de la maladie liée au VIH [30]. La seule contrainte de la CMF est que les cellules soit en suspension. L'analyse de la CFM est multiparamétrique. L'appareil utilisé est appelé cytomètre en flux (**Figure 5**) et peut analyser entre quelques centaines et plusieurs dizaines de milliers d'évènements par seconde [30, 32]. Les résultats présentés par le cytomètre en flux sont organisés sous forme d'histogramme et de graphique en nuage.

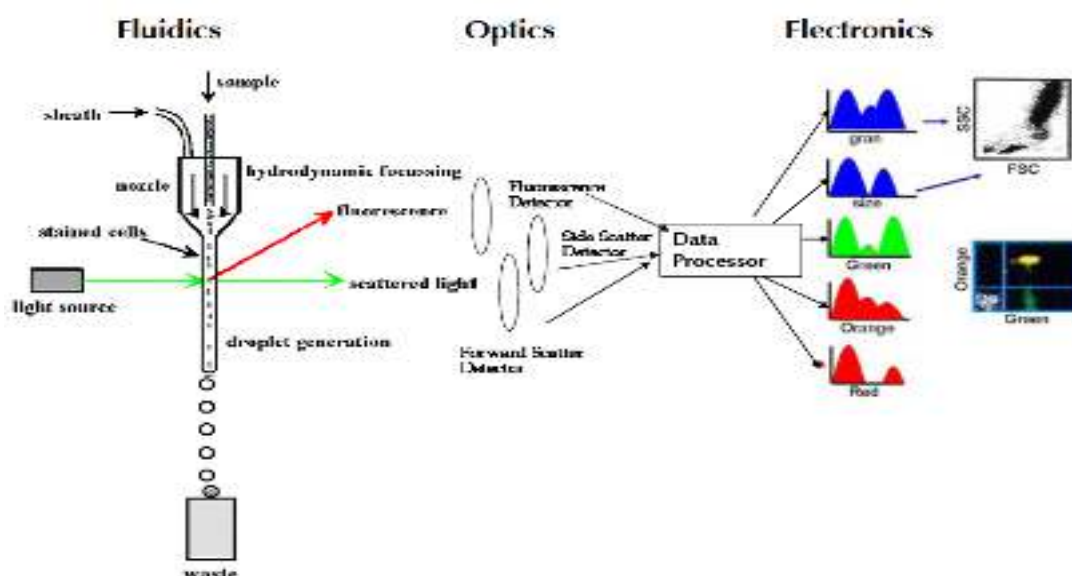


Figure 5 : Schéma d'un cytomètre en flux [30]

Principe :

La cytométrie en flux se caractérise par l'utilisation d'un système d'excitation et de détection. La source d'excitation lumineuse doit permettre une excitation du colorant utilisé (RD1) à une longueur d'onde proche de son maximum d'absorption [29, 33]. La CMF est basée sur le principe de l'immunofluorescence (**Figure 6**). Sous certaines conditions, une molécule peut absorber un photon. L'énergie absorbée par la molécule entraîne le passage de l'un de ses électrons de l'état fondamental S_0 à un état excité S_1 ou S_2 . Une partie de l'énergie est perdue rapidement sous forme de chaleur lors du processus de conversion interne qui ramène l'électron d'un état excité quelconque au premier état excité électronique S_1 . L'électron retourne rapidement à l'état fondamental S_0 en émettant un photon d'énergie plus faible que l'énergie du photon absorbé [32].

Les signaux optiques ou physiques émis par la cellule en suspension, sont ensuite captés par des détecteurs et transmis à un ordinateur. Ces signaux, reliés aux propriétés optiques, permettent d'obtenir les informations cellulaires (**Tableau I**) [33].

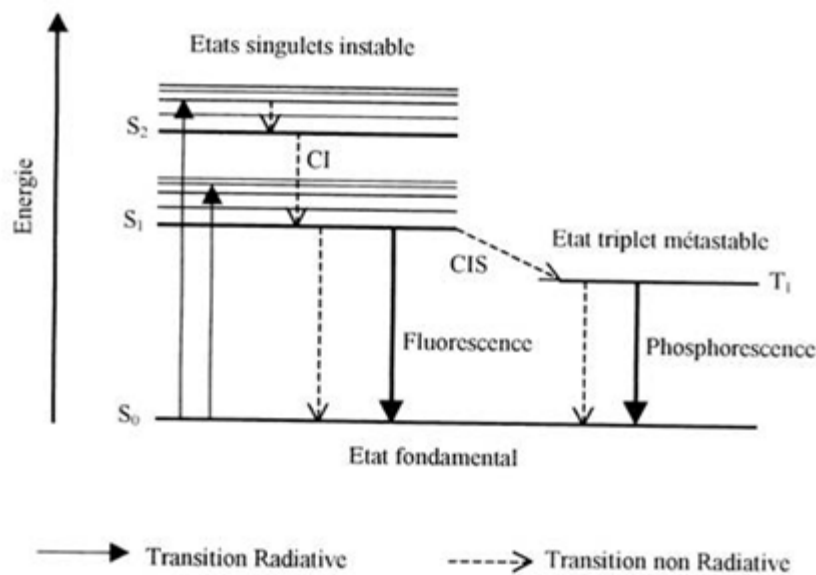


Figure 6 : Diagramme de Jablonski [30]

Tableau I : Informations données par la cytométrie en flux [33]

Paramètres optiques	Signaux	Informations
Diffusion de la lumière aux petits angles	Proportionnelle au diamètre, volume cellulaire	Taille des cellules (FSC)
Diffusion de la lumière à angle droit	Fonction du contenu cellulaire	Hétérogénéité cellulaires (SSC)
Fluorescences	Intensité, proportionnelles à l'intensité du marquage	Marqueur cellulaire, ADN, ARN, fonctions cellulaires

Mode opératoire :

- Après avoir retiré les réactifs du réfrigérateur, laisser à température ambiante pendant 30 mn.
- Déposer 10 µl de conjugué (AC anti CD4 marqués par le RD1) au fond d'un tube déjà étiqueté.
- Agiter délicatement le sang et déposer 100 µl dans le tube.
- Après une légère agitation, incuber à l'abri de la lumière pendant 10 min.
- A la fin de l'incubation, on procède à la lyse des globules rouges en ajoutant 400 µl de solution de lyse.
- Incuber sous agitation pendant 5 min à l'abri de la lumière et à température ambiante. L'incubation doit impérativement ne pas dépasser 8 min pour éviter l'initiation de la lyse des globules blancs.
- Centrifugation 1200T/ min pendant 5 min.
- Aspirer délicatement le surnageant.
- Remettre le culot en suspension dans 500 µl de PBS froid.
- Lecture sur cytomètre en flux.

III.2. Tests statistiques :

Le logiciel XLSTAT a été utilisé pour le traitement des résultats. Les données ont été analysées à l'aide de tests statistiques :

Test d'analyse de variance à 1 facteur (ANOVA) : Utilisé pour comparer le taux des LT CD4 entre les patients selon le stade d'infection.

Test non paramétrique : utilisé pour comparer le taux des LTCD4 entre les 2 sexes.

Test de Mann et Whitney : non paramétrique utilisé pour comparer l'efficacité de la trithérapie ARV avant et après la prescription.

Pour les trois tests la différence est significative si $P < 0,05$.

I. Caractéristiques épidémiologiques la population étudiée :

Au cours de cette étude de la numération des LTCD4+ chez les personnes atteintes du VIH, à l'Institut Pasteur de Dely Brahim, des difficultés ont été rencontrées lors de la collecte de donner. Parmi elles nous citerons:

- La non assiduité des patients au rendez vous.
- Le refus des patients de répondre aux interrogatoires.
- Le manque d'informations communiquées par les médecins.

Dans l'ensemble des résultats rapportés dans cette étude le sexe ratio est exprimé par le rapport du nombre des hommes à celui des femmes au sein de la même population (SR= nbr H / nbr F).

Notre étude a porté sur 45 patients infectés par VIH et repartis en 19 femmes (42%) et 26 hommes (58 %). (**Figure 7**)

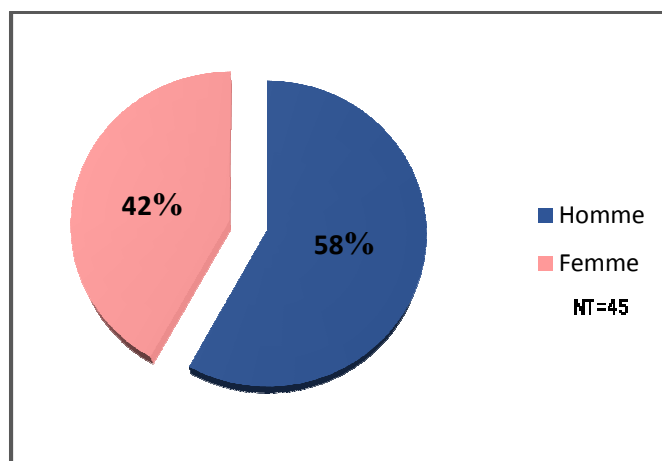


Figure7 : Répartition de la population selon le sexe

Dans cette étude, l'âge moyen de notre population est de 37,70 ans avec des extrêmes de 6 mois et de 74 ans (**Figure 8**). Nous dénombrons :

- 5 patients entre 0 et 10 ans avec un âge moyen 2 ,2ans .
- Aucun patient entre 10 et 20 ans.

Résultats et discussion

- 7 patients entre 20 et 30 ans avec un âge moyen 26 ans
- 13 patients entre 30 et 40 ans avec un âge moyen 34 ,6ans
- 11 patients entre 40 et 50 ans avec un âge moyen 42 ,5ans.
- 4 patients entre 50 et 60 ans avec un âge moyen 55 ,2ans.
- 2 patients entre 60 et 70 ans avec un âge moyen 68 ,1 ans.
- 3 patients entre 70 et 80 ans avec un âge moyen 72 ,1 ans.

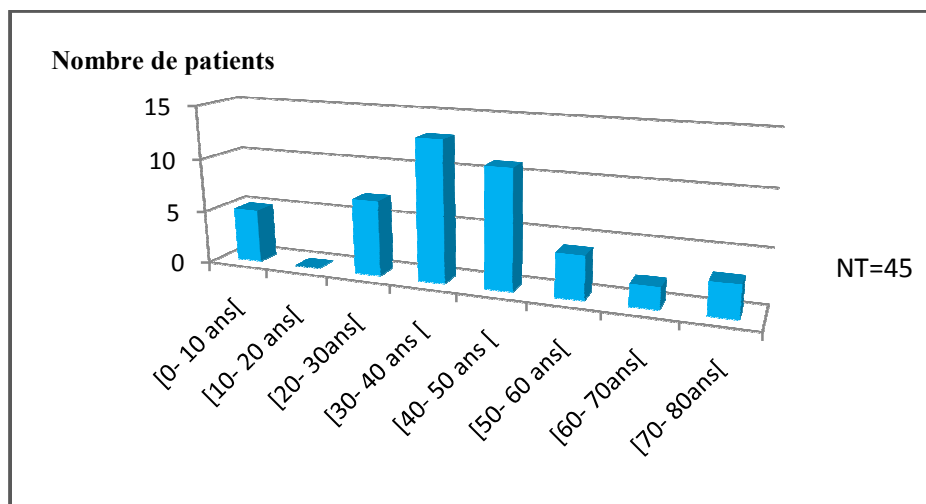


Figure 8 : Répartition de la population selon l'âge.

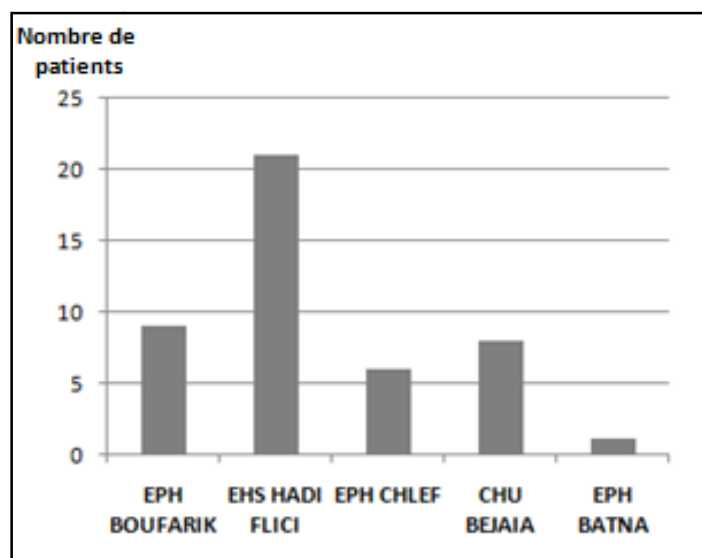


Figure 9 : répartition des patients en fonction de leurs provenances

Résultats et discussion

La répartition des patients en fonction de leurs provenances est représentée dans la figure 9 ci-dessus.

La répartition de la population en fonction du stade de l'infection VIH est représentée sur la figure 10.

24% des patients étaient en phase asymptomatique avec un âge moyen de 41,15 ans et un sexe ratio de 2,66.

34 % des patients étaient en phase symptomatique avec un âge moyen de 37,76 ans et un sexe ratio de 1,14.

42% des patients étaient en phase SIDA avec un âge moyen de 33,5 ans et un sexe ratio de 1,11.

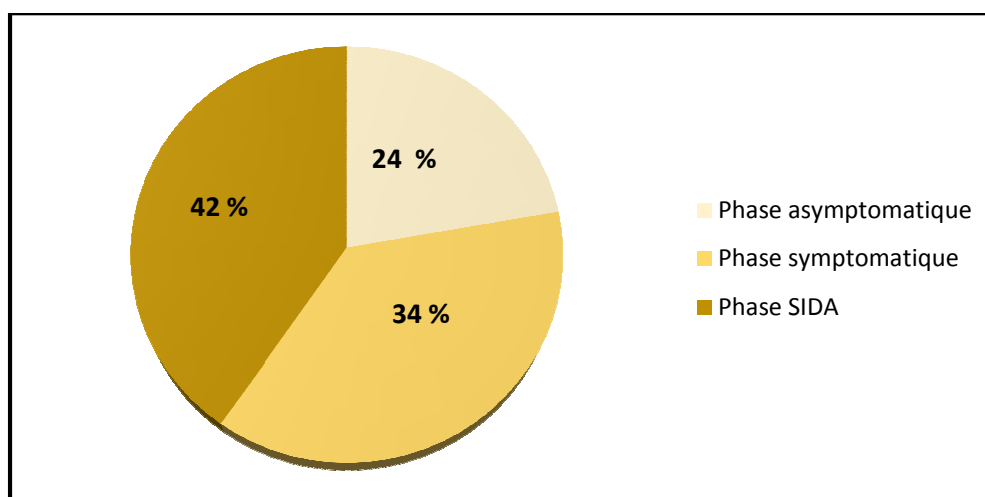


Figure 10 : Répartition de la population en fonction du stade de l'infection VIH

Dans cette étude le sexe masculin est le plus représenté dans notre échantillon avec 58%, soit un sexe ratio de 1,36. La prédominance masculine a été retrouvée dans la plupart des études menées sur le VIH en Algérie, notamment celle de **Kerbal et Ouzriat (2012)** et celle de l'ONUSIDA (2014) qui ont reportés respectivement un sexe ratio de 1,71 et 1,28 en faveur des hommes [34,3]. Cette prédominance masculine peut s'expliquer par l'impact socioculturel. Effectivement en Algérie les hommes sont plus exposés que les femmes à la contamination par voie sanguine (injection de drogues par voie intraveineuse) et sexuelle.

L'âge moyen de la population a été de 37,70 ans. Les tranches d'âges les plus représentées ont été celles des [20-30 ans], [30-40 ans] et [40-50 ans]. Ce résultat rejoint le rapport établi par de ONUSIDA (2014) en Algérie. Qui estime que la tranche d'âge la plus touchée est celle des [25 -49 ans] [3]. La prédominance de ces tranches d'âges pourrait s'expliquer par le fait que cette période correspond à celle d'une activité sexuelle maximale, exposant au risque de transmission des infections sexuellement transmissibles.

46,5% des patients de notre étude (n =21) nous ont été envoyés par l'ECH HADI FLICI, ceci s'explique par le fait que cet hôpital spécialisé en maladie infectieuse soit le plus grand en Algérie.

Concernant le stade d'avancement de l'infection VIH, les résultats obtenus sont différent de ceux trouvés dans une étude, menée au Nigeria, par l'équipe d'Ajayi .Parmi les 87 cas étudiés, 10,3% été au satde SIDA, 7,5% au stade symptomatique et 82,2% au stade asymptomatique [35]. Cette différence de résultats s'expliquerait par l'échantillonnage aléatoire des populations d'études.

II. Répartition de la population en fonction du statut thérapeutique :

Notre population a été réparti en groupe et sous groupe comme le présentent la figure 11, Nous dénombrons :

- 11 Patients non traités (23%) : âge moyen 31, 23 ans avec un sexe ratio de 1,5.
- 15 Patients traités (34%) : âge moyen 38,16 ans avec un sexe ratio de 1,21. Chez ces patients on distingue :
 - ✓ Patients dont la durée de la thérapie inférieure à 6 mois.
 - ✓ Patients dont la durée la thérapie supérieure à 6 mois (allant jusqu'à 18 mois)
- 19 Patients non identifiés (43%) : l'initiation ou non d'une thérapie n'a pas été indiquée dans les dossier de ces patients .

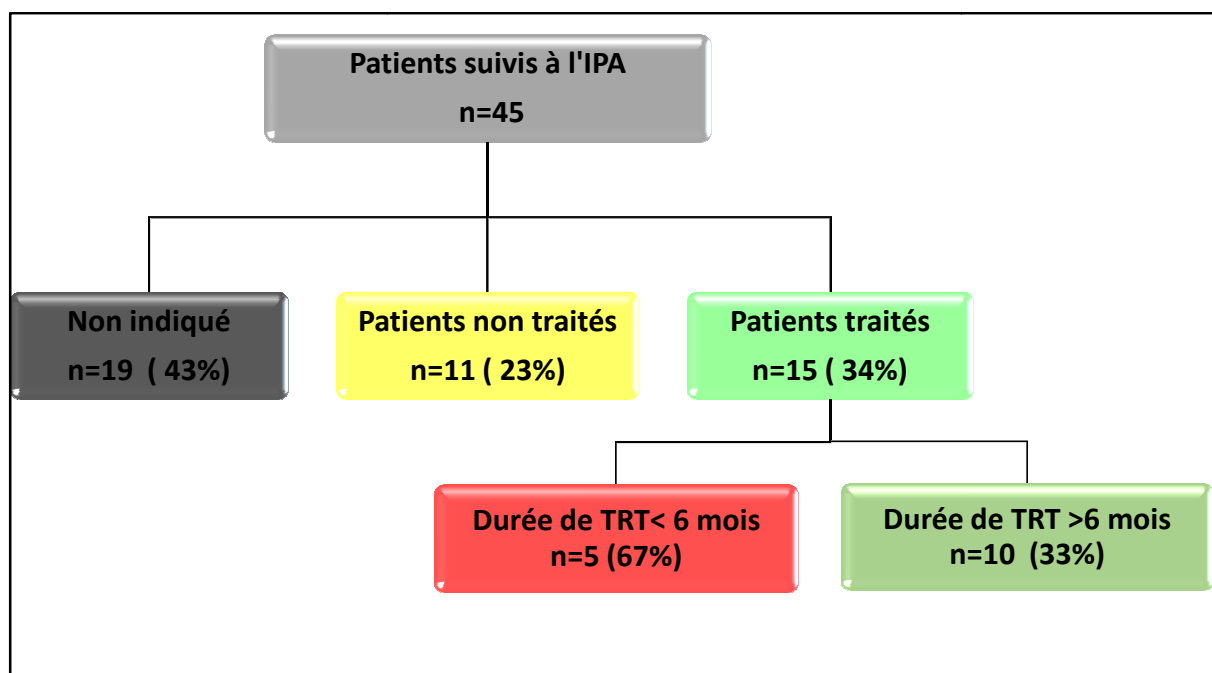


Figure 11 : Récapitulatif de l'ensemble des patients suivis

Dans l'étude présente 34% des cas ont bénéficiés de tritérapie .Ce pourcentage haut s'explique par le fait que la majorité de nos patients soit au stade SIDA. Des patients n'ont pas été traités, cela pourrait s'expliquer par la non nécessité de thérapie au stade primaire de l'infection ou par des restrictions budgétaires. Pour la grande majorité des patients, il n'a pas été indiqués dans leurs dossiers s'ils avaient été traités ou non . Cela pourrait être du à une mauvaise communication entre les centres hospitaliers et l'IPA.

III. Données immunologiques :

La numération des sous-populations lymphocytaires T CD4+ est un test recommandé par l'ONUSIDA lors du suivi de l'évolution de l'infection VIH. Le taux des LT CD4+ est un marqueur immunologique de référence pour le suivi de l'infection VIH (tant sur le plan pronostique que sur le plan thérapeutique) vu l'existence d'une corrélation entre le stade de la maladie et le nombre des LT CD4+ [30,36]. Le taux des LTCD4 peut être exprimé en nombre de cellules par ml ou en pourcentage. A titre d'exemple, si l'analyse indique un taux de 34% de CD4 cela signifie que 34 % des lymphocytes du patient sont des cellules LT CD4+. Les résultats exprimés en pourcentage sont plus stable que ceux exprimés en cellules par µl [37].

Entre 2015 et 2017, 151 numérations de LTCD4+ ont été réalisées sur notre population (n=45). Soit une moyenne de 3,35 par patient et ceux grâce la cytométrie en flux, une technique précise mais couteuse.

Afin de généraliser la numération au niveau des différents centres hospitaliers du territoire national. Nous proposons des techniques alternatives qui ont données des résultats satisfaisants en termes de faisabilité, de rapidité et de cout :

1 - la quantification des CD4 par microscopie à fluorescence, après leur isolement par billes couplées à des anticorps anti-CD4, proposée par Diagbouga et son équipe dans une étude menée sur 657 échantillons. Cette technique serait recommandée vu sa facilité, son faible cout et sa fiabilité car le coefficient de corrélation entre les résultats de cette technique et ceux de la cymométrie en flux est de 0,89 [38].

2- La mesure des CD4 par Elisa sur des échantillons de sang séchés sur papier filtre, proposée par et Mwaba et son équipe dans une étude menée sur 46 sujets. Cette technique présente une bonne corrélation avec la cytométrie en flux pour des taux supérieurs à 200/mm³, par contre la différence entre ces deux méthodes augmente significativement quand le taux de CD4 est diminué à moins de 200 cellules par mm³. Cette technique nécessite donc d'être plus travaillée mais représente une potentielle alternative intéressante à la cytométrie en flux [39].

III .1 Taux des LTCD4+ selon le sexe :

Le tableau II représente les moyennes du taux des LTCD4+ chez les hommes et chez les femmes aux différents stades de l'infection.

Chez les hommes : l'âge moyen est de 34,23 ans .Le taux moyen des LTCD4+ pour les hommes est de 20,67 % avec des extrêmes de 0,48% et de 53% et un écart type de 1,56.

Chez les femmes : l'âge moyen est de 38,31 ans .Le taux moyen des LTCD4+ pour les femmes est de 28,63 % avec des extrêmes de 8% et de 58% et un écart type de 1,04.

Résultats et discussion

Tableau II : Moyennes du taux des LTCD4+ selon le sexe et le stade de l'infection

Stade de l'infection	Effectif des Hommes (n)	Moyenne du taux des LTCD4+	Effectif des Femmes (n)	Moyenne du taux des LTCD4+
Stade asymptomatique	8	36,79%	3	44,45%
Stade symptomatique	8	17,67%	7	22,01%
SIDA	10	7,57%	9	13,45 %
Total	26	20,67 %	19	26,63%

Le taux moyen des LTCD4+ entre les hommes et les femmes de notre population est significativement différent ($P= 0.003$). La moyenne du taux des LTCD4+ chez les femmes de notre population est plus élevée que celle de leurs homologues masculins au cours des trois stades de l'infection.

Les résultats de Ndawinz montre aussi l'existence d'une différence significative ($P=0,003$) entre la moyenne du taux des LTCD4+ chez les hommes (33.2%) et chez les femmes (40.4%). Il explique que malgré les taux des LTCD4+ significativement, soit plus élevé chez les femmes que chez les hommes lors des premières années de l'infection, la survenue du sida se passe à peu près dans les mêmes délais. Il explique aussi que les femmes développant le SIDA meurent à des taux de lymphocytes CD4+ plus élevés que les hommes [40]. Ces explications justifieraient la différence significative observée dans nos résultats.

Les travaux de l'équipe d'Ajayi montrent que la moyenne des LTCD4+ est un peu plus élevée chez les hommes (29,18%) que chez les femmes (27,8%) [35]. Il souligne que la différence du taux des LTCD4+ n'est statistiquement pas significative ($P=0.48$). Ces résultats

sont différents des nôtres cela peut être dus à la différence des stades évolutifs de l'infection entre les sujets masculin et féminin (sujets féminin à un stade plus avancés de l'infection).

III.2 Taux des LTCD4+ selon l'âge : (Figure 12)

Pour la suite de nos résultats les tranches d'âge [20- 30 ans [, [30- 40 ans [, [40- 50 ans [et [50- 60 ans [ont été regroupées en une seule catégorie [20- 60[(Adultes). Pour les [60- 70 ans [et [70- 80 ans [elles ont été regroupées dans la catégorie [60- 80[(Séniors).

Catégorie [0 – 10 ans [: âge moyen 2,2 ans, taux moyen des LTCD4+ la est de 24,9 % avec des extrêmes de 9% et de 49 % et un écart type de 2,03.

Catégorie [20- 60 ans [: âge moyen 39,82 ans, taux moyen des LTCD4+ est de 27,8% avec des extrêmes de 18,1% et de 58% et un écart type de 1,91.

Catégorie [60- 80 ans [: âge moyen 72 ans, taux moyen des LTCD4+ pour la est de 16,8% avec des extrêmes de 0,9% et de 28,9% et un écart type de 1,57.

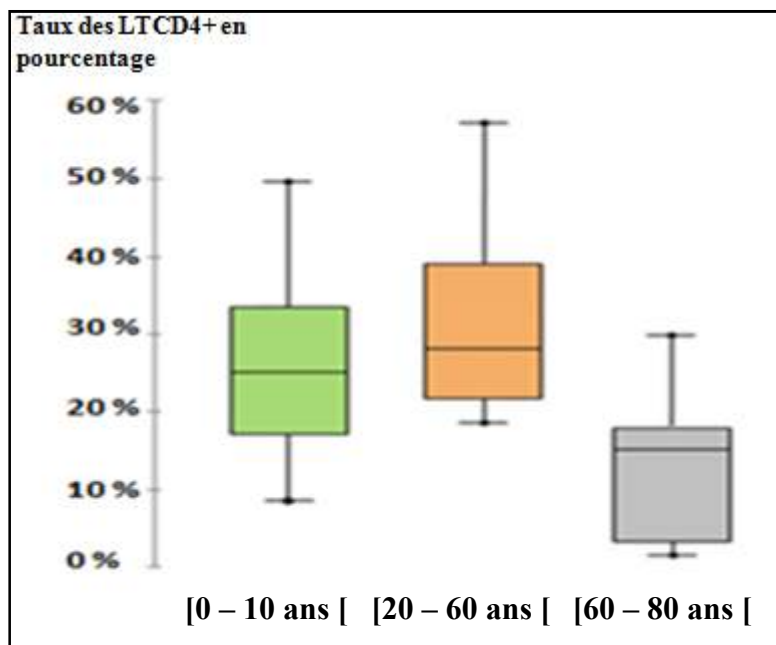


Figure 12 : Taux des LTCD4+ en fonction de l'âge

✓ **Catégorie [0 – 10 ans]:**

La contamination materno-fœtal dite verticale représente la vraie particularité de l'infection VIH de l'enfant. Leur moyenne des LTCD4+ n'est pas significativement différente de celle observée chez les adultes. Car même si le système immunitaire d'un enfant est immature, lors des premières années de la vie (0-3 ans) l'enfant possède beaucoup plus de lymphocytes qu'un adulte.

L'immaturation du système immunitaire de l'enfant (0-3 ans) conduit en absence de traitement à la diminution progressive et continue de LTCD4+ et à l'apparition rapide d'infections opportunistes précoces. Alors que l'enfant âgés de plus de 3 ans bien qu'affaibli, son système immunitaire a encore la possibilité de contrôler le VIH, évitant ainsi l'apparition d'infections opportunistes.

Des résultats similaires ont été observés par Sagna Tani lors de son étude menée sur les enfants infectés (taux LTCD4+ =17,8%) et leurs mères (taux LTCD4+ =22,4%). Sangna Tani explique que l'enfant peut contrôler l'infection VIH aussi bien qu'un adulte [9].

Les résultats de Moronta et son équipe rejoignent les nôtres et ceux de Sagna Tani. La moyenne des LTCD4+ de sa population d'enfants âgés entre 1- 6 ans est de 29,6%. Elle explique que ces derniers affichent aussi un indice élevé de charge virale car au moment de l'infection primaire, la réponse immunitaire de l'enfant ne se met pas en place immédiatement [41].

✓ **Catégorie [20 – 60 ans] :**

Nos résultats sont différents de ceux de l'équipe de Tobon, et celle de Jarrin. La moyenne du taux des LTCD4+ de nos sujets est plus élevée que celle de Tobon et son équipe (15,2%). Ceci peut être dû à la différence de stade de l'infection de nos échantillons. Tobon explique que la majorité des sujets adultes (71%) étaient déjà au stade SIDA lors de la numération des LT CD4+ [42].

La moyenne du taux des LTCD4+ de nos sujets est plus basse que celle de Jarrin et son équipe (29,2%). Ceci peut être dû à la différence de stade de l'infection de nos échantillons. Jarrin justifie les résultats élevés par la présence dans son échantillon de sujets capables en absence de traitement de contrôler la réplication du VIH pendant de longues périodes (élite

controllers). Ils ajoutent que ce contrôle de l'infection est basé sur la balance entre le faible nombre de cellules infectées persistant chez ces sujets et la présence d'une réponse ou adaptative efficace [43]. Pour leur étude, publiée dans NATURE, l'équipe de Miura est arrivés à de deux constats :

- les «elite controllers» portent souvent un gène spécifique, le *HLA B57* [44].

- Les personnes porteuses de ce gène ont plus de risques de développer des maladies auto-immunes, dans lesquelles le système immunitaire produit une réponse nocive contre les protéines du corps [44].

✓ **Catégorie [60 – 80 ans] :**

Il existe une différence significative ($p=0,017$) entre la moyenne des LTCD4+ de nos sujets âgés et celle observés chez les adultes. Cela s'explique par l'agressivité du VIH et la fragilisation du système immunitaire des personnes âgées liée à leur vieillissement. La moyenne des LTCD4+ nos sujets âgés est plus basse que celle observée chez les enfants car l'enfant évolue plus lentement vers le stade que le sujet âgé. Le Dr George Schmid, scientifique au Département VIH/sida de l'OMS confirme que l'espérance de vie est supérieure à 13 ans chez l'enfant contaminés alors qu'elle n'est que de quatre ans chez ceux contaminés à 65 ans ou plus [45].

Les résultats des travaux descriptifs du VIH/SIDA chez les 286 sujets âgés de plus 60 ans de **Mbopi-Kéou (2011)** sont plus bas que les nôtres avec une moyenne de 9,3% de LTCD4+. Cette différence est due au grand écart entre les effectifs étudiés, et à la différence de stades. Par ailleurs **Mbopi-Kéou (2011)** certifie que les personnes âgées évoluent en l'absence de toute spécificité de groupe [46]. Cette absence oblige la vigilance, afin que ces sujets âgés puissent, comme tous les autres, bénéficier de meilleures conditions de diagnostic et de traitement.

III. 3 Taux des LTCD4+ selon le stade (Figure 13)

- Phase asymptomatique : La moyenne des LTCD4+ chez les patients en stade asymptomatique est de 38,3%, avec une limite inférieure de 29,2%.

Résultats et discussion

- Phase symptomatique : La moyenne des LTCD4+ chez les patients en stade symptomatique est de 18,05%. Avec des extrêmes de 13,8 % à 26%.

- Phase SIDA : La moyenne des patients en stade SIDA est de 9,2%, avec une limite supérieure de 14,2%.

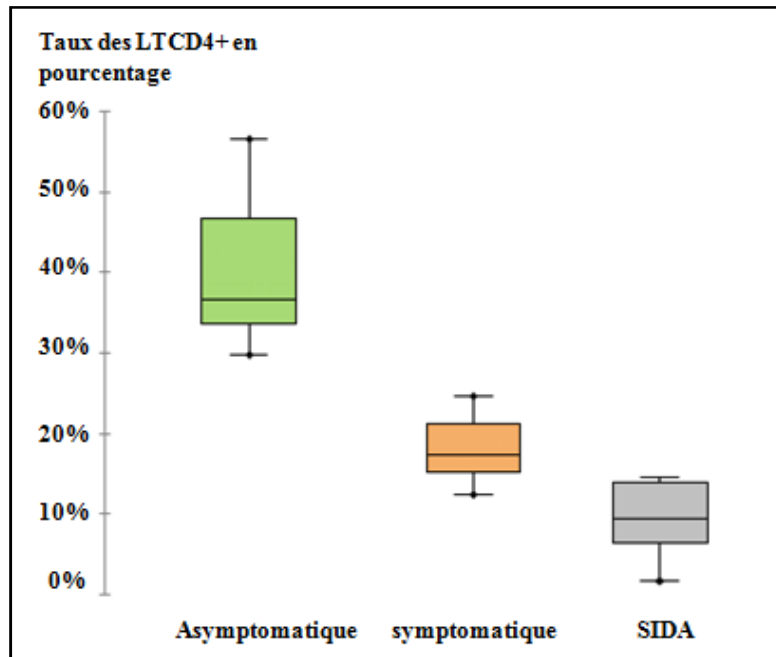


Figure 13 : Taux des LTCD4+ selon le stade de l'infection VIH

Le taux des LTCD4+ permet de mesurer la gravité de l'immunodépression.

- **Phase asymptomatique :** La moyenne du taux des LT CD4+ observée chez les patients à ce stade plus élevée que celles observés au cours du stade symptomatique et du stade SIDA. Ce taux relativement élevé s'explique par la latence du virus. Il est acquis que l'établissement d'une latence ne se fait pas dans les cellules CD4+ naïves mais dans des cellules activées qui retournent à l'état de repos. Ces cellules infectées de manière latente contiennent des provirus stablement intégrés, transcriptionnellement silencieux mais compétents en terme de réplication. L'intégration du provirus dans les zones hétérochromatiniennes du génome de l'hôte, expliquerait l'établissement et le maintien de la latence virale [21]. Nos résultats ne sont pas significativement différents des normes établies par l'OMS [23].

- **Phase symptomatique :** Ces résultats sont inférieurs à ceux affichés chez les patients au stade asymptomatique. Cela confirme l'existence d'une déplétion irréversible des LTCD4+

associée à l'activation de la réplication virale. Car lors de l'activation de la réplication virale une augmentation du taux des cytokines pro-inflammatoire TNF α (inducteur d'apoptose) se produit [47]. Nos résultats sont en cohérence avec les normes établies par l'OMS [23].

- **Phase SIDA** : La moyenne des LTCD4+ est basse à ce stade car le système immunitaire est rendu très faible. Les dossiers des patients traités au cours de cette étude témoignent de l'apparition d'une ou plusieurs infections opportuniste. Nos résultats sont cohérents avec les normes établies par l'OMS. [23].

III. 4 Taux des LT CD4+chez les patients non traités :

Dans notre population, 11 patients n'ont pas reçus de traitement (**Tableau I ,Annexe 3**). L'âge moyen de ce groupe est de 43 ,28 ans, avec un sexe ratio de 0,75. 27% des patients de ce groupe sont en phase asymptomatique .

Le nombre total de numérations de CD4 réalisées sur les patients non traités est de 28, soit une moyenne de 2 ,54 par cas. La figure 15 expose le suivie du pourcentage des LTCD4+ dans le sang des patients non traités sur une période allant de 1 à 7 mois.

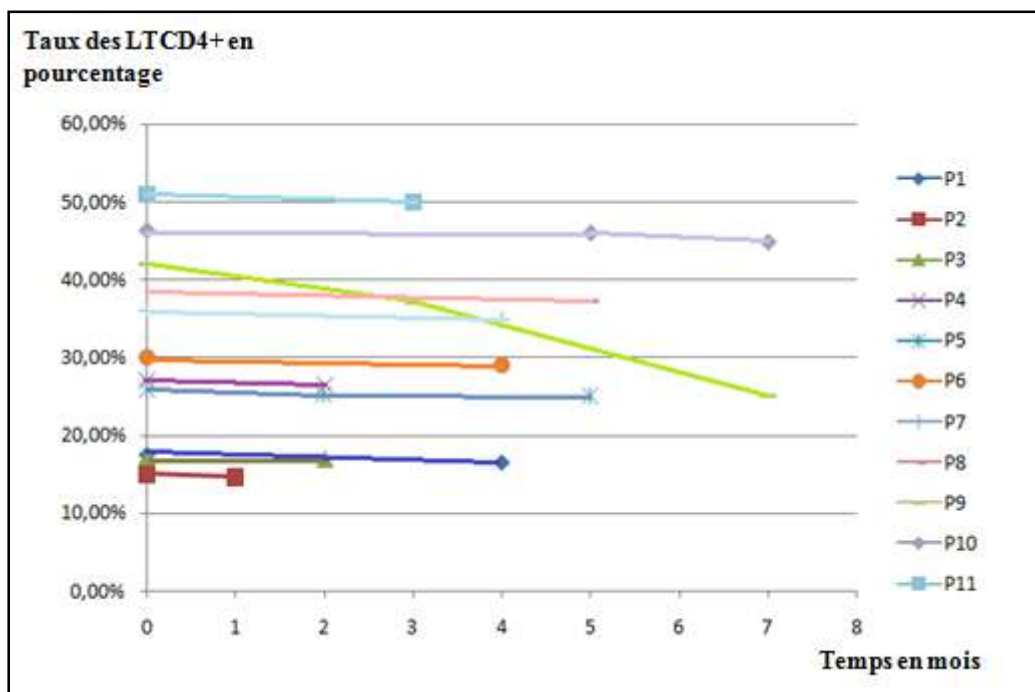


Figure 14: Suivi du taux des LTCD4 chez les patients non traités

P= Patients non traités de 1 à 11

En absence de traitement, tous les patients non traités connaissent une perte irréversible de LTCD4+. Nous avons remarqué que pour le patient 9, la perte des LTCD4 est plus rapide, soit une progression rapide du VIH. La progression rapide du VIH est définie par une désintégration de CD4+ le nombre de cellules T inférieur à un seuil compris entre 100 et 350 cellules / ml dans un intervalle de temps de 6 mois à 3 ans [48]. Chez les progresseurs rapides le contrôle de l'infection est basé sur la balance entre le nombre de cellules infectées et la présence d'une réponse immunitaire innée [43].

III .5 Taux des LT CD4+chez les patients traités :

Dans notre population, 15 patients ont bénéficiés d'une numération des LTCD4+ avant et après trithérapie (Figure 15). Le nombre total de numérations de LTCD4+ réalisées sur ses patients est de 45, soit une moyenne de 3 par personne. L'âge moyen de ce groupe est de 34,66 ans avec sexe ratio est de 3.

16,1% % des patients sont en phase asymptomatique , 46,6% des patients de ce groupe sont en phase symptomatique et 43,3% en phase Sida.

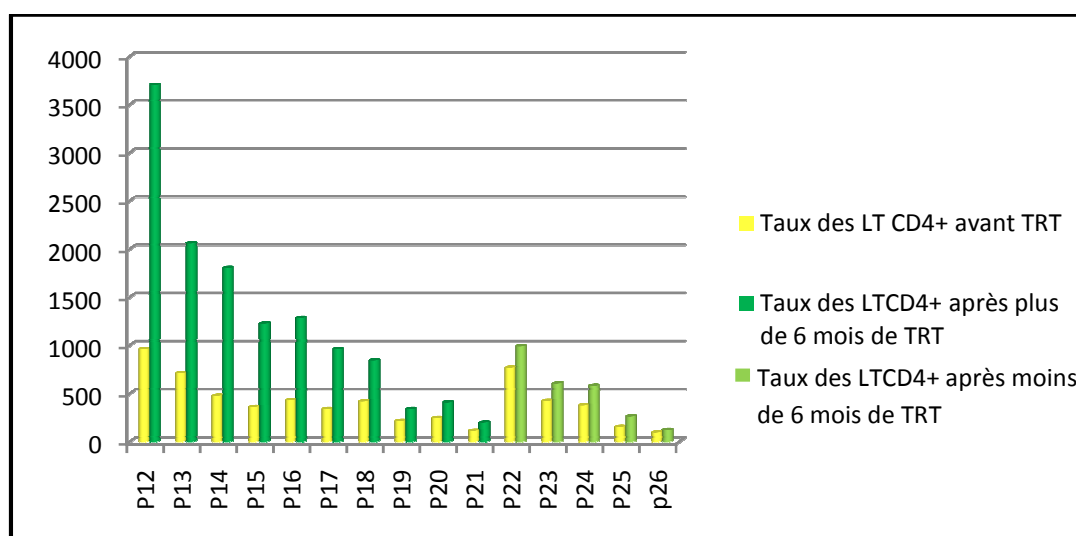


Figure 15 : Taux des LT CD4+ avant et après le traitement

P= patients traités, de p 12 à p26

Nous avons remarqué une augmentation du taux des LTDC4+, chez les 15 patients ayant reçus la trithérapie. Ce taux avant la prescription du traitement variait entre 95 et 822 c/μl, soit une moyenne de 437, 3 c/μl, et entre 121 et 3702 c/μl après la prise du traitement, soit

Résultats et discussion

une moyenne de 1172, 46 c/μl. La différence entre les deux moyennes est significative ($p=0,009$). Cela certifie l'efficacité du traitement antivirale.

Nos résultats rejoignent les travaux publiés de Karakodjo qui avait trouvé une moyenne de 104,257 c/μl avant traitement et une moyenne de 894,7c/μl après traitement ($p=0,017$). Il précise aussi que l'interruption du traitement est accompagnée inévitablement d'une chute du nombre de CD4+ [49].

Taux des LTCD4+ chez des patient dont la durée du traitement est supérieure à 6mois :

Parmi les patients traités, 10 (de p12 à p21) (**Figure 15**) ont bénéficiés d'une trithérapie pendant plus de 6 mois (jusqu'à 18 mois) (**Tableau III**).

- Pour les patients dont on a entamé la thérapie à des taux de LTCD4+ >500 c/μl, leurs nombre de cellules LTCD4+ avait multiplié par 3,3.
- Pour les patients dont on a entamé la thérapie à des taux de LTCD4+ 350-500 c/μl, leur nombre de cellules LTCD4+ avait été multiplié par 3,1.

Pour les patients dont on a entamé la thérapie à des taux de LTCD4+ < 350 c/μl, leur nombre de cellules LTCD4+ avait été multiplié par 2,04.

Tableau III: Patients dont la durée du traitement est supérieur à 6 mois

Taux de CD4 lors de l'initiation de la TRT (c/μl)	Effectif	Moyenne taux des LTCD4+ avant TRT (c/μl)	Moyenne du taux des LTCD4+ après TRT (c/μl)
Stade asymptomatique (>500c/μl)	2	716	2390
Stade symptomatique 350-500 c/μl	5	360	1127
SIDA < 300 c/μl	3	138	309,66

Ces résultats montrent bien que l'initiation de la thérapie antivirale à des taux de CD4 supérieur à 350 c/μl, est plus fructueuse que son initiation à des taux de CD4 inférieur à 350 c/μl. Nos résultats rejoignent l'analyse de Sterne publiée par The Lancet, qui comprend des

Résultats et discussion

informations de 15 cohortes internationales. Les données ont été recueillies auprès de 21247 patients suivis au cours de la période précédant la prescription du traitement antirétroviral, et sur 24,444 patients suivis depuis le début de la thérapie. La prescription du traitement antiviral quand les niveaux de CD4 soit entre 251-350 CD4 / μl a été associée à un taux élevés d'évolution vers le stade sida et à la mort de 28% des patients. Ce taux de mortalité est plus important que celui noté chez les patient ayant pris le traitement lorsque que les niveaux de CD4 étaient entre 351- 450 CD4 / μl . La conclusion de l'étude a été que le niveau le plus faible pour initier un traitement antirétroviral est de 350 CD4 / μl [50].

Toutefois certaines études comme celle du groupe canadien INSIGHT START, préfèrent l'initiation précoce de la thérapie chez des patients dont les taux de CD4+ sont supérieurs à 500 c/ μl [51].

Taux des LTCD4+ chez des patient dont la durée du traitement est inférieure à 6mois :

5 patient de (P22 à P26) (**Figure 15**) ont bénéficiés d'une trithérapie pendant moin de 6 mois (**Tableau IV**) .

Tableau IV : Patients dont la durée du traitement est inferieur à 6 mois

Taux de CD4 lors de l'initiation de la TRT (c/ μl)	Effectif	Moyenne taux des LTCD4+ avant TRT (c/ μl)	Moyenne du taux des LTCD4+ après TRT (c/ μl)
Stade asymptomatique (>500c/ μl)	1	766	990
Stade symptomatique 350-500 c/ μl	2	338 ,5	522 ,5
SIDA < 300 c/ μl	2	140	182

Nos résultats montrent que pour nos 5 patients, dont la durée de traitement été inférieure à 6mois (de p11à p15), le taux de LTCD4+ augmente. Comparer aux patients traités de plus de 6mois l'augmentation du taux de LTCD4+ est relativement faible. C'est à partir donc que du 6 mois qu'on peut juger de l'évolution des LTCD4+ et l'efficacité de la trithérapie. Karakodjo arrive à la même conclusion dans son étude du suivi des paramètres biologiques des

Résultats et discussion

personnes vivant avec VIH sous traitement ARV [49]. Yeni et *al* (2007) trouve que le premier semestre d'un traitement antirétroviral est une période critique pour l'avenir thérapeutique .Et doit faire l'objet d'une attention particulière. Les examens biologiques visant à évaluer l'efficacité immunovirologique pourraient être réalisés tous les 3 mois la première année. Au-delà de 1 an de traitement un contrôle immunologique pourra être réalisé tous les 4 mois si les CD4 sont inférieurs à 500/mm et tous les 6 mois si les CD4 sont supérieurs à 500/m [52].

Conclusion

L'étude que nous avons menée est une étude descriptive relative à la numération des LTCD4+ chez les personnes atteintes du VIH reçus à l'IPA. Il en ressort que :

- l'infection VIH est plus répandue chez les adultes que chez les enfants et les sujets âgés.
- le taux des LTCD4+ est plus élevé chez les femmes que chez les hommes, au cours des trois stades de l'infection.
- le sujet enfant contrôle plus l'infection VIH que le sujet âgé
- la trithérapie augmente considérablement le taux des LTCD4+, et que son initiation précoce serait plus efficace.
- l'efficacité de la trithérapie n'est observable qu'à partir de 6 mois de traitement.

Sans traitement antirétroviral les personnes infectées par le VIH subissent un déclin progressif du taux de lymphocytes T CD4+, ce qui conduit à un déficit profond de l'immunité. Etant des marqueurs de progression du déficit immunitaire, la numération des lymphocytes T CD4+ joue donc un rôle très important dans le diagnostic immunopathologique et le suivi immunologique des patients infectés par le VIH.

La détermination des sous-populations lymphocytaires CD4 pour le suivi des patients VIH+ est devenue un examen indispensable. Du fait de l'essor technologique de la cytométrie en flux, cette technique reste une méthode de choix pour cette analyse. Toutefois, il serait intéressant de développer des techniques plus accessibles et moins coûteuses qui permettraient aux pays africains, dont l'Algérie, de généraliser cet examen dans les centres de santé. Ceci permettrait de dépister le maximum d'individus séropositifs pour le VIH et ainsi limiter la dissémination de ce virus au niveau africain.

Il est important de rappeler que l'Afrique ne compte que 10 % de la population mondiale, mais c'est dans cette région du monde que naissent 90 % des bébés infectés par le VIH, sous l'effet combiné d'une prévalence élevée de l'infection, d'un fort taux de natalité et aussi de l'absence de dépistage et de prise en charge correcte des mères.

Sommaire

Liste des figures et des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	
I. Généralités sur le virus de l'immunodéficience humaine	1
I. 1 Epidémiologie	1
I. 2 Taxonomie et classification du VIH	1
I. 3 Origine des VIH	3
I. 4 Structure du VIH	3
I. 5 Organisation génomique des VIH	4
I. 6 Cellules cibles du VIH	7
I.7 Cycle de réplication	7
II. Physiopathologie de la réponse immunitaire au cours de l'infection VIH	7
III. Latence et persistance du VIH	13
IV. Histoire naturelle	14
V. Anomalies immunitaires lors de l'infection VIH	16
VI. Mécanismes de déplétion des lymphocytes T CD4	17
VII. Traitements	18
Matériel et Méthodes	20
Résultats et discussions	25
Conclusion	41
Bibliographie et webographie	42
Annexes	

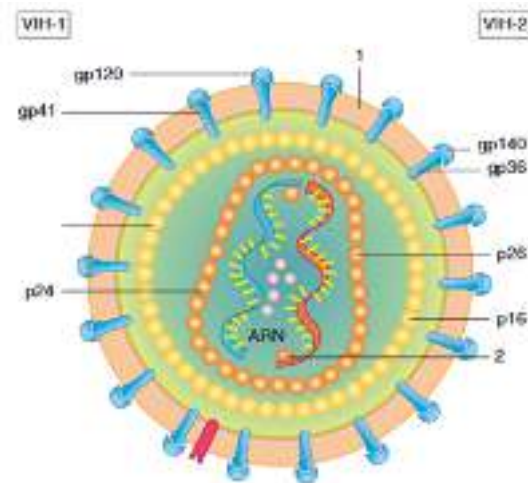


Figure 1 : structure des virus de l'immunodéficience humaine (VIH).

Les différentes molécules structurales du VIH1 ont indiqués sur la gauche de la figure et du VIH2 sur la droite. ARN : acide ribonucléique, gp : glycoprotéine.

1. Double couche lipidique, 2. Intégrase 3. Transcriptase inverse [11].

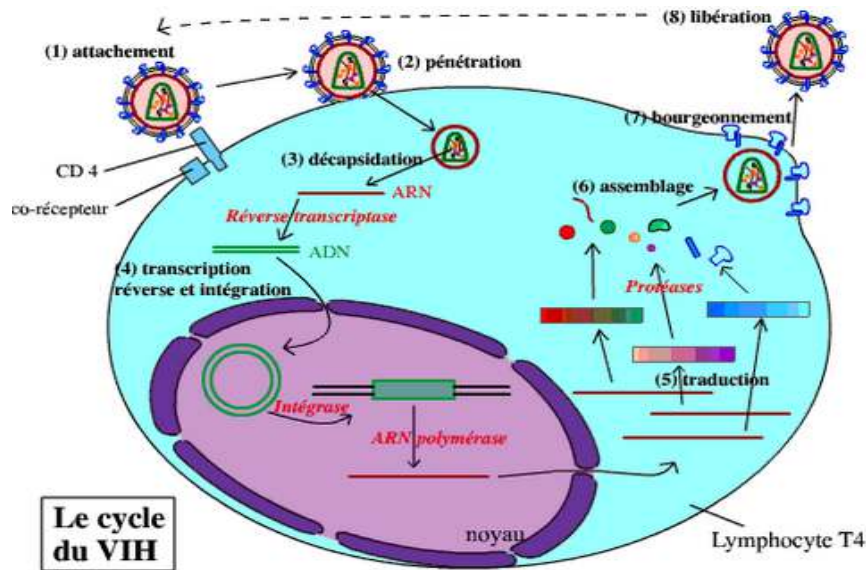


Figure 2 : Cycle de réplication du VIH

Attachement : Le virus se fixe sur le lymphocyte T CD4+, par reconnaissance entre la protéine virale gp120 et la protéine CD4 d'un lymphocyte (ainsi qu'à un corécepteur CXCR4 dans le cas des lymphocytes T4 ; CCR5 dans le cas des monocytes ou des macrophages).

Pénétration : Les deux membranes (du virus et du lymphocyte) fusionnent, ce qui permet la pénétration de la nucléocapside, il s'ensuit la décapsulation et la libération de l'ARN viral dans le cytoplasme.

Décapsulation : Les deux capsides se dissocient, libérant l'ARN viral dans le cytoplasme.

Transcription inverse et intégration : Grâce à la TI virale, l'ARN viral est rétrotranscrit en ADN double brin. Cet ADN pénètre dans le noyau, où il s'intègre au génome du lymphocyte. Il est ensuite transcrit en ARN.

Traduction : Après avoir été transcrits par l'ARN polymérase de la cellule, les ARN messagers viraux sont traduits en trois précurseurs protéiques. Ces précurseurs sont clivés par des protéases, pour donner les différentes protéines du virus.

Assemblage : Les protéines virales et l'ARN viral (transcrit par ailleurs) sont associés pour reformer des virus (sans la membrane). Les protéines virales membranaires sont intégrées à la membrane du lymphocyte.

Bourgeonnement : Le virus bourgeonne, emportant un fragment de la membrane plasmique du lymphocyte (qui contient uniquement les protéines membranaires virales).

Libération : Les nouveaux virus sont libérés dans le milieu intérieur. Ils peuvent infecter de nouveaux lymphocytes T CD4+ [7].

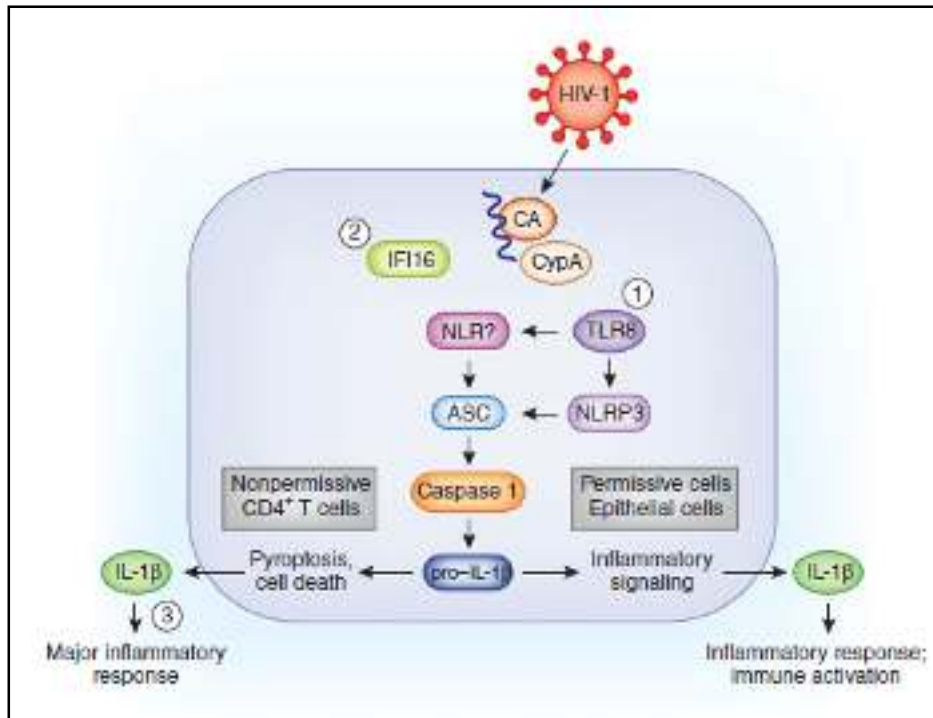


Figure 3 : Induction de la réponse inflammatoire par le VIH

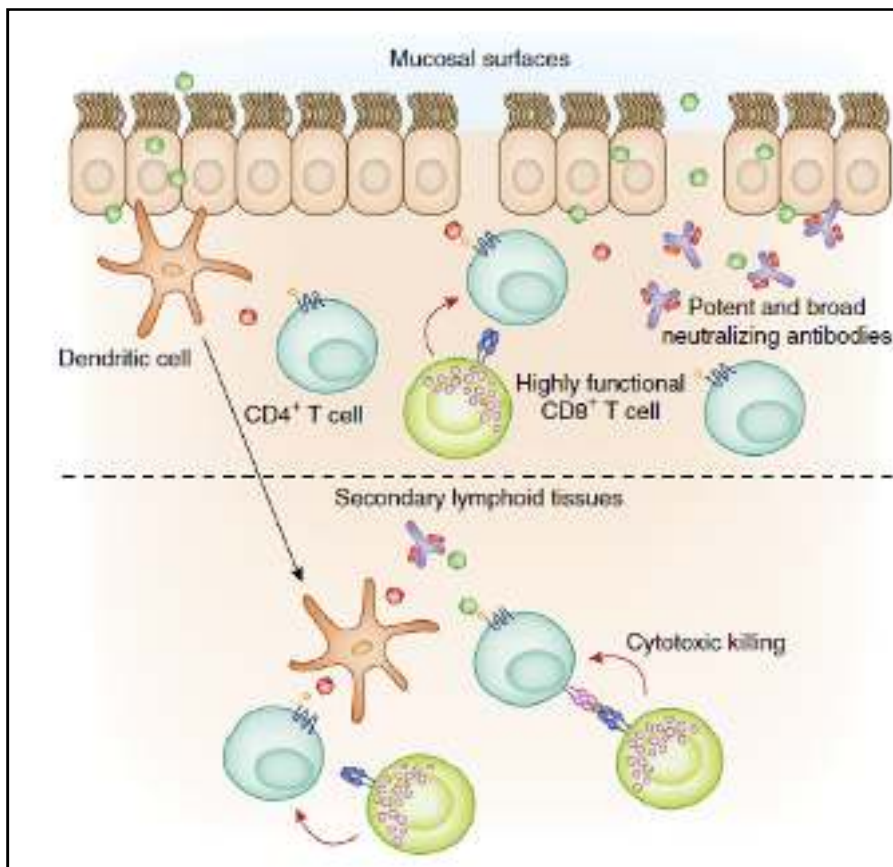


Figure 4 : Réponse cellulaire anti VIH

Matériel non biologique

Cytomètre en flux

Vortex

Micropipettes et embouts

Tubes spéciaux pour analyse par cryométrie en flux

Centrifugeuse

Solution de lyse des globules rouges (Composition : Tris 10 mM ; NaCl 10 mM ; MgCl₂ 25 mM / PH : 7.4)

Tampon PBS (Composition NaCl 8g ; KCl 0.2g ; Na₂HPO₄ 1.44g ; KH₂PO₄ 0.24g /PH : 7.4)

Annexe 3

Tableau I : Variation du taux des LTCD4+ chez les patients non traités

Patient	Taux des LTCD4+au premier prélèvement (nbr c/μl)	Taux des LTCD4+ au dernier prélèvement (nbr c/μl)	Intervalle de temps entre le premier et le dernier prélèvement (mois)
P1	364	325	4
P2	379	323	1
P3	490	442	2
P4	630	539	5
P5	632	327	3
P6	751	586	1
P7	869	792	4
P8	902	827	5
P9	1003	738	7
P10	1219	1092	7
P11	1503	1378	3

- [1] - <http://www.who.int/features/qa/71/fr/> (consulté en Décembre 2016).
- [2]- http://www.unaids.org/sites/default/files/media_asset/UNAIDS_FactSheet_fr.pdf (consulté en Décembre 2016).
- [3]- <http://www.unaids.org/fr/regionscountries/countries/algeria> (consulté en Décembre 2016).
- [4] PEETERS Martine, CHAIX Marie-Laure, DELAPORTE Eric Delaporte, « *Phylogénie des SIV et des VIH Mieux comprendre l'origine des VIH* », dans la revue Médecine/Sciences, vol. 24, n° 6-7, 2008, p (621-622- 625- 627).
- [5] NDAWINZ Jacques Deval Armstrong, *Estimation de l'Incidence de l'Infection par le VIH et autres Indicateurs de Surveillance de l'Épidémie du VIH: le cas de la France et du Cameroun*, L'université Pierre et Marie Curie, 2015, p (6-7).
- [6] GENETET Noëlle et RUFFAULT Annick, *Traité d'immunologie*, 4ed, Paris, Edition TEC&DOC, 2002, p (679 – 681 – 683-704).
- [7] BRUN-VEZINET Françoise et WAINBERG Mark, *Traité de virologie médicale*, Paris, Edition ESTEM, 2011, p (321, 324).
- [8] JANEWAY Charles et TRAVERS Paul, *Immunobiologie*, 3ed, Edition De Boeck Université, 2001 P (430, 431,435).
- [9] SAGNA Tani, *Caractérisation moléculaire du VIH et du papillomavirus humain chez les femmes en âge de procréer infectées et diagnostic précoce par PCR du VIH chez leurs enfants au centre médical Saint Camille et au CERBA – Ouagadougou*, Université de Ouagadougou, 2012, p (6- 9 - 10-13).
- [10] OWEN A. JUDITH, PUNT Jenny, STANFORD A.Sharon, *Immunologie le cours de Janis Kuby*, 7ed, New York, Edition W.H.Freeman and Company, 2013, p 609.
- [11] Charpentier C, Damond F, Brun-Vézinet F et Descamps D, « *Virus de l'immunodéficience humaine* », EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-050-B-15, 2011, p (2, 4).
- [12] AGAPIT Xavier, *Suivi immuno-virologique et thérapeutique de l'infection a VIH chez des enfants suivis au CHU pédiatrique de Ouagadougou*, U.F.R de Médecine et de Pharmacie De Rouen, 2012, p 8.
- [13] MARCHANDOT Anne-Laure, *Le virus de l'immunodéficience humaine et ses traitements : évaluation des connaissances des pharmaciens d'officine de lorraine*, Université Henri Poincare Nancy1, 2011, p18.
- [14] ABUAF Nisen, CARCELAIN Guislaine, KOHLI Evelyne et autres, « *Immunologie fondamentale et immunopathologie* », Paris, L'édition Elsevier Masson, 2013, p (4,153, 154,156).
- [15] LAHAYE Xavier et MANEL Nicolas, *Le VIH-2 révèle un mécanisme antiviral de détection par l'immunité innée*, dans la revue Médecine/Sciences, n° 6-7, vol. 30, 2014, p (610, 611, 612)
- [16] <http://curie.fr/actualites/immunite-innee-vih-cellules-dendritiques-004801> (consulter en Janvier 2017).

- [17] OUATTARA Djomangan Adama, *Modélisation de l'infection par le VIH, identification et aide au diagnostic*, Université de Nantes, 2006, p 11.
- [18] CHERET Antoine, *Etude de l'établissement des réservoirs VIH lors de la primo-infection et de l'impact des traitements antirétroviraux très précoces sur ces réservoirs*, Université Paris Descartes, 2014, p (22 ,23 ,30).
- [19] MALBEC Marine, MOUQUET Hugo et SCHWARTZ Olivier, *les anti-VIH1 et la transmission virale de cellule à cellule*, dans la revue Médecine/Sciences n° 5, vol. 30,2014, p (509).
- [20] LEGHMARI Kaoutar, *la protéine Tat du virus d'immunodéficience humaine (VIH) induit la production de l'IL-10 et du TNF-alpha dans le monocyte/macrophage humain : Etude des mécanismes d'activation de la voie NF-kappaB*, Université Toulouse III - Paul Sabatier, 2008, p (53,56).
- [21] SCHWARTZ Christian, LE DOUCE Valentin, CHERRIER Thomas et autres, *Un virus tapi dans l'ombre : les bases moléculaires de la latence du VIH-1*, dans la revue Médecine/Sciences, n° 2, vol. 26, 2010, p (160,161).
- [22] BACH Jean François et CHATENOUUD Lucienne, *Immunologie*, 4ed, Paris, Edition Médecine-Science Flammarion, 2002, p (331, 332,336).
- [23] OMS, *Histoire naturelle et aspects cliniques:Connaissances de base sur le VIH et réduction de la stigmatisation en milieu de soins*, Caire, Edition, WHO-EM/STD/170/E, 2015, p (7,8).
- [24] ROITT Ivan, BROSTOFF Jonathan et MALE David, *Immunology*, 3ed, Londres, Edition De Boeck, 2000, p (222,224).
- [25] ESTAQUIER Jérôme et HURTREL Bruno, *Sanctuaire du virus de l'immunodéficience humaine et mécanismes d'échappement*, dans la revue Médecine/Sciences, n° 12, vol. 24,2008, p (10,55).
- [26] ESPERT Lucile, DENIZOT Mélanie et autres, *Autophagie et destruction des lymphocytes T CD4 par le VIH-1*, dans la revue Médecine/Sciences n° 8-9, vol. 22, 2006, p 678.
- [27] DEIAMARE Catherine, FAFI-KREMER Samira et autres, *Précis de virologie humaine*, Pays-Bas, Edition Doin , 2012 p 363.
- [28] BRYANT Donald, *Phycoerythrocyanin and Phycoerythrin: Properties and Occurrence in Cyanobacteria* , dans le journal General Microbiology,1982 p 837.
- [29] <http://biotech.spip.ac-rouen.fr/spip.php?article145> (consulté en février 2017)
- [30] BLANC C, CARCELAIN G et autres, *Intérêt de la numération absolue par cryométrie en flux et du quadruple marquage des sous-populations lymphocytaires lors de l'infection par le VIH*, dans la Revue française des laboratoires, n ° 287, 1996 , p 59.
- [31] MOHAMMAD Salma *Etude et caractérisation de l'état " Viable mais Non Cultivable " chez Saccharomyces cerevisiae*, Université de Bourgogne, 2013, p 65 .

[32] ARRAUD Nicolas, *Etude cinétique de la liaison élémentaire entre Annexine-A5 et membranes et mise au point d'un test de quantification des microparticules plasmatiques pro-coagulantes par cytométrie en flux*, Université Bordeaux 1, 2011, p 29.

[33] CARMAUX Sandra, *Caracterisation de la mort des cellules animales cultivees en bioreacteur*, Université Henri Poincare – Nancy, 2008.

[34] KERBAL H et OUZRIAT B, *L'épidémiologie du VIH/SIDA en Algérie*, Association de formation et d'information médicale-promotion de la santé de la wilaya de Boumerdes, 2012, p3.

[35] AJAYI O, AJAYI A et FSAKIN K. A , *CD4 T-Lymphocytes cell counts in adults with human immunodeficiency virus infection at the medical department of a tertiary health institution in Nigeria* , dans l'annale Annals of African Medicine vol 8, n°4 ,2009,p 259.

[36] <http://www.aidsmap.com/files/file1004045>

[37] aidsinfonet.org

[38]DIAGBOUGA S., CHAZALLON C et autres, *Successful implementation of a low-cost method for enumerating CD4+ T lymphocytes in resource-limited settings*, AIDS, 2003.

[39] MWABA P, CASSOL S et autres, *Use of Dried whole blood spots to measure CD4+ lymphocyte counts in HIV-1 infected patients*, The Lancet, 2003.

[40] NDAWINZ Jacques Deval, *Estimation de l'Incidence de l'Infection par le VIH et autres Indicateurs de Surveillance de l'Épidémie du VIH : le cas de la France et du Cameroun*, Université Pierre Et Marie Curie ,2015.

[41] MORONTA Reyna, PORTO Leticia et autres *Viral loads in pediatric HIV patients with antiretroviral treatment*, Dans le journal VITAE de l'université central de Venezuela, n°26, 2006.

[42] TOBON PEREIRA Juan Carlos et TORO MONTOYA Ana Isabel, *Etude du patient infecté par le VIH*, dans la revue Medicina & Laboratorio, vol 14, n° 1-2, 2008, p 35.

[43] JARRIN Inma , PANTAZIS Nikos et autres, *Does rapid HIV disease progression prior to combination antiretroviral therapy hinder optimal CD4+T-cell recovery once HIV-1 suppression is achieved?*, AIDS, Vol 29 , n°17,2009 p (23,25) .

[44] MIURA T, BROCKMAN M A et autres , *HLA-B57/B*5801 human immunodeficiency virus type 1 elite controllers select for rare gag variants associated with reduced viral replication capacity and strong cytotoxic T-lymphocyte [corrected] recognition*, Nature , 2009.

[45] OMS, *Transmission du vih par voie sexuelle chez les seniors : un domaine inexploré*, Bulletin oms, Vol 87,2009.

[46] MBOPI-KEOU François-Xavier, DEMPOUO DJOMASSI Lucienne et MONEBENIMP Francisca , *Aspects descriptifs du VIH/SIDA chez les sujets âgés et plus suivis au Centre de Traitement Agréé de Bafoussam – Cameroun*, NCBI, 2011.

Bibliographie et Webographie

[47] KUMAR Amit , ABBAS Wassim et autres ,*TNF and TNF Receptor Superfamily Members in HIV infection: New Cellular Targets for Therapy?*, Mediators of Inflammation, ID 484378, 2013 , p 13.

[48]<https://www.inserm.fr/actualites/rubriques/actualites-recherche/les-super-lymphocytes-des-vih-controlleurs> (consulté en Avril 2017)

[49]KARAKODJO, *suivi des paramètres biologiques des Pvvih sous traitement ARV à L'EPH de GAO*, Université de Bamako, 2011.

[50] STERNE Jonathan,*Timing of initiation of antiretroviral therapy in AIDS-free HIV-1-infected patients: a collaborative analysis of 18 HIV cohort studies*,The Lancet, vol 373, n° 9672, 2009, p 1352.

[51] INSIGHT START, *Initiation of Antiretroviral Therapy in Early Asymptomatic HIV Infection*, dans la revue Relevé des Maladies Transmissibles au Canada Volume 41, 2015, p 12.

[52]YENI P, MASSIP P,LACOSTE D, *Suivi de l'adulte infecté par le VIH*, CHU de Toulouse,2007,p 68