UNIVERSITÉ DU BURUNDI
GRENIER DU SAVOIR DU BURUNDI
Dépôt institutionnel officiel
https://repository.ub.edu.bi

Caractérisation des mutations de résistance du VIH-1 chez les personnes vivant avec le VIH/SIDA sous traitement anti rétroviral au Burundi

Nsengiyumva, Obed

2019-07
UB, Faculté de Médecine
https://repository.ub.edu.bi/handle/123456789/122

Document téléchargé depuis le **Grenier du Savoir du Burundi** — https://repository.ub.edu.bi

UNIVERSITE DU BURUNDI



FACULTE DE MEDECINE

CARACTERISATION DES MUTATIONS DE RESISTANCE DU VIH-1 CHEZ LES PERSONNES VIVANT AVEC LE VIH/SIDA SOUS TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL AU BURUNDI

Par
Obed NSENGIYUMVA

Directeur de Thèse :
Pr Joseph NYANDWI

Thèse présentée et soutenue publiquement en vue de l'obtention du grade de **Docteur en Médecine**

Bujumbura, Juillet 2019

LISTE DES ENSEIGNANTS A LA FACULTE DE MEDECINE

I. Bureau décanal

Doyen	: Pr Jean Baptiste NGOMIRAKIZA
1er Vice–Doyen	: Pr Sébastien MANIRAKIZA
2ème Vice–Doyen	: Pr Patrice BARASUKANA

II. Professeurs émérites

Pr Evariste NDABANEZE

Pr Gabriel NDAYISABA

Pr Richard KARAYUBA

III. Professeurs ordinaires

Pr Théodore NIYONGABO	: Pathologies infectieuses et parasitaires
Pr Léopold NZISABIRA	: Neurologie
Pr Gaspard KAMAMFU	: Pneumologie
Pr Aloys NIYONGABO	: Biochimie Structurale et Métabolique
Pr Frédéric NSABIYUMVA	: Pharmacologie Spéciale, Endocrinologie
Pr Rénovât NTAGIRABIRI	: Gastro-entérologie, Hépatologie
Pr Jean Baptiste NGOMIRAKIZA	: Hépatologie, Nutrition, Physiologie digestive, Sémiologie digestive
Pr Elysée BARANSAKA	: Cardiologie

IV. Professeurs associés

Pr Serges BAHIMANGA	: Pédiatrie
Pr Déogratias NIYUNGEKO	: Pédiatrie
Pr Gordien NGENDAKURIYO	: Oto-rhino-laryngologie
Pr Salvator HARERIMANA	: Obstétrique
Pr Joseph NYANDWI	: Physiologie rénale, Néphrologie

Pr Jean Claude NIYONDIKO : Anatomie

Pr Sébastien MANIRAKIZA : Imagerie médicale, Biophysique

Pr Patrice BARASUKANA : Neuro-anatomie, Neurophysiologie, Sémiologie neurologique

Pr Eugene NDIRAHISHA : Endocrinologie, Physiologie cardiaque et Sémiologie Cardiaques

Pr Helene BUKURU : Pédiatrie

Pr Claudette NDAYIKUNDA : Hématologie fondamentale, Hématologie clinique et Biochimie pathologique

VII. VIII. Pr Francois NDIKUMWENAYO : Physiologie, Education à la Citoyenneté

Pr Sylvestre BAZIKAMWE : Gynécologie-Obstétrique, Soins maternels et infantiles

V. Chargés de cours

Pr Louis NGENDAHAYO : Anatomie Pathologie

Dr Lévi KANDEKE : Ophtalmologie

Dr Emmanuel GIKORO : Imagerie Médicale

Dr Déogratias NTUKAMAZINA : Obstétrique

Dr Leonard BIVAHAGUMYE : Anatomie Tête et Cou, Sémiologie Chirurgicale

Dr Désiré NISUBIRE : Biologie Moléculaire, Cytologie et Génétique

Dr Hermann NIMPAYE : Parasitologie, Entomologie médicale et Mycologie

Dr Gilbert NDAYIZEYE : Anatomie

Dr Alexis SINZAKARAYE : Rhumatologie et Médecine physique et de réadaptation, Sémiologie de

l'appareil locomoteur

Dr Stanislas HARAKANDI : Anesthésie-Réanimation, Douleur et Soins Palliatifs

Dr Martin MANIRAKIZA : Pathologies infectieuses et parasitaires, Endocrinologie

Dr AMANI Moïbéni : Sémiologie médicale et Physiologie

Dr Alice NDAYISHIMIYE : Pédiatrie

Dr Chantal MUREKATETE : Radiologie

Dr Paul BANDEREMBAKO : Urologie

Dr Jean Claude MBONICURA : Pathologie Chirurgicale

Dr Thierry SIBOMANA : Pneumologie

Dr Thoto Shabani MAREBO : Urologie

Dr Jean Bosco BIZIMANA : Neurophysiologie et Neuro-anatomie

VI. Chargés d'enseignement

Dr Jacques NDIKUBAGENZI : Hygiène et Epidémiologie

Dr Sandra NKURUNZIZA : Initiation à la Santé publique

Dr Zacharie NDIZEYE : Méthodologie de la Recherche, Epidémiologie et Déontologie

VII. Maître assistant

Mme NDAYIKENGURUKIYE Claire : Immunologie, Bactériologie et Virologie

PhD Ramadhani NYANDWI : Pharmacologie

Dr Jean Claude NKURUNZIZA : Administration des Services de Santé et Gestion hospitalière

VIII. Assistants

Dr Clovis Paulin BARAMURIYE : Anatomie et Neuro-anatomie

Dr Evrard NIYOMWUNGERE : Anatomie Pathologie

IX. Enseignants à temps partiel

Dr Pontien NDABASHINZE : Pédiatrie

Dr Sylvain NIYONKURU : Sémiologie Chirurgicale I

Dr Canisius HAVYARIMANA : Sémiologie Chirurgicale II

Dr Elie MUPERA : Dermatologie et Vénérologie

Dr Gaspard MARERWA : Anatomie Pathologie

Dr Juvénal MUYUKU : Stomatologie

Dr Paul BIZIMANA : Démographie

Dr Jean Bosco KAYOYA : Bio statistique

Dr Sylvère SAKUBU : Psychiatrie

Dr Léopold HAVYARIMANA : Chimie générale et Chimie organique

Dr Thaddée BARANCIRA : Physique

Mr Bonaventure NIYOYANDOYE : Psychologie générale

Mme Patricie BARAHINDUKA : Soins Infirmiers

Mr Eric NIYIKIZA : Mathématiques

Mr Ferdinand NCABWENGE : Anglais médical

Mr François NKENGURUTSE : Pharmacologie générale

Mr Pierre Claver BIZIMANA : Informatique

Dr Emmanuel KAMO : Médecine du Travail

Dr Didier KAMATARI : Anatomie

Dédicaces

A mes chers parents : Votre soutien a raffermi mes pas vers cette réalisation.
Que Le Seigneur vous préserve, vous protège de tout mal, vous accorde santé, quiétude de l'esprit et qu'il vous bénisse richement.

A mes frères et sœurs de lutte : Sans vous je n'aurai probablement pas pu tenir jusqu'à cette fin. Que nous ne perdions de vue notre lutte contre l'ignorance et la médiocrité dans toutes ses formes.

A mes frères et sœurs de sang : le lien de sang est sacré; merci pour vos encouragements et votre soutien indéfectible. Ce travail est le nôtre.

A mes oncles et tantes ;

A mes cousins et cousines ;

A mon neveu ;

A mes amis et amies ;

A tous mes camarades de promotions de la faculté de médecine, particulièrement à la 33ème promotion de la faculté de Médecine ainsi qu'à mes collègues de classe au secondaire notamment au Lycée de l'Espérance de Muyovozi et au Lycée Notre–Dame de Rohero pour les moments de plaisir et de peines partagés ;

Je dédie cette thèse.

Hommages aux membres du jury

Directeur de thèse : Pr Joseph NYANDWI

Vous m’avez fait un grand honneur en acceptant de diriger ce travail malgré vos multiples occupations. Vous êtes et vous demeurez une référence par vos immenses qualités scientifiques et pédagogiques. Votre rigueur pour le travail bien fait, fait de vous un maître respecté. Soyez assurés de ma sincère gratitude.

Président du jury : Dr Martin MANIRAKIZA

Vous me faites un grand honneur en acceptant de présider le jury de cette thèse. Veuillez recevoir l’expression de ma plus respectueuse considération.

Membre du jury : Dr Désiré NISUBIRE

C’est pour moi une grande fierté de vous avoir comme membre du jury de cette thèse. Vos critiques et vos suggestions ne feront qu’améliorer la qualité de ce travail.

Remerciements

Je dis sincèrement merci :

A tous mes enseignants et encadreurs de l’école primaire jusqu'à l’université.

Il vous revient le mérite de nous avoir prodigué un enseignement profitable et une formation notable et ceci parfois dans des conditions hors du commun. Veuillez accepter mes remerciements les plus sincères. Que Dieu vous bénisse.

A tout le personnel des centres de prise en charge des PVVIH et particulièrement le centre de prise en charge ambulatoire et multidisciplinaire des PVVIH du CHUK pour la sympathie et la bonne collaboration au cours de ce travail de fin d’étude. Votre engagement professionnel vous honore !

A tous ceux que je n’ai pas pu citer ici et qui, de près ou de loin, m’ont aidé au cours de mes études et au cours de l’élaboration de ce travail ; par vos actes, vos visages restent gravés de manière indélébile dans mon cœur.

LISTE DES SIGLES ET ABBREVIATIONS

3TC	2’,3’-didesoxy-3’-thiacytidine ou Lamivudine
ABC	Abacavir

ADN	Acide Désoxyribonucléique
ANRS	Agence Nationale de la Recherche sur le SIDA
ANSS	Association Nationale de Soutien aux Séropositifs
ARN	Acide Ribonucléique
ARV	Antirétroviral
ATP	Adénosine – 5’ Tri-Phosphate
ATV	Atazanavir
AZT	3’-azido-2’,3’-didesoxythymidine ou Azidothymidine ou encore Zidovudine
BDT	Big Dye Terminator
CCR5	C-C (Motif) Chemokine Receptor type 5 (CD195) ou récepteurs chimiokines de surface C-C type 5
CHUK	Centre Hospitalier Universitaire de Kamenge
CNRSMPP	Centre National de Référence de Suivi Médical et Psychosocial des PVVIH/Sida
CPAMP	Centre de Prise en Charge Ambulatoire et Multidisciplinaire des PVVIH/Sida
CPI	Complexe de Pré-Intégration
CNR	Centre National de Référence
CRF	Circulating Recombinant Form
CV	Charge Virale
CXCR4	C-X-C (Motif) Chemokine Receptor type 4 (CD184) récepteurs chimiokines de surface C-X-C type 4
CYP3A	Cytochrome P450 de la famille 3, sous-famille A et polypeptide 4
d4T	2’-3’-didéhydro-2’-3’-didéoxythymidine ou Stavudine
DBS	Dried Blood Spots
Ddi	Didanosine
dNTPs	2'-Désoxyribonucléotide 5'-Triphosphate ou déoxynucléosides triphosphates

DRV	Darunavir
DTG	Dolutégravir
EDTA	Ethylene Diamine Tetra Acetic Acide
EI	Echec Immunologique
Eff	Effectif
EFV	Efavirenz
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
ET	Echec Thérapeutique
ETV	Etravirine
EV	Echec Virologique
FTC	2’,3’-didesoxy-3’-5-fluoro-3’-thiacytidine ou Fluorothiacytidine ou Emtricitabine
FOSAPV	Fosamprénavir
GALT	Gut Associated Lymphoid Tissue
GIP-ESTHER	Groupe d’Intérêt Publique-Ensemble pour une Solidarité Thérapeutique et Hospitalière en Réseau
gp41	glycoprotéine 41
HAART	Highly Active Antiretroviral Therapy
HIV	Human Immunodeficiency Virus
HIVdb	Human Immnunodeficiency Virus database
HPRC	Hôpital Prince Régent-Charles
HTLV	Human-T Cell Leukemia Virus
IDV	Indinavir
IN	Intégrase
INTI	Inhibiteur Nucléos(t)idique de la Transcriptase Inverse
INNTI	Inhibiteur Non Nucléosidique de la Transcriptase Inverse
IP	Inhibiteur de la Protéase
Kpol	taux d’incorporation maximale de nucléotides

LPV	Lopinavir
LT CD4	lymphocyte T porteur de récepteur CD4 (cluster de différenciation de type 4)
LTR	Long Terminal Repeat
MR	Mutation de Résistance
NFV	Nelfinavir
NVP	Névirapine
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
pb	paires de bases
PCR	Polymerase Chain Reaction
PPi	Pyro-Phosphate inorganique
PR	Protéase
PS	Pression de Sélection
PVVIH	Personne Vivant avec le VIH/Sida
RAL	Raltégravir
RNase	Ribonucléase
RPV	Rilipivirine
RT	Reverse-Transcriptase
SIDA	Syndrome d'Immunodéficience Acquise
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
SQV	Saquinavir
SWAA	Society for Women and Aids in Africa
TAHA	Traitement Antirétroviral Hautement Actif
TAM	Thymidine Analogue Mutation
TARV	Traitement Antirétroviral
TDF	Tenefovir Disoproxil Fumarate ou Ténofovir
TI	Transcriptase Inverse
TPR	Tipranavir

URF	Unique Recombinant Form
VIH-1	Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 1
ZDV	Zidovudine
<	Inférieur à
>	Supérieur à

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Structure du virion VIH–1

Figure 2. Structure génomique de l'ADN proviral du VIH–1

Figure 3. Cycle de réplication virale

Figure 4. Evolution de la charge virale (CV) ARN du VIH et du nombre de CD4

pendant l’infection à VIH et après la mise sous TARV

Figure 5. Diagramme de l’étude

LISTE DES GRAPHIQUES

Graphique 1. Distribution des sous-types du VIH–1 au Burundi retrouvés sur les échantillons de 1991, 2002 et 2007.

Graphique 2. Répartition des patients selon le sexe

Graphique 3. Répartition des patients selon le nombre de la charge virale au diagnostic de l’échec thérapeutique

Graphique 4. Distribution des patients selon le sous-type viral

Graphique 5. Fréquence des Mutations de résistance associées aux INTIs

Graphique 6. Fréquence des mutations de résistance associées aux INNTIs

Graphique 7. Fréquence des Mutations de résistance associées aux IPs.

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Recommandations de TARV pour la 1ère, 2ème et 3ème ligne

Tableau 2. Schémas de TARV de première ligne chez l'enfant selon l'âge

Tableau 3. Répartition des patients selon les sites de suivi

Tableau 4. Répartition des patients en fonction de l'âge

Tableau 5. Répartition des patients selon les stades cliniques de l'OMS à l'échec du TARV comme à l'initiation du TARV

Tableau 6. Répartition des patients selon le taux de CD4 au début et à l'échec du TARV

Tableau 7. Répartition des patients selon l'observance au TARV par rapport au sexe

Tableau 8. Traitements antirétroviraux au moment du test de résistance

Tableau 9. Répartition de l'échec thérapeutique

Tableau 10. Mutations de résistance associées aux ITIs selon la durée du TARV

Tableau 11. Analyse uni variée des facteurs de risque d'accumulation des mutations de résistance aux ITIs.

Tableau 12. Mutations de résistance associées aux IPs selon la durée du TARV

Tableau 13. Mutations de résistance associées aux IPs selon l'observance au TARV

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTE DE MEDECINE …….. i

DEDICACES..……..…….……..……..……… iv

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY……...……. v

REMERCIEMENTS ……...…...…. vi

LISTE DES SIGLES ET ABBREVIATIONS…… vii

LISTE DES FIGURES…….. xi

LISTE DES GRAPHIQUES…… xii

LISTE DES TABLEAUX……..... xiii

TABLE DES MATIERES…….....……..…… 14

CHAPITRE 0. INTRODUCTION…… 1

CHAPITRE I. GENERALITES……..... 4

I.1 DEFINITIONS DES MUTATIONS DE RESISTANCE……..……..….. 4

I.1.1 Qu'est-ce qu'une souche résistance…..…...…….……..……..….. 4

I.2.2 Mécanismes généraux de l'émergence de la résistance ……..……..... 5

I.1.3 Concept de quasi-espèce et rôle dans la résistance…..……..... 5

I.1.4 Qu'est-ce qu'une résistance croisée…….…….…..... 6

I.1.5 Autres définitions……..……..…..... 6

I.2 GENERALITES SUR L'INFECTION PAR LE VIH..... 7

I.2.1 Agent causal……...…....…… 7

I.2.2 Structure de la particule virale……...…..…….... 7

I.2.3 Organisation genomique du VIH ……..…….. 8

I.2.4 Origine de la diversité génétique et recombinaisons du VIH…….……..... 9

I.2.5 Sous-types et recombiants circulants du VIH–1……...…..…..... 9

I.2.5.1 Classification……...…..…….... 9

I.2.5.2 Epidémiologie moléculaire…….……. 10

I.2.6 Cycle de réplication virale du VIH……...…..……..... 11

I.2.6.1 Phase précoce……..…….…….. 11

I.2.6.2 Phase tardive……..…….……...…..... 12

I.2.7 Histoire naturelle de l'infection a VIH/SIDA…….....13

I.2.7.1 Mode de transmission.....……..…….……..… 13

I.2.7.2 Phase de primo-infection……...……..… 13

I.2.7.3 Phase de latence clinique ou asymptomatique.…….……..... 14

I.2.7.4 Phase symptomatique aboutissant au SIDA……...15

I.3 TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL…...…….…… 15

I.3.1 Principe et objectifs……...…….……. 15

I.3.2 Classes et modes d'action des antirétroviraux utilisés contre le VIH–1..... 16

I.3.2.1 Inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques de la transcriptase inverse... 16

I.3.2.2 Inhibiteurs non-nucléosidiques de la transcriptase inverse……..……... 16
I.3.2.3 Inhibiteurs de la protéase……..... 16
I.3.2.4 Autres antrétroviraux……..... 17
I.3.3 Recommandations de mise sous traitement au Burundi…….…... 17
I.3.3.1 Schémas de traitement antrétroviral chez l'adulte et l'adolescent 17
a. Schéma de première ligne……..….. 17
b. Schéma de deuxième ligne……..... 17
c. Schéma de troisième ligne……..…..... 18
I.3.3.2 Schémas de traitement antrétroviral chez les nourrissons et l'enfant …... 18
I.4 MUTATIONS DE RESISTANCE DU VIH–1 AUX ANTIRETROVIRAUX ……..…19
I.4.1 Origine des mutations de résistance aux antrétroviraux……..….. 19
I.4.2 Mécanismes de résistance et mutations associées…….……..... 19
I.4.2.1 Résistance aux inhibiteurs nucléos(t)idiques et nucléotidiques de la transcriptase inverse……..…19
a. Mutations discriminantes des Inhibiteurs nucléos(t)idiques de la transcriptase inverse……..... 19
b. Mutations de déblocage de l'élongation ou mutations des analogues de la thymidine (TAMs) ……... 21
I.4.2.2 Résistance aux inhibiteurs non-nucléosidiques de la transcriptase inverse….. 22
I.4.2.3 Résistance aux Inhibiteurs de la Protéase……. 22
I.4.3 Tests de Résistance…….. 23
I.4.3.1 Préparation et stockage des Dried blood spots……..... 23
I.4.3.2 Application du test de résistance sur les Dried Blood Spots……..…….. 23
I.4.4 Analyse et interprétation de la résistance…… 23
I.4.4.1 Analyse de la résistance…… 23
I.4.4.2 Interprétation des mutations de résistance 24

CHAPITRE II. MALADES ET METHODES…… 26
II.1 MALADES ……. 26
II.1.1 Population d'étude …… 26
II.1.2 Critères d'inclusion……..26
II.1.3 Critères d'exclusion…… 26
II.2 METHODES..…….....…. 26
II.2.1 Type et période d'étude…… …..…….…….…. 26
II.2.2 Examens de laboratoire…….…..…….....…….....…….....…..... 26
II.2.2.1 Prélèvement de sang ……..…….……..... 26

II.2.2.2 Transport des Dried Blood Spots……. 27
II.2.2.3 Genotypage ……..…….……..…….……..…… 27
II.2.3 Variables étudiées…….……..... 28
II.2.4 Echantillonnage…...…….…..……...… 28
II.2.5 Sources des données……..…… 28
II.2.6 Collecte des données…..……...…..……..... 29
II.2.7 Analyse des données...……...…..……..... 29
II.2.8 Considérations éthiques……...…...……...…….…….. 29
II.2.9 Difficultés rencontrées et limites de l'étude……...…….…….... 29
CHAPITRE III. RESULTATS……. 30
III.1 Echantillon……... 30
III.2 Sites de suivi des patients…….……..... 30
III.3 Caractéristiques socio-démographiques des patients…….……. 31
III.3.1 Age …….. …….……..……...……..... 31
III.3.2 Sexe……..…… 31
III.4 Caractéristiques clinico-biologiques des patients..... 32
III.4.1 Classification clinique selon le stade OMS…….……..…….....….... 32
III.4.2 Taux de CD4…….....……..…. 32
III.4.3 Charge virale après au moins 12 mois de Traitement antirétroviral 33
III.5 Observance thérapeutique…….…….. 34
III.6 Traitements antirétroviraux.……..…….…… 35
III.6.1 Traitements antirétroviraux avant l'échec thérapeutique……..……..... 35
III.6.2 Traitements antirétroviraux après le diagnostic de l'échec thérapeutique…..... 35
III.7 Durée de traitement et mise en évidence de l’échec thérapeutique…....…..... 36
III.8 Sous-type viral…….…... 37
III.9 Mutations de résistance du VIH–1……..…….…..... 37
III.9.1 Prévalence des mutations de résistance …….……..…..……... 37
III.9.2 Nombre de mutations de résistance …….…....… 38
III.9.3 Fréquences des mutations de résistance associées aux inhibiteurs de la transcriptase inverse …….……...……..…….…..... 38
III.9.3.1 Fréquence des mutations de résistance associées aux Inhibiteurs nucléos(t)idiques de la transcriptase inverse .....…….....….. 38
III.9.3.2 Fréquence des mutations de résistance associées aux Inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse…….…....…… 39
III.9.3.3 Fréquences des mutations de résistance associées aux inhibiteurs de la protéase……..... 40
III.10 Accumulation des mutations de résistance……...…….…....….... 41

III.10.1 Mutations associées à la résistance liée aux inhibiteurs de la transcriptase inverse…….……...……..…… 41
III.10.2 Mutations associées à la résistance liée aux inhibiteurs de la protéase ……..……..……..… 43
CHAPITRE IV. DISCUSSION ET COMMENTAIRES …….. 45
IV.1 Caractéristiques socio-démographiques des patients……... 45
IV.2 Caractéristiques clinico-biologiques…… 46
IV.3 Observance thérapeutique…… 48
IV.4 Traitements antirétroviraux…….. 49
IV.5 Echec thérapeutique et durée de traitement antirétroviral……... 49
IV.6 Sous-type viral …… 50
IV.7 Mutations de résistance du VIH–1 …….. 50
CHAPITRE V. CONCLUSION ET SUGGESTIONS……... 54
V.1 Conclusion……. 54
V.2 Recommandations……. 55
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES…….…….. 56
ANNEXES…… 67
ANNEXE 1 …… 68
ANNEXE 2…… 70
ANNEXE 3…… 74

0. INTRODUCTION

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un rétrovirus qui s'attaque aux cellules du système immunitaire et les détruit.
Aux premiers stades de l'infection par ce virus, le sujet ne présente pas de symptômes.
Cependant, l'évolution de l'infection entraîne un affaiblissement du système immunitaire et une vulnérabilité accrue à d'autres infections.
Quant au syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), c'est le dernier stade de l'infection à VIH. C'est une phase grave et tardive de l'infection et qui est caractérisée par la survenue des infections opportunistes ou de cancers [1].

Ce virus a été isolé pour la première fois en 1983 par l'équipe du Professeur Montagnier à l'Institut Pasteur à Paris (Prix Nobel de médecine en 2008 avec Professeur Françoise Barré-Sinoussi) et à partir de 1984, il a été démontré qu'il est l'agent causal de la maladie du SIDA.
La première molécule antirétrovirale active (la Zidovudine ou Retrovir ®) est utilisée à partir de 1986 et depuis l'utilisation des trithérapies avec l'avènement des inhibiteurs de la protéase en 1996, l'arsenal thérapeutique ne cesse de se développer. Aujourd'hui, le traitement antirétroviral hautement actif (TAHA) qui permet d'atteindre une suppression de la charge virale durable a changé le pronostic de cette maladie. Désormais, leur extension au niveau mondial inverse l'évolution de la pandémie avec une baisse de nouvelles infections et permet de sauver des millions de vies surtout dans les pays à revenu faible ou intermédiaire [2, 3].

Le premier cas de SIDA a été notifié au Burundi en 1983 soit dans la même décennie qu'ailleurs dans le monde. Les ARV qui ont été introduits en 1997 avec un accès limité surtout à Bujumbura la capitale ont vu par après leur accessibilité croître de manière remarquable.
La file active des PVVIH sous ARV est passée de 600 en 2002 à 36 888 en 2014.
En 2016, des nouvelles directives nationales sur l'utilisation des ARV précisent que leur utilisation précoce apporte des avantages significatifs en termes de prévention de nouvelles infections à VIH en plus d'améliorer la santé et de prolonger la vie des patients. Cependant, l'émergence de la résistance peut compromettre l'action des ARV mettant ainsi en danger l'efficacité du traitement antirétroviral de réduire ultérieurement l'incidence du VIH, la morbidité et la mortalité qui y sont associées.

A ce jour, les niveaux de la résistance du VIH au traitement dans les pays ayant différentes gammes des ARV restent maîtrisables. Toutefois, ils sont en hausse progressive [4, 5,6].

1. Contexte de l'étude

Des données récemment recueillies au centre de prise en charge ambulatoire et multidisciplinaire des personnes vivant avec le VIH/SIDA (CPAMP) du centre hospitalier universitaire de Kamenge (CHUK) et analysées statistiquement ont montré que sur un nombre total de 3550 patients sous ARV de janvier 2013 à décembre 2016; 194 patients soit 5,46 % ont bénéficié d'un changement thérapeutique parmi lesquels 150 patients suite à un échec thérapeutique.
La majorité de ces patients soit 74 % n'ayant pas connu une interruption de traitement allant au-delà de 3 mois, il a été supposé que la cause de cet échec serait liée à une résistance acquise du VIH aux ARV.

La résistance du VIH à un ou plusieurs ARV, un phénomène par lequel un virus « échappe » à l'action de certains médicaments alors que ceux-ci devraient limiter sa multiplication, conduit à la sélection de souches du VIH « mutants résistants ».
Pour mesurer et déterminer la résistance du VIH aux traitements ARV, il existe des tests qui mettent en évidence les mutations apparues sur les gènes viraux codant pour les enzymes (transcriptase inverse, protéase, intégrase) cibles des ARV.

Dans les pays développés, ces tests sont indispensables pour le choix d'un traitement efficace et adapté à chaque patient. Ils préviennent des changements thérapeutiques inutiles chez les patients pour lesquels l'échec thérapeutique est déjà avéré.
Le contexte des pays à ressources limitées comme le Burundi ne permet pas d'avoir localement accès à ces tests.
Ainsi, nous nous sommes orientés vers les cas de tests de mutations réalisés en France grâce au projet du Groupe d'Intérêt Publique-Ensemble pour une Solidarité Thérapeutique et Hospitalière en Réseau (GIP–ESTHER) sur des échantillons prélevés dans différents centres de suivi et de prise en charge des PVVIH/SIDA principalement basés à Bujumbura suite à un échec thérapeutique afin de préciser le phénomène de l'émergence de mutants résistants chez les malades sous traitement antirétroviral dont l'éventail continue de s'élargir avec l'introduction de nouvelles combinaisons thérapeutiques [7].

Des études sur les mutations de résistance du VIH aux ARV sont faites de manière continue dans les pays du Nord et dans une moindre mesure en Afrique subsaharienne. Au Burundi, très peu de travaux ont déjà été réalisés sur le sujet et

ainsi, il nous a paru nécessaire de réaliser une étude sur la caractérisation des mutations de résistance de l'infection à VIH chez les PVVIH/SIDA sous traitement antirétroviral.

2. Enoncé du problème

Nous constatons une persistance des cas de non amélioration clinico-biologique de PVVIH/SIDA sous ARV bien que le taux de couverture des ARV ne cesse de croître. Par ailleurs, la notion de mutations de résistance du VIH aux ARV n'est pas bien documentée au Burundi [8].
Dans cette étude, nous nous proposons de répondre aux questions suivantes :

- Quelles sont les caractéristiques des patients qui ont ces mutations?
- Quels sont les types et les sous-types des souches virales fréquentes en cas de résistance aux ARV?
- Quelle sont les mutations de résistance fréquentes et dans quelle mesure sont-elles influencées?

3. Justification de l'étude

La connaissance des mutations de résistance du VIH est nécessaire afin de savoir mieux décider de la prise en charge thérapeutique alternative chez les PVVIH sous ARV en cas d'échec thérapeutique.
Il est aussi important de préciser la résistance transmise du VIH chez les patients naïfs aux ARV. Cependant, chez ces derniers, les tests génotypiques de résistance doivent être effectués avant l'initiation de tout traitement antirétroviral.

4. Objectifs de l'étude

4.1. Objectif général

L'objectif principal de cette étude est de montrer les caractéristiques des principaux types de mutations chez les PVVIH présentant une résistance aux traitements ARV de première et/ou de deuxième ligne au Burundi.

4.2. Objectifs spécifiques

Les objectifs spécifiques sont de :

- Décrire les caractéristiques des PVVIH ayant des mutants résistants
- Identifier les types et sous-types des souches virales mutantes
- Déterminer les mutations de résistance liées aux inhibiteurs de la

transcriptase inverse
- Déterminer les mutations de résistance liées aux antis protéases.

CHAPITRE I. GENERALITES

I.1 DEFINITIONS DES MUTATIONS DE RESISTANCE

La résistance aux antirétroviraux (ARV) a été rapportée pour la première fois en 1989 chez des patients atteints du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH–1) traités par la zidovudine en monothérapie [9].
Depuis cette date, les thérapeutiques antirétrovirales actives contre le VIH–1 se sont diversifiées et la résistance aux antirétroviraux a été reconnue comme l'une des causes majeures d'échec thérapeutique.

I.1.1 Qu'est-ce qu'une souche mutante résistante ?

Tous les ARV utilisés par voie générale ne sont que virostatiques et non virucides c'est-à-dire que leur fonction est d'empêcher le virus de se multiplier.
Une souche virale résistante est une souche qui échappe, en partie ou totalement, à cette action virostatique. Elle est donc capable de se multiplier en présence de l'ARV. Cette caractéristique implique une modification de la structure des différentes protéines virales cibles qui une fois modifiées seront alors moins bien reconnues par l'ARV qui perdra, partiellement ou totalement, son efficacité. Néanmoins, ce changement ne doit pas être trop délétère pour le virus, afin de ne pas être létal pour lui. Autrement dit, la protéine enzymatique ou structurale doit toujours jouer son rôle pour que le virus poursuive sa multiplication.
Ainsi, certaines mutations ne pénalisent pas le virus. Le virus muté en présence de l'ARV se multiplie aussi bien que le virus sauvage en l'absence d'ARV [10,11].

D'autres mutations, au contraire, diminuent le pouvoir réplicatif du virus : on dit alors que le « fitness » est diminué.
Dans le cas de certains ARV, une seule mutation a été décrite comme conférant au virus, un haut niveau de résistance ; pour d'autres ARV, l'accumulation de plusieurs mutations est au contraire nécessaire pour que la souche devienne réellement résistante. Cette notion est souvent qualifiée de «barrière génétique ».
Cela comprend plusieurs notions combinant le :
- Nombre de changement nucléotidique nécessaire pour obtenir une mutation de résistance
- Impact de cette mutation sur le niveau de sensibilité à l'antirétroviral

- Impact de cette mutation sur la capacité réplicative virale.

Cet ensemble conditionne la vitesse de sélection des variants résistants [12].

I.1.2 Mécanismes généraux de l'émergence de la résistance

L'émergence d'une souche résistante résulte de la contribution de conditions suivantes :

- Le haut pouvoir de multiplication du virus : au sein de l'organisme d'une personne infectée et non traitée, on estime que 10 milliards de virions sont renouvelés chaque jour
- Les nombreuses erreurs de la rétro-transcriptase (RT) au cours de la rétro-transcription, ce qui conduit à la production de très nombreux virus mutés
- La pression de sélection exercée par l'ARV [13].

Ceci peut être schématisé de la manière suivante :
R : résistance
M : multiplication
E : erreurs de la RT
PS : pression de sélection de l'ARV.

L'ARV ne crée pas la mutation mais il ne fera que sélectionner une population virale mutée pré-existante. Il n'y aura aucune émergence de souche résistante si au moins l'un des facteurs de l' « équation » est égal à zéro [14].

$$R = M \times E \times PS$$

Le clinicien ne pouvant pas influer sur le taux d'erreur de la RT, deux pistes restent alors possibles :

- PS = 0 : le patient est naïf de tout traitement ARV (TARV).
  Dans cette situation les souches sauvages sont majoritaires (à l'exception des primo-infections avec transmission de souche résistantes)

- Si PS ≠ 0 : Le patient est sous TARV.
  Dans ce cas le seul moyen pour obtenir R = 0 est M = 0.
  Il est donc impératif que la charge virale soit indétectable.
  Dans ces conditions, il y a très peu de chance qu'une souche mutante résistante soit sélectionnée.
  Au contraire, laisser le virus se multiplier (M ≠ 0) sous traitement (PS ≠ 0) conduit inéluctablement à la sélection de souches résistantes [15].

I.1.3 Concept de quasi-espèce et rôle dans la résistance

En 1971, le biochimiste Manfred Eigen a décrit les bases fondamentales permettant de comprendre les mécanismes d'émergence de variants résistants chez les virus hautement variables entre autres le VIH. C'est ainsi que le concept de quasi-espèce fut décrit pour la première fois dans l'article « Self organization of matter and the evolution of biological macromolecule » [16].
En effet, chez ces derniers, l'absence de mécanismes correctifs lors des cycles de réplication entraine à chaque cycle viral la synthèse d'un nombre de mutations sans commune mesure.
Ainsi, ces virus ne sont pas caractérisés par une entité génétique définie, mais au contraire par une multitude de sous-populations virales apparentées et génétiquement proches qui forment collectivement l'entité.
Une sous population peut donc posséder un potentiel génétique plus favorable, qui lui permet d'occuper une place plus importante au sein de la quasi-espèce ; elle sera donc la population majoritaire.
La présence de souches résistantes parmi la quasi-espèce qui s'est développée dans l'organisme du patient, n'explique pas tout.
Il est établi que même sous TARV efficace avec une charge virale (CV) plasmatique sous le seuil de détectabilité, une réplication résiduelle plus ou moins importante continue de se produire. L'une des raisons expliquant ce phénomène est que toutes les molécules ne peuvent pas pénétrer tous les compartiments de l'organisme à des concentrations efficaces. Ces compartiments, « sanctuaires » pour le virus, peuvent représenter l'antichambre de la résistance où les concentrations suboptimales permettent la sélection plus ou moins rapide de variants qui accumuleront graduellement les mutations de résistance.
Ces résistances conduiront à des souches de plus en plus aptes à se répliquer en présence des molécules, jusqu'à l'obtention d'un profil génotypique de résistance suffisamment important pour atteindre un niveau de réplication conséquent et donc une CV plasmatique détectable et définir ainsi l'échec thérapeutique [17,18].

I.1.4 Qu'est-ce qu'une résistance croisée ?

Une ou plusieurs mutation(s) sélectionnée(s) par un ARV peut être à l'origine d'une moindre efficacité de plusieurs ARV (éventuellement jamais reçus par le patient).
On parle alors de résistance croisée, phénomène fréquent au sein d'une classe thérapeutique et qui dans certains cas, peut limiter rapidement le choix des lignes thérapeutiques ultérieures [19].

I.1.5 Autres définitions

- **Mutation majeure:** C'est une mutation dont l'unique présence induit un niveau de résistance élevé à un médicament donné.

- **Mutations mineures:** Ce sont des mutations dont l'accumulation de plusieurs substitutions secondaires est nécessaire pour observer un phénotype de résistance élevé.

- **Résistance primaire:** C'est la présence d'une souche virale résistante chez un patient naïf de tout TARV.
  Elle peut être naturelle ou transmise lors de l'infection.

- **Résistance secondaire:** C'est une résistance qui est due à la sélection d'une souche mutante résistante sous traitement non-optimal.
  Elle apparaît chez une PVVIH en échec thérapeutique.

I.2 GENERALITES SUR L'INFECTION PAR LE VIH

I.2.1 Agent causal

Les virus de l'immunodéficience humaine appartiennent à la famille des rétrovirus qui constitue une large famille (Retroviridae) répandue parmi les diverses espèces animales et qui infectent principalement les vertébrés.
Ces virus ont un cycle de réplication virale particulier par lequel leur information génétique est codée par l'ARN plutôt que par l'ADN.
Selon leur pathogénie, on distingue sept sous-familles de rétrovirus parmi lesquelles deux infectent l'homme avec des conséquences pathologiques bien connues :

- Les deltarétrovirus dont les virus lymphotropes des cellules T humaines (HTLV) de type 1 et 2 qui sont associés à des leucémies et des maladies neurologiques
- Les lentivirus qui provoquent des maladies à évolution lente et qui sont cytopathogènes en culture.
  Les VIH, agents responsables du SIDA, font partie de cette sous famille.
  Deux types de VIH sont identifiés à ce jour : le VIH–1, répandu sur l'ensemble des continents et, le VIH–2 présent surtout en Afrique de l'Ouest [20].

I.2.2 Structure de la particule virale

Le VIH–1 est un virus enveloppé de 90 à 120 nanomètres de diamètre, produit par bourgeonnement de la membrane plasmique de la cellule hôte.
Son enveloppe contient des trimères de deux glycoprotéines virales :
la glycoprotéine transmembranaire gp41 associée à la glycoprotéine extramembranaire gp120. L'enveloppe protège la capside interne ou « core » du virus qui renferme une matrice (MA) composée de protéines p17 puis une capside (CA) composée de protéines p24.

Le génome du VIH–1, contenu dans la capside et associé à la nucléocapside (NC, p7), est constitué de deux molécules identiques d'ARN simple brin de polarité positive, liées de façon non covalente en 5'.
Les trois enzymes virales indispensables à la réplication : la transcriptase inverse (TI) ou la reverse-transcriptase, l'intégrase (IN) et la protéase (PR) sont contenues, elles aussi, dans le core viral (Figure1).

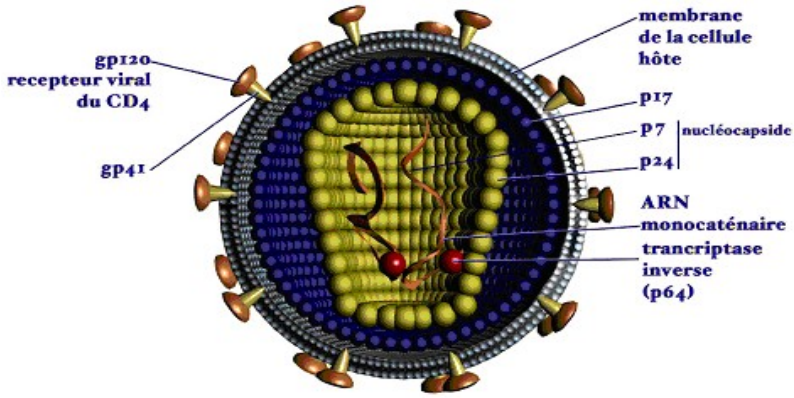


Figure 1. Structure du virion VIH–1 [21]

I.2.3 Organisation génomique du VIH

Le génome du VIH mesure environ 10 000 paires de base (pb) et il est composé de 9 cadres ouverts de lectures (Figure 3). Dans le sens 5' vers 3', il possède les trois gènes de structures communs à tous les rétrovirus: gag (pour antigène spécifique de groupe), pol (pour polymérase) et env (enveloppe).
Il possède également deux gènes régulateurs (tat « trans-activator of transcription» et rev « regulator of virion expression »), et quatre gènes accessoires (nef « negative factor », vif « viral infectivity factor », vpr « viral protein r » et vpu « viral protein u » pour le VIH–1 ou vpx pour le VIH–2).
Les extrémités du génome du VIH sont flanquées par deux longues séquences terminales répétées ou LTR (Long terminal Repeat), d'environ 650 pb.
Elles sont identiquement composées des régions uniques en 5' (U5) et 3' (U3), qui encadrent la région. Elles permettent l'intégration de l'ADN viral dans le génome de la cellule hôte. Le LTR en 5' sert de promoteur pour la transcription virale tandis que le LTR en 3' sert de signal de fin transcriptionnel. Le LTR en 3' active aussi la transcription de nef [22].

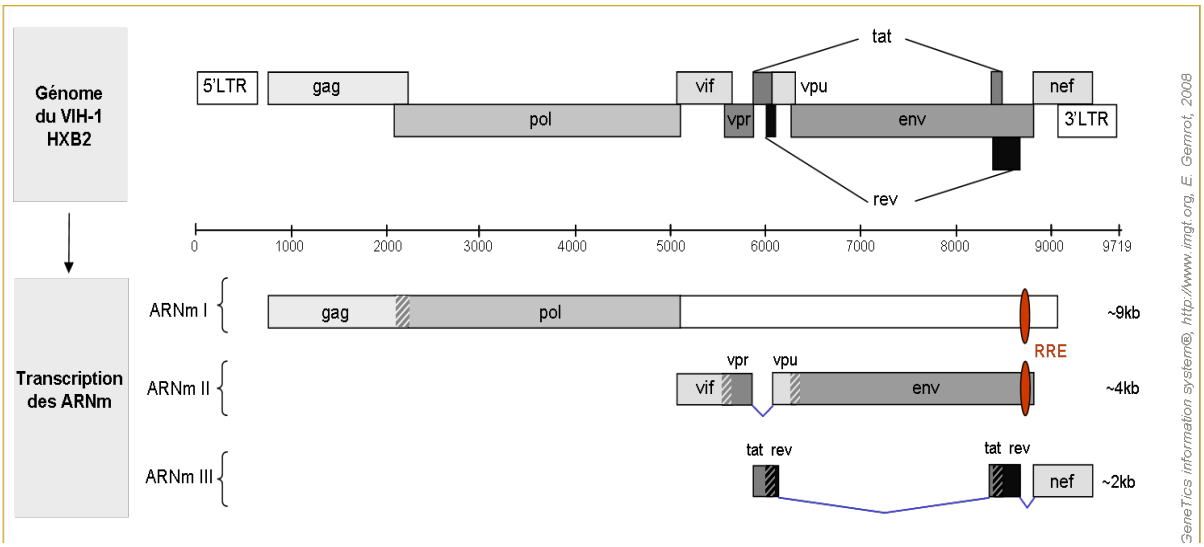


Figure 2. Structure génomique de l'ADN proviral du VIH–1 [23]

I.2.4 Origine de la diversité génétique et recombinaisons du VIH

Le processus d'évolution existe chez toutes les espèces vivantes mais celle du VIH–1 se différencie par sa rapidité conduisant à l'existence d'un grand nombre de variants.
En effet, la RT est une enzyme peu fidèle car elle est dépourvue de l'activité exonucléasique 3'-5', qui permet de corriger les erreurs de transcription.
Ainsi, on estime que l'activité de la RT induit un taux de mutation de 3,4 à 10×10^{-5} mutations par paire de base (pb) et par cycle de réplication.
La taille du génome étant d'environ 10^4 pb, on estime finalement que le taux de mutations varie entre 0,34 et 1 mutation par génome et par cycle de réplication. Les insertions et les délétions au sein du génome viral sont également fréquentes.
De plus, le VIH possède un taux de réplication virale élevé : environ 10^9 à 10^{10} de virus sont produits chaque jour chez une personne infectée non traitée.
L'association de ces deux facteurs, erreur de transcription et réplication élevée, génère rapidement de nombreux variants minoritaires, qui sont génétiquement différents tout en restant extrêmement proches.
Ainsi, on estime que les séquences nucléotidiques virales peuvent différer jusqu'à 10% au sein d'un même individu. Cette caractéristique enzymatique contribue fortement à la diversité génétique du VIH et à l'émergence des résistances, en présence d'une pression de sélection immunitaire et antirétrovirale [13, 24].

Au cours de la transcription inverse, la RT change aussi fréquemment de matrice. En cas de co-infection, ou plus souvent de super-infection (ré-infection), par au moins deux souches virales génétiquement différentes, il est possible que cela génère des virus recombinants qui sont obtenus après deux cycles de recombinaison successifs.

La recombinaison est un processus au cours duquel le virion néoformé possède un matériel génétique issu de l'échange de matériel de deux virus parentaux [25].

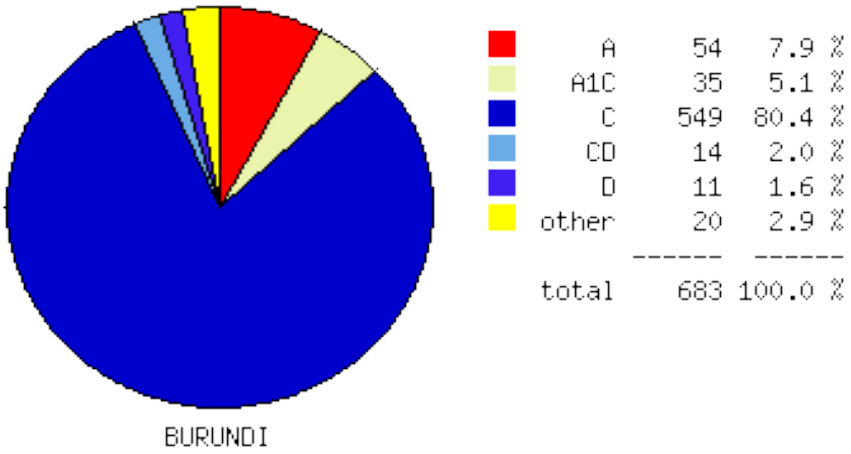
I.2.5 Sous-types et recombinants circulants du VIH-1

I.2.5.1 Classification

Sur la base des distances génétiques entre les VIH–1 retrouvés chez les patients, une classification VIH–1 en quatre groupes distincts : M pour « Majeur », O pour « Outlier », N pour « non-M/non-O », et P a été établie. Les séquences du VIH–1 M se sont diversifiées au cours de l'évolution de l'épidémie.
Actuellement, le VIH-1 M est divisé en neuf sous-types (A–D, F–H, J et K) ainsi qu'en sous-sous-types pour le VIH–1 A (A1–A4) et le VIH–1 F (F1 et F2).
Par ailleurs, on observe de plus en plus de recombinaisons entre les sous-types. Lorsqu'elles se restreignent à quelques individus, ce sont des formes recombinantes uniques ou URF (unique recombinant form).
Lorsqu'elles diffusent dans la population et sont documentées chez au moins trois patients n'ayant aucun lien épidémiologique, ce sont des formes recombinantes circulantes ou CRF (circulating recombinant form) [24, 26].

I.2.5.2 Epidémiologie moléculaire

La répartition des différents types, groupes, sous-types et recombinants du VIH est très hétérogène à travers le monde, tant au niveau de la distribution géographique, que du nombre de personnes infectées. Le VIH–1 M, responsable de l'épidémie mondiale, dont le sous-type majoritaire est le sous-type C est représenté par les sous-types et CRFs suivants : C (48 %), A (12 %), B (11 %), CRF02_AG (8 %), CRF01_AE(5 %), G (5 %) et D (2 %).
Les sous-types F, H, J et K représentent < 1 % des infections à VIH-1 dans le monde, et les autres CRFs et URFs en représentent 4 %.
Au final, environ 20 % des infections mondiales sont dues à des formes recombinantes circulantes et uniques (CRFs/URFs).
L'Afrique de l'Ouest et Centrale est caractérisée par une grande diversité génétique de VIH circulants.
Au Sud de l'Afrique, l'épidémie est presque exclusivement liée au sous-type C, représentant quasiment 100 % des infections en Afrique du Sud, Botswana, Malawi, Mozambique, Swaziland et Zimbabwe.
En Afrique de l'Est, VIH–1 C prédomine aussi au Burundi et en Ethiopie.
Dans d'autres pays comme le Kenya, le Rwanda et la Tanzanie, il co-circule avec VIH–1 A et D ainsi que de nombreux URFs [27, 28].



Graphique 1. Distribution des sous-types du VIH−1 au Burundi retrouvés sur des échantillons analysés en 1991, 2002 et 2007 [29].

I.2.6 Cycle de réplication virale du VIH

Les principales cellules cibles du VIH sont celles qui présentent à leur surface la glycoprotéine CD4 : les lymphocytes T CD4+ (CD4) majoritairement, mais aussi les monocytes/macrophages, les cellules dendritiques et les cellules de Langerhans, ainsi que les cellules de la microglie cérébrale [30].
La réplication a donc lieu dans les organes lymphoïdes, principalement les ganglions lymphatiques, mais aussi dans l'intestin au niveau du GALT (gut associated lymphoid tissue), dans la rate et le thymus, ainsi qu'au niveau du cerveau.
Elle a également lieu dans les liquides biologiques (sang, sécrétions génitales, lait, liquide broncho-alvéolaire…)

I.2.6.1 Phase précoce

Pour entrer dans la cellule hôte, la gp120 au niveau de sa boucle V1 du VIH doit d'abord reconnaître spécifiquement le récepteur CD4 des LT CD4+ activés (Figure 3). Grâce à cette liaison de haute affinité, la gp120 va subir un changement conformationnel qui va lui permettre de se lier au niveau de sa boucle V3 à l'un des deux corécepteurs aux chimiokines, CCR5 ou CXCR4. Cette nouvelle liaison engendre également un changement conformationnel de la gp41 du VIH, qui lui permet d'entrer en contact avec la membrane cellulaire et de réaliser la fusion de l'enveloppe virale avec celle des LT CD4 [31].

Dans le cytoplasme, la transcription inverse a lieu simultanément avec la décapsidation du virus. Elle est réalisée grâce aux trois activités enzymatiques distinctes que possède la Reverse Transcriptase :

- Polymérisation d'ADNc à partir de l'ARN viral pour former un hybride ARN/ADNc
- Dégradation de l'ARN viral par la ribonucléase H (R Nase H)
- Polymérisation d'ADN à partir de l'ADN viral néo-synthétisé pour former un double brin d'ADN viral.

Le double brin d'ADN viral va ensuite former le complexe nucléoprotéique appelé complexe de préintégration (CPI), qui sera transféré activement vers le noyau, notamment grâce à la viral protein r (vpr).
L'intégration de l'ADN proviral sera alors réalisée par l'intégrase (IN), qui clivera d'abord les extrémités 3'-LTRs de l'ADN, puis insérera de façon stable l'ADN viral en liguant ces LTRs au génome cellulaire [32].

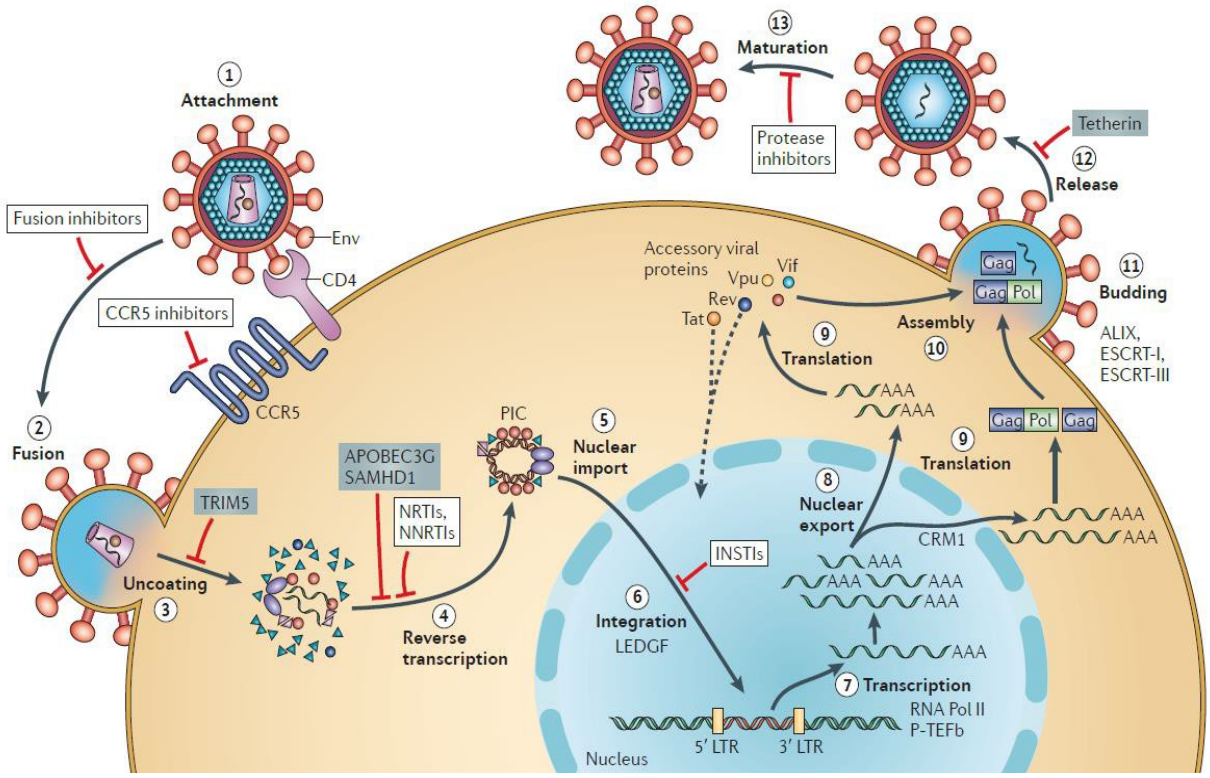


Figure 3. Cycle de réplication virale [33]

Au cours de cette phase précoce du cycle du VIH, trois facteurs de restriction cellulaire peuvent limiter la réplication du VIH :

- TRIM5alpha (T– cell receptor interacting molecule 5 α), qui module la décapsidation du virus
- APOBEC3G (polypeptide 3G d'apolipoprotéine B catalytique à l'activité d'édition de l'ARNm), qui provoque des hypermutations au cours de la TI, aboutissant soit à la dégradation de l'ADN viral, soit à la production de protéines virales non fonctionnelles

- SAMHD1 (protéine de type 1 contenant les domaines SAM et HD), qui inhibe aussi l'étape de reverse transcription. Cependant, les protéines virales Vif et Vpx contrecarrent respectivement l'activité d'APOBEC3G et de SAM [34].

I.2.6.2 Phase tardive

De façon simple, le provirus utilise la machinerie cellulaire pour se répliquer : l'ADN proviral est transcrit en ARN par la polymérase II cellulaire, sous l'action activatrice de Tat. A l'issue d'un épissage alternatif, l'ARNm est transporté du noyau vers le cytoplasme, grâce à Rev.
A partir de l'ARN épissé, les protéines régulatrices Tat et Rev sont les premières à être traduites, car elles jouent un rôle essentiel dans la transcription et la traduction des précurseurs polyprotéiques Pr55Gag et Pr160Gag-Pol, des glycoprotéines d'enveloppes et des protéines accessoires.
Le Pr55Gag s'assemble au niveau de la membrane plasmatique cellulaire pour former un bourgeon.
Après scission, le virion immature est libéré dans le milieu extracellulaire et subit la protéolyse, qui aboutit à la formation d'un virus mature.
La tetherine est un facteur de restriction cellulaire pouvant inhiber le bourgeonnement des nouvelles particules virales, mais elle est elle-même inhibée par Vpu pour le VIH–1 M et par Nef pour le VIH–1 O [35, 36].

I.2.7 Histoire naturelle de l'infection à VIH/SIDA

I.2.7.1 Mode de transmission

Le VIH se transmet de façon horizontale par voie sexuelle (sperme, sécrétions vaginales) et sanguine (transfusion ou partage de seringues contaminées); et de façon verticale de la mère à l'enfant, au cours de la grossesse, l'accouchement ou de l'allaitement.
Schématiquement, plus la charge virale est élevée dans le liquide contaminant, plus le risque de transmission est important.
Inversement, l'indétectabilité du virus réduit fortement sa transmission, sans l'empêcher complètement [37]

I.2.7.2 Phase de primo-infection

La phase de primo-infection correspond aux premières semaines qui suivent l'entrée du virus dans l'organisme (Figure 4).

Dans les cas les plus communs de transmission sexuelle, le VIH traverse l'épithélium de la muqueuse génitale ou rectale en quelques heures.

De façon paradoxale, la mise en place de la réponse immunitaire va fournir au virus les cellules cibles lui permettant sa réplication au niveau local.
Ainsi, le VIH va se multiplier intensivement dans les LT CD4+ activés qui affluent, produisant environ 10^9 à 10^{10} virus par jour, et détruisant une quantité à peu près équivalente de LT CD4. Cette déplétion massive et précoce en LT CD4+ concerne surtout les compartiments muqueux, et principalement le GALT de la muqueuse intestinale.

Pendant cette phase qui est dite « d'éclipse » et qui dure une dizaine de jours, la charge virale (CV) plasmatique est indétectable [37].

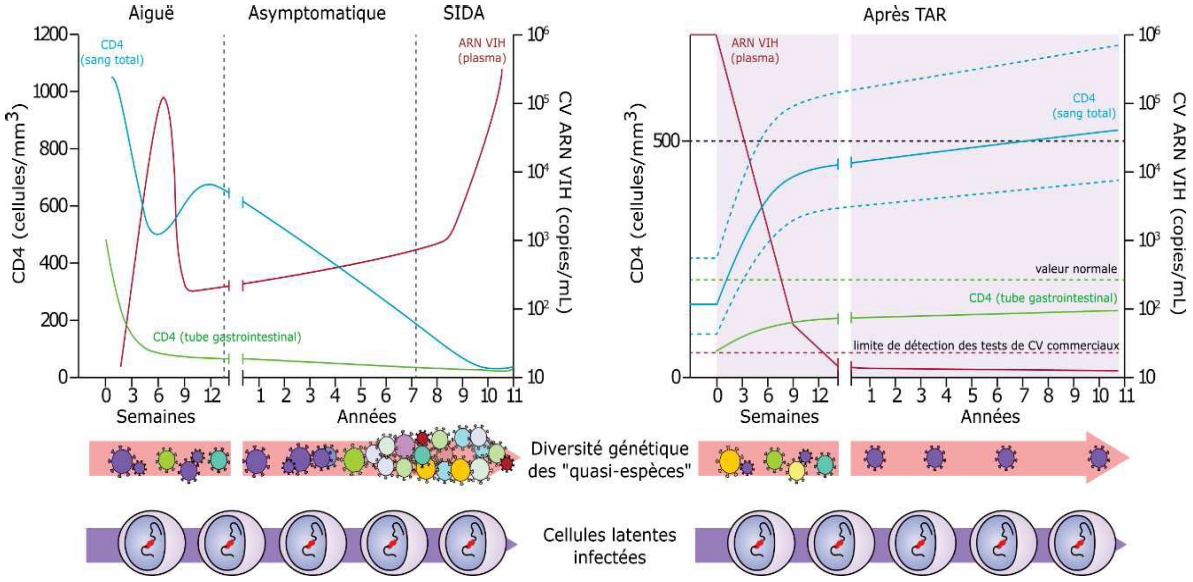


Figure 4. Evolution de la charge virale (CV) ARN du VIH et du nombre de CD4 pendant l'infection à VIH et après la mise sous TARV [38]

Deux à six semaines après la contamination, le virus va migrer vers les ganglions lymphatiques, puis disséminer vers les organes lymphoïdes.
Cela se traduit par une augmentation très rapide de la CV plasmatique, pouvant aller jusqu'à 10^7copies/mL, et une diminution transitoire des LT CD4+ sanguins. A ce moment, la présence de l'antigène viral p24 est détectable avec un test ELISA de quatrième génération, avant que les anticorps soient déjà présents.
Cette phase dite « aiguë » de l'infection, s'accompagne dans 50 à 60 % des cas de manifestations cliniques non spécifiques, correspondant généralement à un syndrome pseudo-grippal. A la fin de cette phase, du fait de la mise en place de la réponse immune cellulaire et de l'épuisement des cellules cibles activées, on observe une chute considérable de la virémie (< 1 000 copies/mL) et inversement, le taux de lymphocytes TCD4+ augmente [37].

I.2.7.3 Phase de latence clinique ou asymptomatique

Environ 12 semaines après l'infection, la mise en place de la réponse immune cellulaire provoque l'entrée dans la phase de latence clinique, souvent asymptomatique et pouvant durer entre 2 et 12 ans.
Les anticorps anti-VIH apparaissent généralement dans la circulation sanguine entre la troisième semaine et la douzième semaine après l'infection. Pendant cette phase, la réplication virale est inhibée par les LT CD8 cytotoxiques qui détruisent les cellules cibles infectées, et les anticorps anti-VIH qui limitent la fixation du VIH aux CD4.
Cette phase est caractérisée par une augmentation constante ou légèrement progressive de la CV plasmatique, généralement de < 1 000 à > 100 000 copies/mL. La valeur des CD4 initialement stable, voire proche de la normale va progressivement diminuer jusqu'à environ 50–100 cellules/mm ^{3} par an [37].

I.2.7.4 Phase symptomatique aboutissant au SIDA

Ce stade correspond à l'augmentation de la CV plasmatique et a l'effondrement du système immunitaire (CD4 < 200 cellules/mm3).
L'infection symptomatique est caractérisée par des maladies opportunistes mineures comme la candidose orale ou majeures comme la pneumocystose, la toxoplasmose, la tuberculose, le Cytomégalovirus, etc.
Elle peut aussi entrainer des maladies tumorales (sarcome de Kaposi lié à HHV–8, lymphome B lié à EBV), ainsi que des encéphalopathies à VIH.
L'OMS a élaboré une classification clinique en 4 stades de l'infection à VIH (stade 1 pour asymptomatique, puis stades 2, 3 et 4 en fonction de la gravité des maladies).
En l'absence de traitement antirétroviral, l'évolution naturelle de l'infection à VIH aboutit au décès de quasiment tous les patients, en moyenne 8 à 10 ans après la primo-infection [39].

I.3 TRAITEMENT ANTIRETROVIRAL

I.3.1 Principe et objectifs

L'enjeu principal du TARV est d'empêcher la réplication virale afin d'éviter la destruction des cellules immunitaires qui conduit à l'immunodépression sévère définissant le stade SIDA. La réplication virale doit être, en fait, réduite à minima afin de préserver l'efficacité des antirétroviraux dans le temps en évitant le développement de mutations de résistance.

La connaissance approfondie du cycle de réplication du VIH a permis de fournir de nombreuses cibles potentielles à des agents thérapeutiques.
A partir de 1996, est né, avec l'arrivée des inhibiteurs de protéase (IP), le concept de trithérapie qui combine deux INTIs et un IP.

Ces associations puissantes appelées traitement antirétroviral combiné (TARVc) ont montré une considérable efficacité tant sur le plan clinique que virologique et immunologique [3].

La mesure de la charge virale plasmatique est le meilleur marqueur pour évaluer l'efficacité d'un traitement.
L'objectif est de rendre cette CV indétectable en quelques mois, en dessous 50 copies/ml en 6 mois afin de limiter, d'une part, le nombre de lymphocytes T CD4+ infectés qui seraient rapidement détruits et, d'autre part, la sélection de virus résistants qui entraîneraient un rebond de la CV plasmatique [40].
Le seuil de détectabilité de la CV dépend de la technique utilisée et, selon le protocole de surveillance du TARV de l'OMS aussi appliqué au Burundi, la CV est considérée comme indétectable lorsqu'elle devient inférieure à 1000 copies/ml [4, 6].
L'objectif immunologique est le retour à des valeurs normales de la numération des LT CD4 ou plus modestement de maintenir les CD4 au-dessus de 500 cellules/mm^3 pour éviter la survenue de maladies opportunistes [40].

I.3.2 Classes et modes d'action des antirétroviraux utilisés contre le VIH–1

I.3.2.1 Inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques de la transcriptase inverse

Ils agissent durant la phase précoce du cycle de réplication virale par inhibition de la Transcriptase inverse. Ils sont analogues des nucléosides naturels, mais privés d'un groupement hydroxyle en 3' (didésoxynucléosides ou ddNTP) les empêchant ainsi d'assurer la liaison 5'-3' avec le nucléoside suivant.
Ils sont alors appelés « terminateur de chaîne » [41].

I.3.2.2 Inhibiteurs non-nucléosidiques de la transcriptase inverse

A la différence des analogues nucléosidiques, ils inhibent la TI de façon non compétitive, en se fixant au niveau d'une poche hydrophobe située à proximité du site catalytique de l'enzyme. Ils inhibent la polymérisation par un mécanisme allostérique avec une activité inhibitrice importante sur la TI du VIH–1 [42].
Les INNTIs actuellement commercialisés sont au nombre de quatre :

- Les molécules de première génération, dont la barrière génétique est faible et présentant des résistances croisées, que sont la névirapine (NVP) et l'efavirenz (EFV)
- Les molécules de deuxième génération dont le chef de file est l'etravirine (ETR) capable d'inhiber des virus porteurs de mutations de résistance aux inhibiteurs de première génération lorsqu'il est associé à des antirétroviraux pleinement actifs
- La rilpivirine (RPV), nouvelle molécule de deuxième génération semble avoir une barrière génétique plus faible [43, 44].

I.3.2.3 Inhibiteurs de la protéase

La majorité des IPs actuellement disponibles sont des peptidomimétiques qui se lient compétitivement sur le site actif de la protéase. La protéase ne peut plus cliver les précurseurs et les nouveaux virus seront donc immatures et non infectieux.
Le ritonavir (RTV), un des premiers IPs mis sur le marché, n'est d'ailleurs plus utilisé comme antirétroviral proprement dit mais comme potentialiseur (« booster») grâce à son important effet inhibiteur du CYP3A [45].
Actuellement, la classe des IPs est celle qui offre le plus d'options médicamenteuses avec 7 molécules actives contre le VIH: le saquinavir (SQV), l'indinavir (IDV), l'atazanavir (ATV), le fosamprénavir (fosAPV), le lopinavir (LPV), le tipranavir (TPV) et le darunavir (DRV).

I.3.2.4 Autres antirétroviraux

- Inhibiteurs d'entrée : Deux classes de molécules utilisées en clinique agissent sur l'étape d'entrée du virus dans la cellule : les inhibiteurs de fusion et les inhibiteurs du corécepteur CCR5.
  L'inhibiteur de fusion actuellement commercialisé est l'enfuvirtide (T20) et comme inhibiteur du corécepteur CCR5, le maraviroc.

- Inhibiteurs de l'intégrase : Ils ont pour rôle de bloquer l'intégration de l'ADN proviral dans l'ADN chromosomique de la cellule infectée et ainsi d'empêcher la réplication virale.

Trois molécules appartenant à la famille des inhibiteurs sélectifs de transfert de brins (STI, strand transfer inhibitors) ont été développées depuis quelques années :
Le raltégravir et l'elvitegravir (de première génération) et plus récemment le dolutégravir (deuxième génération) [45].

I.3.3 Recommandations de mise sous traitement au Burundi

I.3.3.1 Schémas de traitement antirétroviral chez l'adulte et l'adolescent

a. Schéma de première ligne

Il comprend 2 INTIs et 1 INNTI.
Il s'agit d'un schéma efficace simplifié, peu cher et disponible sous forme combinée en comprimé unique.

- Option privilégiée : TDF+3TC+EFV600
- Options de remplacement :
  - TDF/3TC+NVP

- AZT/3TC/NVP

La combinaison TDF+3TC+ EFV reste recommandée en cas de coïnfection TB/VIH, VHB/VIH de même que chez la femme enceinte et allaitante ainsi que chez les enfants de plus de 10 ans ou de plus de 35 kg [5].

b. Schéma de deuxième ligne

Le traitement de deuxième ligne est proposé en cas d'échec thérapeutique de la 1ère ligne de traitement. Il doit comprendre au minimum 3 ARV dont un provient d'une nouvelle classe de traitement non encore utilisée pour le patient.
L'élément essentiel de la deuxième ligne est l'introduction d'un IP.
Pour maximiser l'efficacité de cet IP et assurer sa durabilité comme élément de suppression de la charge virale, il doit toujours être boosté par le RTV (IP/r).
L'ATV/r est l'IP de premier choix dans le schéma de deuxième ligne, il présente une meilleure facilité de prise (comprimé en prise unique), et son coût est actuellement plus abordable [5].

c. Schéma de troisième ligne

Tout changement pour une troisième ligne devrait être décidé par un comité d'experts en thérapeutique et en programmation en cas d'échec confirmé de la deuxième ligne de traitement. Le choix des médicaments composant la troisième ligne comprendrait un anti intégraseet un IP/r nouvelle génération.
En pratique le dolutégravir et le darunavir/ritonavir seraient respectivement l'anti-intégrase et l'antiprotéase de choix [5].

Tableau 1. Recommandations de traitement pour la 1ère, 2ème et 3ème ligne de traitement ARV chez l'adulte et l'adolescent

1ère ligne de traitement	**2ème ligne de traitement**	**3ème ligne de traitement**
2 INTIs + INNTI	**2 INTIs + IP/r**	**IP/r + INIs ± 1 INTI**
Combinaison de 1er choix		
TDF + 3TC + EFV	ABC + 3TC + ATV/r	DRV/r + DTG + AZT
Combinaison alternative		
TDF + 3TC + NVP	ABC + 3TC + ATZ/r	DRV/r + DTG + AZT
AZT + 3TC + NVP	DRV/r + DTG + TDF	

I.3.3.2 Schémas de traitement antirétroviral chez les nourrissons et l'enfant

Compte tenu de l'immaturité métabolique, de la tolérance, de la facilité de prise et de la disponibilité des formulations pédiatriques, les molécules du traitement ARV chez l'enfant sont choisies sur base de considérations d'âge, de poids et de l'existence des coïnfections selon les tableaux ci-dessous [5].

Tableau 2. Schémas de traitement ARV de première ligne chez l'enfant selon l'âge

1ère ligne de traitement	**1ère intention privilégiée**	**Alternative**
De la naissance à 2 semaines	AZT + 3TC + NVP	
De 2 semaines à 3 ans	ABC + 3TC + LPV/r	AZT + 3TC + LPV/r
3 ans à 10 ans	ABC + 3TC + EFV	- ABC + 3TC + NVP - AZT + 3TC + NVP - TDF + 3TC + EFV
Plus de 10 ans	Voir schémas de l'adulte	Plus de 10 ans

I.4 MUTATIONS DE RESISTANCE DU VIH–1 AUX ANTIRETREVIRAUX

I.4.1 Origine des mutations de résistance du VIH aux antirétroviraux

Elle résulte d'un compromis entre l'effet positif des mutations en présence de l'inhibiteur et l'effet négatif de ces mutations sur la fonction de l'enzyme ou de la cible antivirale.
La sélection des mutations concerne les gènes codant les protéines cibles des antirétroviraux : la transcriptase inverse, la protéase, la glycoprotéine 41, ou l'intégrase. Les protéines ainsi modifiées deviennent insensibles aux ARV concernés.
L'apparition des mutations est liée au mécanisme de recombinaison et aux erreurs induites au hasard par la transcriptase inverse, avec en moyenne, l'introduction d'une mutation par virion produit [46, 47].

D'autres mécanismes impliquant des protéines accessoires Vif et Vpr interviendraient potentiellement dans la résistance aux antirétroviraux. En effet, ces protéines de régulation interviennent dans le processus de rétro-transcription de l'ARN viral et participent ainsi au maintien de l'intégrité du génome viral.

Les mutations de résistance confèrent un avantage sélectif au virus en diminuant la sensibilité du virus aux antirétroviraux sans en empêcher la multiplication.
Le haut degré de recombinaison du VIH–1 augmente encore la capacité d'émergence de variants porteurs de mutations de résistance.
Ces phénomènes peuvent aboutir à un échec de traitement et peuvent être à l'origine de variants multi-résistants [48].

I.4.2 Mécanismes de résistance et mutations associées

I.4.2.1 Résistance aux Inhibiteurs Nucléos(t)idiques de la Transcriptase Inverse

a. Mutations « discriminantes » des Inhibiteurs Nucléos(t)idiques de la Transcriptase Inverse

Les INTIs ne bloquent pas l'activité de la transcriptase inverse mais s'incorporent en tant que « terminateurs de chaîne » au cours de la polymérisation de l'ADN viral.
Le premier mécanisme de résistance aux INTIs implique des mutations qui diminuent leur taux d'incorporation (kpol) au profit des dNTPs naturels, entrainant ainsi une augmentation de la réplication virale. Cette « voie discriminatoire » est principalement représentée par les mutations M184V/I et K65R, ainsi que les mutations K70E, L74V, Y115F, et le « complexe Q151M » [49].
Ces mutations peuvent effectivement diminuer l'affinité de liaison des INTIs (bi)triphosphorylés (kD), en créant par exemple un encombrement stérique au niveau du site actif de polymérisation de la RT c'est le cas de la M184VI.

- La mutation M184V/I :

Elle est sélectionnée par 3TC/FTC auxquels elle confère une forte résistance, en réduisant par plus de 100 fois leur sensibilité, en comparaison à une souche sauvage. Elle peut aussi diminuer la sensibilité à ABC et ddI lorsqu'elle est associée à d'autres mutations, générant ainsi des résistances croisées.
Inversement, elle augmente la sensibilité au TDF et AZT/d4T.
La M184V/I réduit également le taux d'incorporation (kpol) des dNTPs naturels, surtout lorsqu'ils sont présents à de faibles concentrations, ce qui diminue le « fitness » du virus. Ainsi, la M184VI est associée à une baisse de 0,5 log10 copies/mL de la charge virale de l'ARN du VIH–1, et à une diminution de la capacité de transmission du virus. Elle persiste aussi rarement en l'absence de pression antirétrovirale [50, 51].

La M184I résulte d'une substitution nucléotidique plus commune que la M184V : elle émerge habituellement en premier puis elle est remplacée au bout de quelques semaines par la M184V.

Enfin, la prévalence de M184VI semble significativement plus élevée chez les patients recevant un TARV à base de 3TC+TDF [52].

- La mutation K65R :

Elle est généralement sélectionnée par TDF, ainsi que par ABC, d4T et ddI, réduisant par 2 fois environ leur sensibilité. De plus, elle réduit d'environ 5 à 10 fois la sensibilité de 3TC/FTC. A l'inverse, elle augmente la sensibilité à l'AZT.
La K65R est généralement sélectionnée plus rapidement chez les patients infectés par le VIH–1 C [49, 53].

- La mutation L74V/I :

Elle est principalement sélectionnée par ABC et ddI et réduit respectivement par 5 et 2 fois leur sensibilité, en association avec la M184V/I.
A l'inverse, elle augmente la sensibilité à l'AZT.
En outre, elle est occasionnellement sélectionnée par TDF mais seule, elle est insuffisante pour diminuer sa sensibilité [49].

- La mutation Q151M :

Elle est généralement combinée à au moins deux mutations accessoires (A62V, V75I, F77L et F116Y). On parle ainsi de « complexe Q151M », qui confère une multi-résistance à tous les INTIs, à l'exception du TDF [49].
D'autres mutations, entre les positions 62 et 72, semblent associées à ce complexe notamment T69N, K70G/Q ou délétion en position 69 [54].
La Q151M requiert deux changements nucléotidiques engendrant des formes intermédiaires comme Q151KL : elle n'est donc pas fréquente et survient dans un contexte d'échec virologique prolongé [55].

b. Mutation de « déblocage » de l'élongation ou mutations des analogues de la thymidine (TAMs)

L'autre mécanisme de résistance aux INTIs implique des mutations qui modifient la structure de la TI et favorisent l'excision nucléotidique de certains INTIs, en inversant le sens de la réaction de polymérisation. Cette réaction de pyrophospholise utilise comme co-substrats l'ATP (adénosine triphosphate), ou plus rarement le PPi (pyrophosphate ou diphosphate inorganique).
Grâce aux mutations, ils entrent plus facilement à proximité du site des INTIs incorporées sous forme monophosphatée, en 3' de l'ADN viral.
La pyrophospholise va donc libérer les INTIs sous les formes respectives de dinucléoside tétraphosphate ou de nucléoside triphosphate, et permettre ainsi la restauration de la polymérisation de l'ADN viral. En outre, la réaction d'excision peut être bloquée par la translocation des dTNP naturels et INTIs avec l'ADN en un « complexe fermé » [56].

Comme elles sont couramment sélectionnées par AZT et d4T, ces mutations sont souvent appelées «mutations des analogues de la thymidine » ou TAMs thymidine analogue mutations. Les TAMs confèrent la résistance à AZT et d4T, mais également des résistances croisées avec TDF, ABC et ddI.

Classiquement, il existe huit TAMs présentes à six positions différentes sur le gène de la transcriptase inveerse : M41L, D67N, K70R, L210W, 215Y/F et K219Q/E.
Il existe deux profils d'acquisition des TAMs (1 et 2), qui sont distincts tout en pouvant se chevaucher. Comme TAM-1 (M41L, T215Y, et L210W) engendre un

« coût de fitness » viral plus faible, il survient plus fréquemment et cause une résistance plus forte que TAM–2 (D67N, K70R, K219Q/E, et T215F) [57].

En présence de pression antirétrovirale, L210W et T215F améliorent in vitro le « fitness » des souches possédant respectivement M41L et T215Y (TAM–1) et D67N, K70R et K219Q/E (TAM–2).
En l'absence ou non de pression antirétrovirale, T215Y possède un meilleur « fitness » que T215F et serait plus facilement transmise.
Toutefois, les patients infectés avec des souches contenant T215YF développent rapidement les formes révertantes T215ACDEGHILNSV [51, 58].

I.4.2.2 Résistance aux Inhibiteurs Non–Nucléosidiques de la Transcriptase inverse

Le mécanisme de résistance aux INNTIs implique des mutations qui sont situées au niveau de leur site actif, dans la poche hydrophobe située à proximité du site de polymérisation de l'ADN. Ces mutations réduisent l'affinité des INNTIs à leur site actif ou elles leur en empêchent l'accès [49].

Les mutations K103NS, Y181CIV et G190GSA sont les plus communes, ainsi que L100I, K101EP, V106AM, Y188CL et M230L. La présence d'une seule de ces mutations majeures confère généralement la résistance aux INNTIs de première génération (EFV et NVP). A l'exception de K103NS et V106AM, elles réduisent aussi la sensibilité des INNTIs de deuxième génération (ETR et RPV) [59].

La mutation E138K peut être sélectionnée par RPV et ETR et semble réduire plus fortement la sensibilité de RPV lorsqu'elle est associée à M184VI. Toutefois, les mutations de cette position (E138AGKQ) représenteraient plutôt un polymorphisme génétique chez les VIH–1 non B [60].

I.4.2.3 Résistance aux Inhibiteurs de la Protéase

Le mécanisme de résistance aux IPs implique généralement des mutations situées dans les régions naturellement conservées du site actif de la protéase (mutations majeures) ainsi que des mutations plus à distance (mutations accessoires).
Les IPs sont des molécules à forte barrière génétique car ils nécessitent généralement d'accumuler plusieurs mutations de résistance pour voir diminuer significativement leur affinité de liaison avec le site actif de la protéase.
Ainsi, la présence d'au moins 3 mutations est habituellement nécessaire pour conférer une résistance aux IPs les plus couramment utilisés (ATZ/r, LPV/r et DRV/r).

Les mutations majeures sont souvent sélectionnées en premier et concernent les 13 positions suivantes: D30N, V32I, L33F, M46IL, I47AV, G48VM, I50LV, I54VTALM, L76V, V82AFTSL, I84V, N88DS et L90M.
Généralement, elles vont d'abord modifier les interactions de liaison entre les IPs et le site actif de la protéase, entrainant un réarrangement pour les réajuster.
Il en résulte une baisse de la capacité réplicative du virus.
Même si certaines de ces mutations sont spécifiques d'un IP comme I50L pour ATZ, la plupart d'entre elles entrainent une résistance croisée aux autres molécules de la classe, d'autant plus forte que le nombre de mutations est élevé.
Les mutations accessoires viennent ensuite s'accumuler pour améliorer le « fitness » viral et renforcer ainsi la résistance. Certaines d'entre-elles représentent communément des polymorphismes génétiques chez les VIH–1 non B [49].

I.4.3 Tests de Résistance

I.4.3.1 Préparation et stockage des Dried Blood Spots

Le prélèvement de sang séché sur papier buvard ou DBS (Dried Blood Spots) est relativement facile à réaliser, stocker et transporter. On dépose un volume de sang total prélevé par ponction veineuse sur tube EDTA (ethylene diamine tetra acetic acide), souvent 50 µL à 70 µL, sur des cercles de papier buvard.
On peut aussi utiliser une lancette stérile pour faire une piqûre à l'extrémité d'un doigt du patient, préalablement désinfecté avec de l'alcool.
Le sang total recueilli est déposé selon le volume souhaité sur les cercles de papier buvard.
Une fois séché, le papier buvard est conservé pendant deux semaines au maximum à + 30° C, avec deux dessicants. Au-delà des deux semaines, les DBS doivent être conservés à – 20° C ou – 80° C, avec les dessicants [61, 62].

I.4.3.2 Application du test de résistance sur les Dried Blood Spots

En détectant tous les acides nucléiques (ARN et ADN), la CV qualitative sur DBS représente donc un outil de diagnostic précoce, sensible et adapté aux conditions programmatiques des pays du Sud.
La sensibilité et la spécificité de ces tests sur DBS doivent être au minimum de 95 % et 98 %, comparé au plasma [63, 64].

I.4.4 Analyse et interprétation de la résistance

I.4.4.1 Analyse de la résistance

L'analyse de la résistance du VIH aux ARV se fait généralement avec des tests génotypiques et parfois phénotypiques. Le plasma est le prélèvement de référence

pour réaliser le test génotypique afin d'amplifier l'ARN du VIH de la souche circulante chez le patient. La valeur prédictive positive des mutations de résistance dans l'ADN du VIH–1 est bonne, mais la valeur prédictive négative semble plus faible. Généralement, l'ARN du VIH est extrait à partir de 140 à 500 µL de plasma.
La région ARN ciblée est rétro-transcrite en ADNc, qui est ensuite amplifié par réaction de polymérisation en PCR (polymerase chain reaction) grâce à une Taq polymérase, en deux ou une seule étape au moyen d'enzymes « one-step » [65, 66].

Actuellement, le principal test génotypique de résistance commercialisé est ViroSeq HIV-1 Genotyping System v2.0 (Celera Diagnostics, CA, USA).
Il existe aussi le kit Trugene HIV–1 Genotyping (Siemens, Healthcare, NY, USA). Ces tests sont mis au point pour les VIH–1 de sous-type B.
Par conséquent, plusieurs « tests-maison » ont été développés pour pouvoir séquençer correctement une large diversité de variants du VIH–1, dont celui du groupe AC11 de l'ANRS [67, 68].

Les tests génotypiques de résistance utilisent couramment le séquençage nucléotidique classique, basé sur la méthode de Sanger, et désormais automatisé grâce à des séquenceurs.
Cette technique donne la séquence consensus issue du produit de PCR [69].

I.4.4.2 Interprétation des mutations de résistance

On utilise des algorithmes qui permettent de donner un sens clinique en prédisant le succès ou l'échec thérapeutique. Les algorithmes comparent la séquence obtenue à celle d'un virus de référence sensible.

L'identification des mutations de résistance est notamment basée sur les critères suivants :

- Les mutations in vitro, qui ont été sélectionnées au cours de mises en cultures répétées en présence d'ARV et dont l'introduction par mutagénèse dirigées dans une souche de référence confirme l'impact phénotypique
- Les mutations in vivo observées à partir des données cliniques issues des essais thérapeutiques.

Il existe trois algorithmes principaux pour interpréter les mutations de résistance d'une séquence du VIH–1 en niveaux de résistance aux ARV : ANRS, Stanford HIVdb, Rega Institute [70, 71].

Pour chaque molécule ARV, le résultat obtenu avec l'algorithme ANRS s'exprime en trois « niveaux de résistance » en fonction des types ou associations de mutations observées :

- Niveau 3 : Résistance (R)
- Niveau 2 : Résistance Intermédiaire (I)
- Niveau 1 : Sensible (S).

L’algorithme de Stanford ajoute deux niveaux intermédiaires supplémentaires : peu sensible et résistance faible.
Il calcule un score total (0–60) à partir des différents scores attribués à chaque type de mutation, et en tenant compte aussi des associations de mutations possibles.
Ainsi, les différences entre les algorithmes et les niveaux d’interprétation peuvent parfois conduire à des discordances de résultats sur certaines mutations de résistance, notamment chez les VIH–1 non B.
En pratique, l’interprétation d’un test génotypique de résistance est à prendre avec précaution. Il faut d’abord s’assurer que le prélèvement ait bien été réalisé en présence d'un TARV optimal.

En cas d’interruption de TARV, le choix des nouveaux ARV doit donc plutôt se baser sur un test génotypique de résistance réalisé au préalable.

Pour une interprétation complète, le résultat du test de résistance doit être accompagné de l’identification du sous-type viral par analyse phylogénétique de la séquence de la transcriptase inverse [49, 72].

CHAPITRE II. MALADES ET METHODES

II.1 MALADES

II.1.1 Population d'étude

L'étude a porté sur des patients séropositifs au VIH, suivis plus ou moins régulièrement sous TARV et qui ont bénéficié d'un test de résistance.

II.1.2 Critères d'inclusion

A été inclus dans l'étude, tout patient séropositif sous TARV :

- Pendant au moins 12 mois de traitement entre janvier 2010 et décembre 2016
- Pour lequel le test de résistance a été réalisé suite à un échec thérapeutique durant la période délimitée à l'étude

II.1.3 Critère d'exclusion

N'ont pas été retenu dans l'étude, les patients qui ont passé le test de résistance mais pour lesquels les bulletins des résultats n'ont pas été retrouvés.

II.2 METHODES

II.2.1 Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective qui s'étend sur une période de sept ans, allant de décembre 2016 à janvier 2010.

II.2.2 Examens de laboratoire

II.2.2.1 Prélèvement de sang

Pour chaque patient, environ 5 mL de sang total ont été recueillis dans un tube EDTA par ponction veineuse au niveau du pli du coude pour servir à la préparation d'une carte de papier buvard de type Whatman ® 903 ou carte DBS.
Le prélèvement a été fait conformément aux règles d'hygiène et de sécurité, et environ 50 µL de sang total ont par la suite été déposés sur chacun des 5 spots de la carte DBS préalablement identifiée et datée.
Après avoir été séchées à la température ambiante (de 19 à 30° C), les cartes DBS ont été placées chacune dans un sachet plastique individuel hermétiquement fermé en présence de dessicateurs et ensuite momentanément conservées sur les sites des centres de suivi.

II.2.2.2 Transport des cartes « Dried Blood Spots »

Le transport des cartes DBS vers le site d'analyse s'est fait par voie aérienne.
Aussitôt parvenus à destination, les échantillons étaient traités et analysés endéans 14 jours après leur prélèvement.
Au cas échéant, ils devaient être conservés avant d'être analysés.

II.2.2.3 Génotypage

A partir des échantillons de sang essentiellement recueillis sur papier buvard, les étapes suivantes ont permis d'arriver au séquençage des gènes cibles :

- 1ère étape : Elution dans un tampon spécifique de 2 spots de sang total (100 microlitres)
- 2ème étape : Extraction manuelle des acides nucléiques viraux réalisée sur colonnes à l'aide du réactif « QIA amp Viral RNA Minikit » (Qiagen, Venlo, Netherlands)
- 3ème étape : Amplification des gènes cibles des antirétroviraux au moyen de la réaction en chaîne de la transcription inverse par polymérase ensuite au moyen de la réaction en chaîne par polymérase nichée à l'aide des thermocycleurs Hybaid et Veriti 96 (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA) automatisant La réaction de PCR et à l'aide du réactif « Superscript III Platinum One Step RT-PCR » (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).
- 4ème étape : Electrophorèse pour s'assurer de la bonne amplification des gènes cibles puis purification des produits amplifiés
- 5ème étape : Séquençage des gènes cibles par la méthode Sanger (utilisation de didesoxynucléotides terminateurs de chaîne) à l'aide d'un Séquenceur à 16 capillaires (Applied Biosystems, Foster City, CA USA) et à l'aide du réactif « Big Dye Terminator » (Applied Biosystems, Foster City, CA USA).
  Le séquençage a été réalisé selon la technique-consensus de l'ANRS AC11 groupe résistance.
- 6ème étape : Purification des produits de séquence.

- 7ème étape : Electrophorèse capillaire (séparation des produits de séquence).

L'analyse des séquences a été faite à l'aide du logiciel Seqscape (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

En dernier lieu, l'interprétation des séquences a été faite à l'aide de la version annuellement actualisée de l'algorithme ANRS AC11 groupe résistance VIH.

Cette technique a été exécutée selon un protocole préétabli par le laboratoire de virologie du CHU Pontchaillou de Rennes.

II.2.3 Variables étudiées

Les variables étudiées ont été regroupées en 5 grandes catégories :

- Caractéristiques sociodémographiques :
  Age et sexe des PVVIH/Sida ayant des mutants résistants sous TARV.
- Variable liée au suivi clinique :
  Classification en stades cliniques selon l'OMS à l'initiation du TARV et lors de l'échec thérapeutique.
- Variables liées au suivi biologique :
  - Taux de CD4 lors de l'initiation du TARV et lors de l'échec thérapeutique
  - Nombre de la CV lors de l'échec thérapeutique.
- Variables liées au suivi et aux caractéristiques thérapeutiques :
  - Observance au TARV et terme d'irrégularité de suivi thérapeutique
  - Schéma thérapeutique des ARV pris avant et après la mise en évidence de l'échec thérapeutique
  - Durée du TARV avant l'échec thérapeutique et durée du TARV après l'échec thérapeutique mais avant la réalisation du test de résistance.
- Variables liées au test de résistance :
  - Type de VIH et sous-type viral
  - Codon testé de séquences de la TI et/ou de la Protéase
  - Mutation de résistance du VIH associée à une classe thérapeutique des ARV.

II.2.4 Echantillonnage

La taille de l'échantillon n'a pas été fixée au départ.
L'échantillonnage était de type exhaustif par recensement de tous les dossiers disponibles complets ou pas des patients répondant à nos critères d'inclusion.

Toutefois, il fallait tenir à ce que le nombre des cas étudiés soit significatif par rapport à la population source des patients en échec thérapeutique requérant la réalisation d'un test de résistance.

II.2.5 Source des données

Cette étude a été réalisée auprès des Centres de Prise en Charge Ambulatoire et Multidisciplinaire des PVVIH/Sida (CPAMP) et des Centres Nationaux de Référence pour le Suivi médical et psychosocial des PVVIH/Sida (CNRSMPP) situés à Bujumbura, au Burundi.
Le génotypage a été effectué au CHU Pontchaillou de Rennes, en France.

II.2.6 Collecte des données

La collecte des données a été réalisée sur des fiches d'enquêtes individuelles qui contenaient les variables à étudier. Ces fiches étaient remplies à partir des dossiers classiques et/ou à partir des dossiers informatisés dans le logiciel SIDA infos.

II.2.7 Analyse des données

Les données ont été saisies puis traitées dans le logiciel Excel 2013.
Ces données ont ensuite été analysées à l'aide du logiciel « SPSS version 18.0 ».
Une approche analytique bi variée a permis d'analyser les variables indépendamment associées au phénomène étudié.
Le test Khi² de Pearson a été utilisé pour mesurer les relations entre les variables qualitatives.
Le test U de Mann Whitney a permis de comparer les distributions associées d'une même variable quantitative.
Une valeur de p inférieure ou égale 0,05 a été considérée comme significative.
Le risque ratio et son intervalle de confiance à 95% ont été déterminés pour quantifier l'association entre les mutations majeures de résistance et la durée de TARV.

II.2.8 Considérations éthiques

Au cours de cette étude, l'identité et l'adresse de chaque sujet inscrit sur le dossier sont restées confidentielles et ne feront l'objet d'aucune publication.
Les fiches d'enquête comportaient seulement un code d'identification à la place du nom et prénom et les données recueillies n'ont pas servi à d'autres fins.

II.2.9 Difficultés rencontrées et limites de l'étude

Nous avons non seulement manqué un nombre non négligeable de bulletins de tests génotypiques réalisés, mais aussi d'autres dossiers retrouvés étaient incomplets.
Ces bulletins étant souvent transmis par courrier électronique à partir du site d'analyse des échantillons, certains d'entre eux n'ont jamais été imprimés et classés dans le dossier médical du patient concerné après avoir été reçus par les structures de suivi solliciteuses.
Enfin, nous nous sommes heurtés à la rareté des études similaires au niveau national, pouvant servir de référence.
Malgré ces limites et insuffisances, cette étude permet d'avoir un aperçu sur les mutations de résistance aux traitements ARV chez les PVVIH/Sida au Burundi.

CHAPITRE III. RESULTATS

III.1 Echantillon

De 2010 à 2016, 176 prélèvements de sang sur papier-buvard des PVVIH/Sida sous TARV depuis au moins 12 mois en état d'échec thérapeutique ont été envoyés au laboratoire de virologie du CHU Pontchaillou de Rennes pour des tests de résistance. Parmi ces échantillons, 63 (36 %) étaient amplifiables et ont été génotypés et 30 (17 %) ont été retenus pour faire objet de notre étude.
Le reste, 33 échantillons n'ont pas été retenus dans l'étude car les résultats de génotypage n'ont pas été retrouvés.

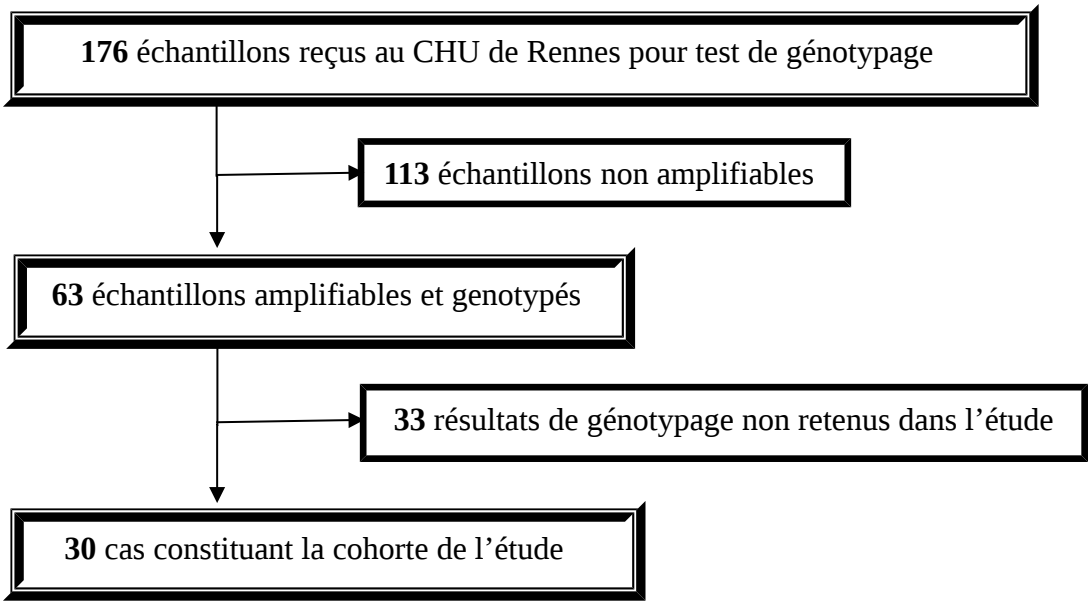


Figure 7. Diagramme d'inclusion des patients.

III.2 Sites de suivi des patients

Nos patients ont bénéficié le suivi du TARV dans six différents sites de prise en charge ou de suivi des PVVIH/Sida regroupés dans 3 types de structures de santé.
Un nombre des patients inclus dans l'étude étaient suivis auprès des Centres Nationaux de Référence de Suivi Médical et Psychosocial des PVVIH/Sida. D'autres patients étaient suivis auprès des Centres de Prise en Charge en Ambulatoire des PVVIH/Sida situés dans deux hôpitaux de référence du Burundi.
Aussi, un Dispensaire privé bien organisé avait assuré le suivi des certains patients concernés par notre étude.

Tableau 3. Répartition des patients selon les sites de suivi

Structure	Site de suivi	Effectif	Pourcentage (%)
CPAMP	CPAMP–CHUK	4	13
	CPAMP–HPRC	5	17
CNRSMPP	ANSS	10	33
	SWAA BURUNDI	6	20
	NOUVELLE ESPERANCE	1	4
DISPENSAIRE	DISPENSAIRE DE LA BRARUDI	4	13
Total	**6 sites**	30	100

Dans notre série, 9/30 (30 %) patients étaient suivis au CPAMP–CHUK et au CPAMP–HPRC. Les structures associatives que sont l'ANSS, le SWAA–BURUNDI ainsi que la nouvelle Espérance prenaient en charge 17/30 (57 %) patients.
Le reste, 4/30 (13 %) patients étaient suivis dans le Dispensaire de la Brarudi.

III.3 Caractéristiques sociodémographiques des patients

III.3.1 Age

Dans notre série, l'âge moyen était de 37 ans avec des extrêmes d'âge de 8 ans et de 60 ans.

Tableau 4. Répartition des patients en fonction de l'âge

Répartition selon les tranches d'âge	Effectif	Pourcentage (%)

< 20 ans	6	20
Entre 20–40 ans	8	27
Entre 41–60 ans	16	53
Total	30	100

La tranche d'âge la plus représentée était celle de 41 à 60 ans avec 16 sur 30 (53%) patients.

III.3.2 Sexe

Notre échantillon était composé de 15/30 (50%) femmes et de 15/30 hommes (50%). Le sexe ratio était de 1.

III.4 Caractéristiques clinico-biologiques des patients

III.4.1 Classification en stades cliniques selon l'OMS

La classification en stades cliniques selon l'OMS a été utilisée chez nos patients à l'initiation du TARV ainsi qu'au moment du diagnostic de l'échec thérapeutique ayant indiqué la réalisation du test de résistance.

Tableau 5. Répartition des patients selon les stades cliniques de l'OMS à l'échec du TARV comme à l'initiation du TARV

	A l'initiation du TARV		**A l'échec du TARV**	
Stade clinique de l'OMS	**Effectif**	**Pourcentage (%)**	**Effectif**	**Pourcentage (%)**
I ou II	3	12,5	3	12,5
III ou IV	21	87,5	21	87,5
Total	24	100	24	100

Dans notre étude, à l'initiation du TARV comme au diagnostic de l'échec thérapeutique, 21/24 (87,5 %) patients avaient un stade clinique classé III ou IV.

III.4.2 Taux de CD4

Le taux de CD4 a été réalisé chez 20 patients à l'initiation du TARV et chez 23 patients au moment de l'échec thérapeutique ayant indiqué la réalisation du test de résistance. Les patients ont été répartis selon le nombre du taux de CD4 relatif au niveau de l'immunodépression.

Tableau 6. Répartition des patients selon le taux de CD4 au début et à l'échec du TARV

Répartition du taux de CD4 suivant le degré d'immunodépression	Effectif au début du TARV (%)	Effectif à l'échec du TARV (%)	p selon Mann Whitney
< 200 cellules/mm^3	14 (70)	12 (52)	0,151
200 < X >500 cellules/mm^3	6 (30)	8 (35)	0,886
>500 cellules/mm^3	0 (00)	3 (13)	–
Total	20 (100)	23 (100)	0,931

Dans notre série, à l'initiation du TARV, 14/20 (70 %) malades avaient un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm^3, 6/20 (30 %) malades avaient un taux de CD4 compris entre 200 et 500 cellules/mm^3, et aucun malade n'avait un taux de CD4 supérieur à 500 cellules/mm^3.

Dans notre série, au moment du diagnostic de l'échec du TARV 12/23 (52 %) malades avaient un taux de CD4 inférieur 200 cellules/mm^3, 8/23 (35 %) avaient un taux de CD4 compris entre 200 et 500 cellules/mm^3, et 3/23 (13%) avaient un taux de CD4 supérieur à 500 cellules/mm^3.

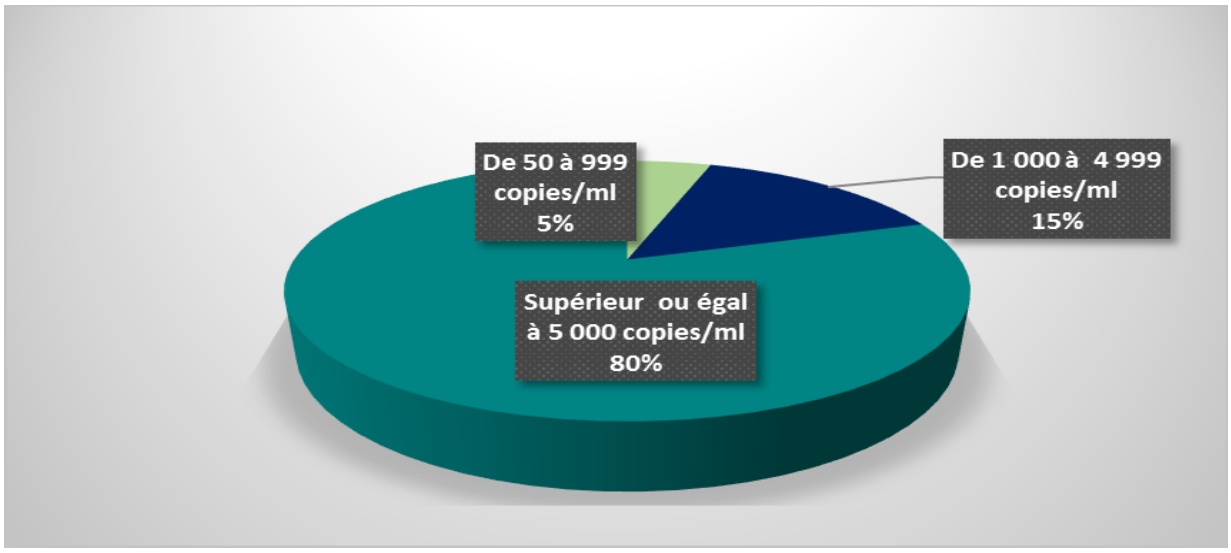
Le test U de Mann Whitney à échantillons associés appliqué aux distributions du taux de CD4 d'avant le TARV et au moment du diagnostic de l'échec du TARV n'était pas significatif.

La médiane du taux de CD4 était de 174 cellules/mm^3 à l'initiation du TARV et de 196 cellules/mm^3 au moment du diagnostic de l'échec thérapeutique.

III.4.3 Charge Virale après au moins 12 mois de traitement antirétroviral

Au cours du suivi sous traitement, la mesure de la charge virale a été effectuée après au moins 12 mois de TARV suite à un échec clinique ou immunologique.
Dans notre série, 20 malades présentaient les résultats de la CV au moment du diagnostic de l'échec thérapeutique ayant indiqué le test de résistance.

Graphique 3. Répartition des patients selon la CV au diagnostic de l'échec thérapeutique



Parmi les 20 malades :

- 16 (80 %) avaient une charge virale supérieure ou égale à 5 000 copies/ml
- 3 (15 %) avaient une charge virale comprise entre 1 000 et 5 000 copies/ml
- 1 (5 %) avaient une charge virale détectable inférieure à 1 000 copies/ml.

La charge virale médiane était de 144 570 copies/ml avec une charge virale minimale de 60 copies/ml et une charge virale maximale de 15 640 000 copies/ml.

III.5 Observance thérapeutique

Dans notre étude, les malades qui étaient réguliers au renouvellement de leurs ordonnances et sans antécédents d'inobservance au TARV ont été considérés comme ayant une bonne observance thérapeutique tandis que les patients irréguliers au renouvellement de leurs ordonnances ou ayant connu des périodes d'inobservance ont été considérés comme non observant au TARV. Cette inobservance a été catégorisée en irrégularité de suivi en termes de mois.
Certains malades avaient connu un arrêt momentané du TARV.

Dans notre série, sur 26 patients qui présentaient des données sur l'observance thérapeutique, 10/26 (38 %) avaient une bonne observance au TARV et 16/26 (62 %) patients avaient une mauvaise observance à la prise du TARV.

Parmi les 10 patients observant au TARV, 4 (40 %) patients avaient au préalable changé de site de suivi pour cause peu connue après avoir bénéficié d'un suivi probablement irrégulier sous TARV dans d'autres structures de suivi.
Et Parmi les 16 patients inobservants au TARV, l'irrégularité de suivi en terme de mois avait été retrouvée chez 5 (31 %) patients que ce soit pour une durée d'irrégularité de 3 mois comme pour une durée d'irrégularité supérieure à 3 mois.

Quant à l'irrégularité de suivi marquée par un arrêt momentané du TARV, elle a été retrouvée chez 6 (38 %) patients inobservants.

Tableau 7. Répartition des patients selon l'observance au TARV par rapport au sexe

		Observance			
		Bonne		Mauvaise	
		Effectif	%	Effectif	%
Sexe	Masculin	3	30	11	69
	Féminin	7	70	5	31
Total		10	100	16	100

Par ailleurs, sur les 16 patients inobservants au TARV, 11/16 (69 %) étaient des hommes contre 5/16 (31 %) qui étaient des femmes. En même temps, sur les 10 patients observant au TARV, 7/10 (70 %) étaient des femmes contre 3/10 (30 %) qui étaient des hommes.

Une association significative entre le sexe masculin et une mauvaise observance au TARV ou entre le sexe féminin et une bonne observance au TARV a été observée chez nos patients (le test khi^2 de Pearson a trouvé un **p = 0,05**).

III.6 Traitements antirétroviraux

III.6.1 Traitements antirétroviraux avant le diagnostic de l'échec thérapeutique

Dans notre série, 25 malades présentaient des données complètes du TARV depuis son initiation jusqu'à l'échec thérapeutique qui a indiqué le test de résistance.
Parmi ces malades :

- 16 (64 %) avaient été mis au moins une fois uniquement sous première ligne
- 7 (28 %) avaient été mis au moins une fois sous deuxième ligne après avoir bénéficié au moins une fois d'un TARV de première ligne
- 2 (8 %) avaient été mis au moins une fois sous bithérapie 2 INTIs avant de passer sous trithérapie.

III.6.2 Traitements antirétroviraux après le diagnostic de l'échec thérapeutique

Dans notre étude, 28 sur 30 malades présentaient des données complètes du TARV après le diagnostic de l'échec thérapeutique.
La majorité d'entre ces malades ont pu bénéficier d'un changement probabiliste de TARV avant la réalisation du test de résistance.

Tableau 8. Traitements antirétroviraux au moment du test de résistance

Schéma de TARV	Nombre de patients	Pourcentage (%)
abc_ddi_lpv_rtv	11	39,28
azt_3tc_lpv_rtv	3	10,71
abc_tdf_lpv_rtv	3	10,71
abc_3tc_lpv_rtv	2	7,14
3tc_tdf_atv_rtv	2	7,14
ftc_tdf_lpv_rtv	1	3,57
abc_nvp_amp_rtv	1	3,57
3tc_d4t_efv	1	3,57
azt_3tc_nvp	2	7,14
azt_3tc_efv	1	3,57
abc_3tc_tdf	1	3,57
Total	28	100

Parmi ces 28 malades :

- 23 (82 %) ont bénéficié d'un changement de ligne thérapeutique avec mise sous deuxième ligne ou changement d'intention dans le schéma thérapeutique de deuxième ligne
- 4 (14 %) malades ont été maintenus sous première ligne
- 1 (4 %) malade, suite à une lipodystrophie associée à l'échec thérapeutique, a été mis sous la combinaison : 3tc_abc_tdf.

III.7 Durée du traitement antirétroviral et mise en évidence de l'échec thérapeutique

Dans notre étude, la durée de suivi moyenne des malades sous TARV avant l'échec thérapeutique ayant indiqué la réalisation du test de résistance était de 57,5 mois.
Par ailleurs, la réalisation du test de résistance n'était pas immédiate et la durée totale de TARV était par conséquent prolongée jusqu'à 67 mois en moyenne.
Les extrêmes de la durée du TARV étaient respectivement de 16 mois et de 194 mois.
Parmi les 30 malades :

- 16 (53 %) avaient été sous TARV depuis plus de 60 mois
- 6 (20 %) avaient été sous TARV depuis 37 à 60 mois
- 8 (27 %) avaient été sous TARV depuis 13 à 36 mois.

La surveillance du TARV avait été faite par des critères cliniques et immunologiques.
La mise en évidence de l'échec thérapeutique après plus de 12 mois de TARV avait été assurée par un échec virologique.
Au cas échéant, l'échec thérapeutique pouvait être orienté par un stade clinique OMS III ou IV isolé ou associé à une immunodépression sévère.

Tableau 9. Répartition des cas d'échec thérapeutique

Mise en évidence de l'échec thérapeutique	Nombre de cas	Pourcentage (%)
Clinique	3	12,50
Immunologique	3	12,50
Virologique	18	75,00
Total	24	100

Chez 24 malades qui avaient des données complètes sur l'échec thérapeutique, la mise en évidence avait été assurée pour :

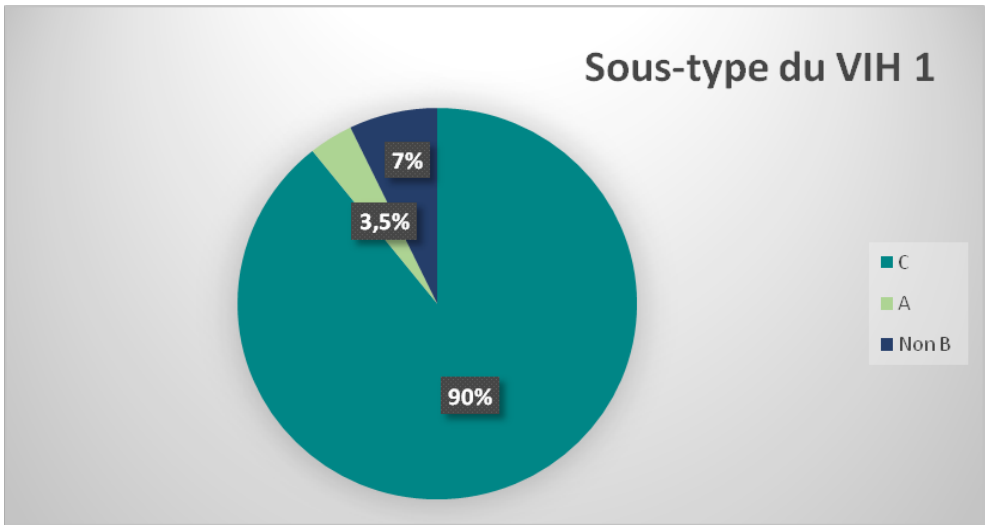
- 18 (75 %) par un échec virologique
- 3 (12,5 %) par un échec immunologique
- 3 (12,5 %) par un échec clinique

Le coefficient de corrélation R^2 entre l'échec virologique et l'échec immunologique ou clinique était égal à 0,36927.

III.8 Sous-type viral

Trois sous-types viraux ont été retrouvés parmi les échantillons testés de nos patients, tous appartenant au VIH de type 1.

Graphique 4. Repartition des patients selon le sous-type viral



Dans notre série, la repartition des patients selon le sous-type viral était comme suit :

- 27/30 (90 %) patients portaient le sous-viral C
- 1/30 (3 %) patient portait le sous-types A
- 2/30 (7 %) patients portaient sans précision un sous-type non B.

III.9 Mutations de résistance du VIH–1

III.9.1 Prévalence des mutations de résistance

Dans notre série, sur les 30 malades qui avaient bénéficié du génotypage :

- 22 (73 %) avaient au moins une mutation de résistance sur les gènes codant pour la transcriptase inverse. Parmi ces malades :
  - 21 avaient au moins une mutation associée à la résistance aux INTIs
  - 21 avaient au moins une mutation associée à la résistance aux INNTIs
  - 5 avaient une mutation de résistance simultanément sur les gènes codant pour la transcriptase inverse et pour la protéase.
- 1 (3 %) avait des mutations de résistance uniquement sur les gènes codant pour la protéase.
- 7 (23 %) avaient des mutations de résistance sur les gènes codant pour la protéase et/ou la transcriptase inverse mais sans résistance.

III.9.2 Nombre des mutations de résistance

Dans notre série, un total de 168 cas des mutations de résistance ont été retrouvées :

- 114 (68 %) sur les gènes codant la transcriptase inverse :
  - 76 associées aux INTIs (soit une proportion de 67 %)
  - 38 associées aux INNTIs (soit une proportion de 33 %)
- 54 (32 %) sur les gènes codant la protéase.

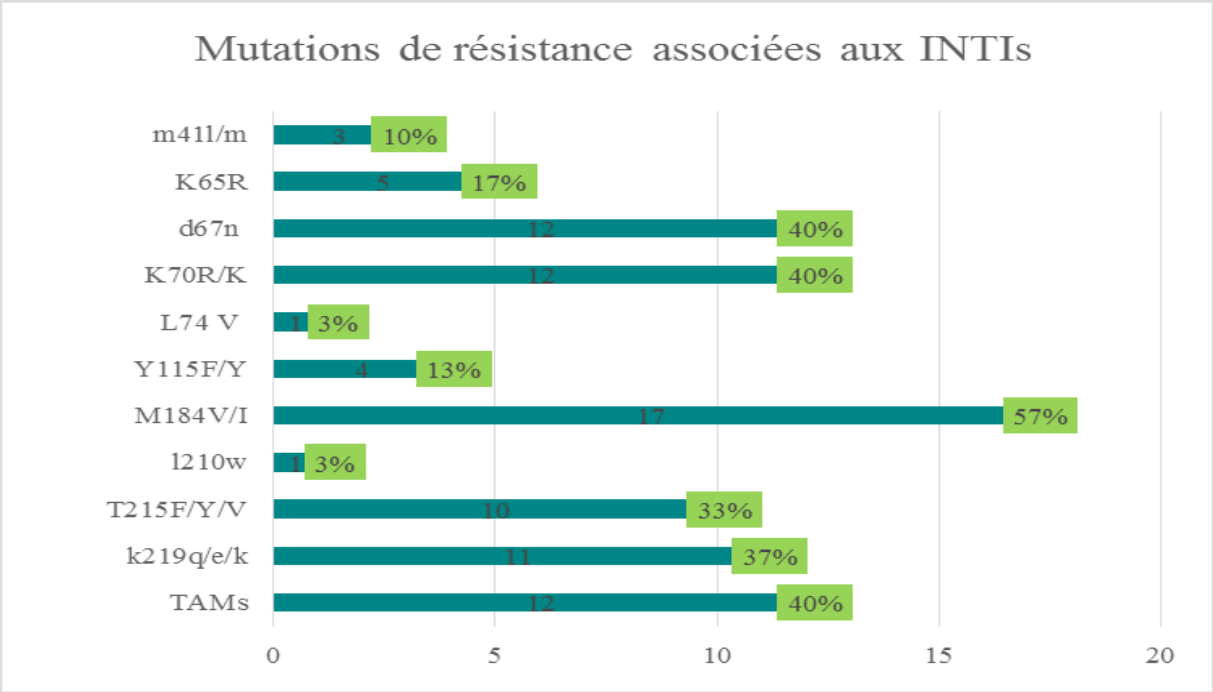
III.9.3 Fréquence des mutations de résistance

III.9.3.1 Mutations associées aux inhibiteurs de la transcriptase inverse

a. Fréquence des mutations de résistance associées aux Inhibiteurs nucléos(t)idiques de la transcriptase inverse

La présence des mutations de résistance sur les gènes codant pour la transcriptase inverse était retrouvée chez 22 sur 30 (73 %) des malades.
Pour 21 parmi ces 22 malades, les mutations de résistance étaient associées aux inhibiteurs nucléos(t)idiques de la transcriptase inverse.

Graphique 5. Fréquence des Mutations de résistance associées aux INTIs



Dans notre série, à part la mutation majeure M184IV qui était présente chez 17/30 (57 %) malades, d'autres mutations majeures principalement observées étaient la mutation K70R/K rencontrée chez 12/30 (40 %) des malades et la mutation T215F/Y/V chez 10/30 (33 %) des malades.
Certaines mutations mineures avaient une fréquence élevée : la mutation d67n rencontrée chez 12/30 (40 %) des malades et la mutation k219q/e/k présente chez 11/30 (37 %) des malades.

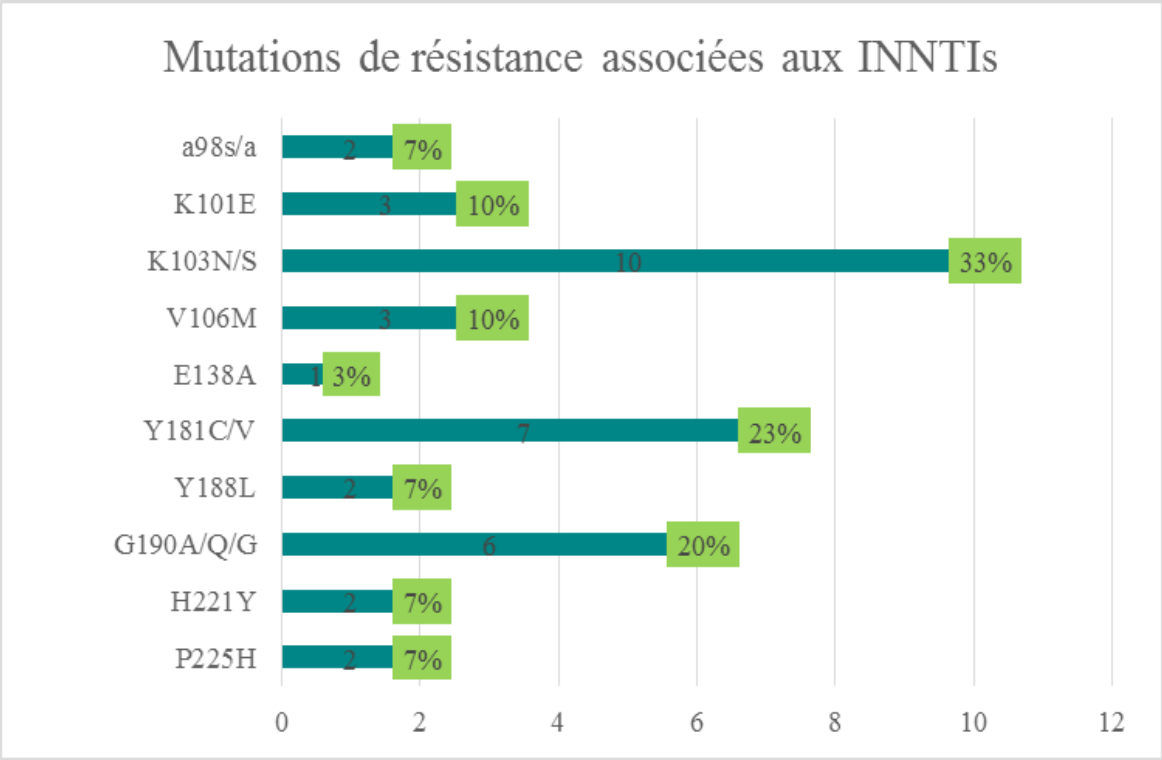
D'autres mutations de résistance des gènes codant pour la TI associées aux INTIs étaient moins fréquentes avec chacune respectivement : m41l/m 3/30 (10 %), K65R 5/30 (17 %), L74V 1/30 (3 %), Y115 F/Y 4/30 (13 %), l210w 1/30 (3 %).

Le groupe des TAMs qui contient les mutations T215Y/F/V, m41l, l210w, K70R, d67n, et k219q/e était représenté chez 12/30 (40 %) des malades.

b. Fréquence des mutations de résistance associées aux Inhibiteurs non nucléos(t)idiques de la transcriptase inverse

Parmi les 22 malades qui présentaient des mutations de résistance sur les gènes codant pour la transcriptase inverse, 21 malades avaient des mutations de résistance qui étaient associées aux inhibiteurs nucléos(t)idiques de la transcriptase inverse.

Graphique 6. Fréquence des mutations de résistance associées aux INNTIs

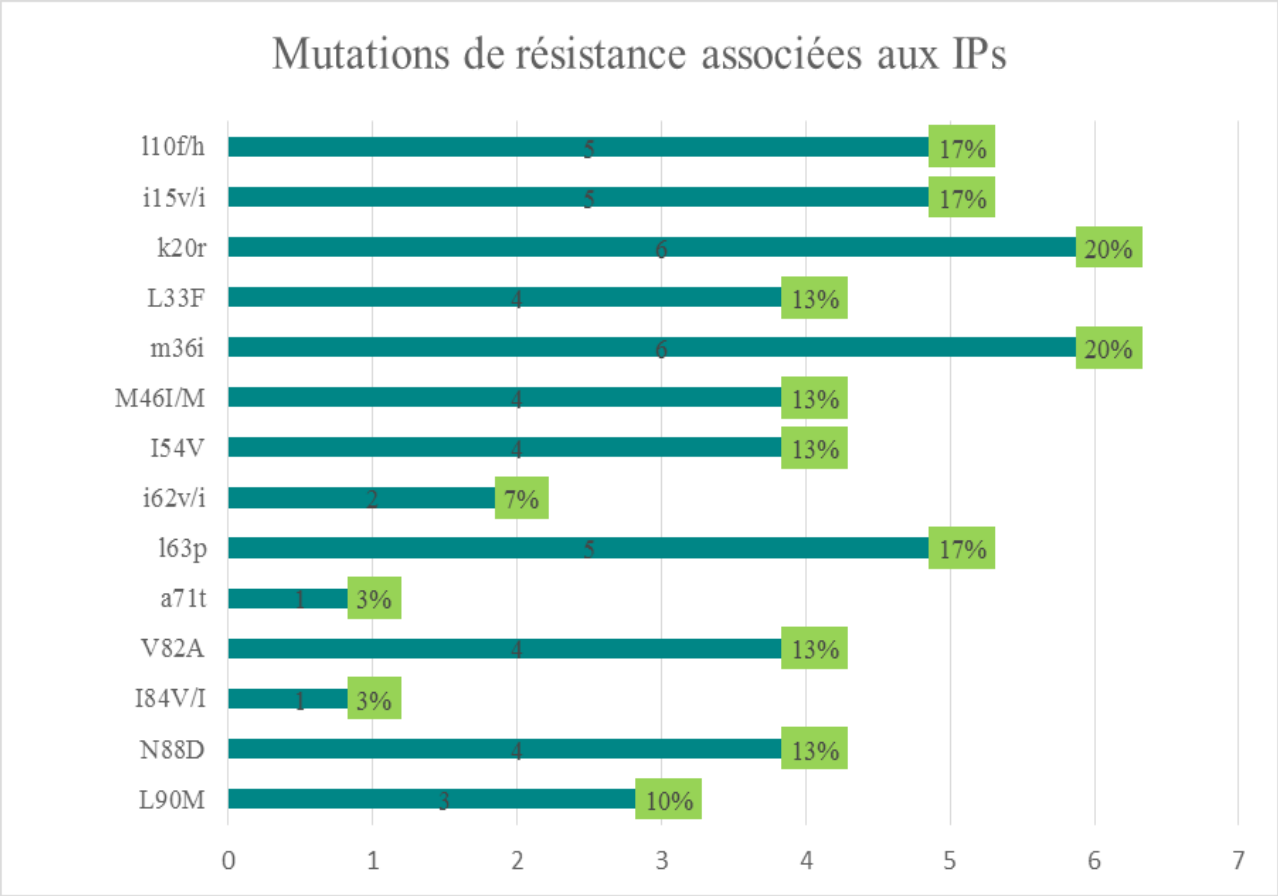


Les mutations majeures communes associées à la résistance aux INNTIs telles que la mutation K103N/S présentes chez 10/30 (33 %) des malades, la mutation Y181C/V présentes chez 7/30 (23 %) des malades ainsi que la mutation G190Q/A/G présentes chez 6/30 (20 %) des malades, dominaient cette catégorie.
D'autres mutations associées à la résistance aux INNTIs avaient comme fréquence respective : K101E 3/30 (10 %), V106M 3/30 (10 %), a98s/a 2/30 (7 %), Y188L 2/30 (7 %), H221Y 2/30 (7 %), P225H 2/30 (7 %) et E138A 1/30 (3 %).

III.9.3.2 Mutations associées aux inhibiteurs de la protéase

Dans notre étude, 6/30 (20 %) des malades présentaient des mutations de résistance sur les gènes codant pour la protéase.

Graphique 7. Fréquence des Mutations de résistance associées aux IPs



Dans notre série, les mutations majeures associées à la résistance aux IPs pour nos 30 patients avaient comme fréquence respective : L33F 4/30 (13 %), M46I/M 4/30 (13 %), I54V 4/30 (13 %), V82A 4/30 (13 %), N88D/S 4/30 (13 %) et L90M 3/30 (10 %), I84V 1/30 (3 %).

Les mutations mineures associées aux IPs pour nos 30 patients avaient comme fréquence respective : k20r 6/30 (20 %), m36i 6/30 (20 %), l10f 5/30 (17 %), i15v 5/30 (17 %), l63p 5/30 (17 %), i62v 2/30 (7 %), a71t 1/30 (3 %).

III.10 Accumulation des Mutations de Résistance

III.10.1 Mutations associées à la résistance aux Inhibiteurs de la Transcriptase Inverse.

Dans notre étude, le nombre des mutations associées à la résistance aux Inhibiteurs de la Transcriptase Inverse semblait augmenter avec la durée de TARV.

Nous nous sommes référés dans l'analyse de l'accumulation de ces mutations, sur 4 mutations majeures que sont :

- La mutation M184V/I qui représente principalement les mutations discriminantes
- La mutation T215Y/F qui représente les TAMs
- Les deux mutations INNTIs les plus communes : la K103N/S et la Y181C/V.

Tableau 10. Mutations associées à la résistance aux ITIs selon la durée du TARV

Mutations susceptibles de résistance aux ITIs	12 – 60 mois (%)	> 60 mois (%)	Total (%)	p selon le khi² de Pearson
m41l/m	2(66,66)	1(33,33)	3(100)	–
K65R	4(80,00)	1(20,00)	5(100)	–
d67n	3(25,00)	9(75,00)	12(100)	–
K70R/K	3(25,00)	9(75,00)	12(100)	–
L74V	0(00,00)	1(100)	1(100)	–
Y115 F/Y	2(50,00)	2(50,00)	4(100)	–
M184V/I	**8(47,06)**	**9(52,94)**	17(100)	0,961
l210w	1(100)	0(00,00)	1(100)	–
T215F/Y/V	**3(30,00)**	**7(70,00)**	10(100)	0,196
k219q/e/k	2(18,18)	9(81,81)	11(100)	–
a98 sa	1(50,00)	1(50,00)	2(100)	–
K101E	3(100)	0(00,00)	3(100)	–
K103N/S	**2(20,00)**	**8(80,00)**	10(100)	**0,038**
V106M	0(00,00)	3(100,00)	3(100)	–
E138A	1(100)	0(00,00)	1(100)	–
Y181C/V	**3(42,86)**	**4(57,14)**	7(100)	0,818
Y188L	2(100)	0(00,00)	2(100)	–
G190A/Q/G	3(50,00)	3(50,00)	6(100)	–
H221Y	1(50,00)	1(50,00)	2(100)	–
P225H	0(00,00)	2(100,00)	2(100)	–
Total	**44(39)**	**70(61)**	**114(100)**	

Dans notre série, 70/114 (61 %) de mutations associées à la résistance aux ITIs avaient été retrouvées chez des patients ayant une durée de TARV supérieur à 60 mois et 44/114 (39 %) de ces mutations avaient été retrouvées chez des patients ayant une durée de TARV comprise entre 12 et 60 mois.

De même, 62/114 (55 %) de mutations associées à la résistance aux ITIs avaient été retrouvées chez des patients observant au TARV.

Quant à la charge virale, 60/114 (53 %) de mutations associées à la résistance aux ITIs avaient été retrouvées chez des patients ayant plus de 5 000 copies/ml.
Néanmoins, 34/114 (30 %) de mutations associées à la résistance aux ITIs appartenaient à des patients n'ayant pas de données sur la charge virale.

Tableau 11. Analyse univariée des facteurs de risque d'accumulation des mutations de résistance aux ITIs.

Mutations de résistance	Risque ratio	Intervalle de confiance à 95 %
M184 V/I	1,154	0,515 – 2,580
T215 F/Y/ V	2,333	1,231 – 4,419
K103 N/S	**3,999**	0,924 – 17,287
Y181 C/V	1,333	0,649 – 2,731

Dans notre série, la mutation K103N/S présentait un risque ratio plus significatif que les autres mutations majeures analysées.

Les patients qui étaient sous TARV pendant une durée supérieure à 60 mois avaient 80 % de chance de plus de développer la mutation K103N/S et un risque relatif 4 fois beaucoup plus supérieur d'avoir cette mutation par rapport aux patients qui avaient une durée de TARV comprise entre 12 et 60 mois.
L'accumulation de cette mutation était significativement liée à l'allongement de la durée de traitement (**p= 0,038**).

Les autres mutations majeures de résistance associées aux ITIs qui ont été analysées notamment la mutation T215Y/F présentaient aussi un profil d'accumulation croissant suivant l'allongement de la durée de traitement mais sans que cela ne soit statistiquement significatif.

III.10.2 Mutations associées à la résistance aux Inhibiteurs de la Protéase

Dans notre étude, le nombre des mutations associées à la résistance aux Inhibiteurs de de la Protéase ne semblait pas augmenter avec la durée de TARV.
Parmi les 13 positions souvent sélectionnées en premier dans la résistance associées aux IPs, 7 mutations majeures avaient été retrouvées.
Dans l'analyse de l'accumulation des mutations associées à la résistance aux Inhibiteurs de la Protéase, nous nous sommes référés sur 5 mutations majeures

d'entre elles qui étaient rencontrées chez au moins 4 patients : L33F, M46I/M, I54V, V82A, N88D.

Tableau 12. Mutations associées à la résistance aux IPs selon la durée du TARV

Mutations susceptibles de résistance aux IPs	12–60 mois (%)	> 60 mois (%)	Effectif total (%)	p selon le khi² de Pearson
l10f/h	4(80,00)	1(20,00)	5(100)	–
i15v/i	4(80,00)	1(20,00)	5(100)	–
k20r	4(66,66)	2(33,33)	6(100)	–
L33F	**3(75,00)**	**1(25,00)**	4(100)	0,540
m36i/k	4(66,66)	2(33,33)	6(100)	–
M46I/M	**4(100)**	**0(00,00)**	4(100)	**0,014**
I54V	**3(75,00)**	**1(25,00)**	4(100)	0,540
i62v/i	1(50,00)	1(50,00)	2(100)	–
l63p	4(80,00)	1(20,00)	5(100)	–
a71t	1(100)	0(00,00)	1(100)	–
V82A	**2(50,00)**	**2(50,00)**	4(100)	0,540
I84V/I	1(100)	0(00,00)	1(100)	–
N88D	**3(75,00)**	**1(25,00)**	4(100)	0,540
L90M	2(66,66)	1(33,33)	3(100)	–
Total	**40(74)**	**14(26)**	**54(100)**	

Dans notre série, 40/54 (74 %) de mutations associées à la résistance aux IPs avaient été retrouvées chez des patients ayant une durée de TARV comprise entre 12 et 60 mois alors que 14/54 (26 %) de ces mutations étaient portées par des patients ayant plus de 60 mois de TARV.

Tous les 4 patients (100 %) qui portaient la mutation majeure M46I/M, avaient moins de 60 mois de traitement et aucun patient (0 %) n'avait plus de 60 mois de TARV.
L'accumulation de cette mutation n'était pas proportionnelle à l'allongement de la durée du traitement. Cette hypothèse était statistiquement significative (**p=0,014**).
D'autres mutations associées à la résistance aux inhibiteurs de la protéase dont la mutation majeure I54V, présentaient un profil d'accumulation similaire à celui de la mutation M46I/M mais sans que cela ne soit statistiquement significatif.
Ainsi, l'allongement de la durée de TARV n'était pas considéré comme un facteur associé au risque d'accumulation des mutations de résistance sur les gènes codant la protéase chez nos patients.

Tableau 13. Mutations associées à la résistance aux IPs selon l'observance au TARV

Mutations susceptibles de résistance aux IPs	Bonne Observance (%)	Mauvaise Observance (%)	Total (%)	p selon le khi² de Pearson
l10f/h	0(00,00)	5(100)	5(100)	–
i15v/i	0(00,00)	5(100)	5(100)	–
k20r	1(16,66)	5(83,33)	6(100)	–
L33F	0(00,00)	**4(100)**	4(100)	0,121
m36i/k	1(16,66)	5(83,33)	6(100)	–
M46I/M	0(00,00)	**4(100)**	4(100)	0,121
I54V	0(00,00)	**4(100)**	4(100)	0,121
i62v/i	0(00,00)	2(100)	2(100)	–
l63p	0(00,00)	5(100)	5(100)	–
a71t	0(00,00)	1(100)	1(100)	–
V82A	0(00,00)	**4(100)**	4(100)	0,121
I84V/I	0(00,00)	1(100)	1(100)	–
N88D	**0(00,00)**	**4(100)**	4(100)	0,121
L90M	**0(00,00)**	3(100)	3(100)	–
Total	**3(6)**	**51(94)**	**54(100)**	

Dans notre étude, 51/54 (94 %) de mutations associées à la résistance aux inhibiteurs de la protéase étaient présentes chez des patients inobservant au TARV et ayant une charge virale élevée au-delà de 5 000 copies/ml.

L'accumulation des mutations majeures associées à la résistance aux inhibiteurs de la protéase était proportionnellement associée à l'inobservance au TARV. Cette hypothèse n'était pas statistiquement significative (**p=0,121**) pour chacune des 5 mutations majeures analysées (L33F, M46I/M, I54V, V82A, N88D).

CHAPITRE IV. DISCUSSION ET COMMENTAIRES

IV.1 Caractéristiques sociodémographiques des patients

Dans notre série, l'âge moyen des patients était de 37 ans avec des extrêmes d'âge de 8 ans et de 60 ans.
L'âge de nos patients est comparable à celui des autres auteurs comme rapporté par d'autres études.

Barengayabo Prosper dans une étude faite en 2011 au Burundi a trouvé une moyenne d'âge de 39 ans [73].
Rusine John et al dans une étude faite au Rwanda en 2013 ont trouvé une moyenne d'âge de 35,1 ans [81].
Adawaye Chatté et al dans une étude faite en 2014 au Tchad ont trouvé une moyenne d'âge de 41 ans [76].
Koigi Peter et al dans une étude faite en 2014 au Kenya ont trouvé une moyenne d'âge 36,9 ans [80].
Kyeyune Fred et al dans une étude faite en 2016 en Ouganda ont trouvé une moyenne d'âge 37 ans [79].

Cette moyenne d'âge est comprise dans l'intervalle de la période d'âge d'activité sexuelle. En effet, malgré une baisse de nouvelles infections à VIH suite à une stratégie de prévention axée principalement sur la transmission par voie sexuelle, celle-ci reste le mode de transmission le plus important, en témoigne une forte incidence chez les professionnels du sexe et dans la catégorie des personnes ayant des pratiques sexuelles à risque.
Les résultats de l'Enquête Démographique et de Santé réalisée en 2010, montrent que chez les femmes comme chez les hommes, la séroprévalence augmente avec l'âge. Chez les femmes, la séroprévalence atteint un maximum de 3,7 % dans le groupe d'âges 35-39 ans et chez les hommes, la prévalence atteint un maximum de 3,3 % à 40-44 ans [4, 93].

En ce qui concerne la tranche d'âge, 16/30 (53 %) de nos patients appartenaient à la tranche d'âge de 41 à 60 ans. Cela s'expliquerait par le fait que les mutations de résistance secondaire s'accumulent suivant la période de TARV et qu'ainsi leur impact ne se manifeste qu'après un allongement de la période de séropositivité et de la durée de traitement ARV.

Aissa S et al ont trouvé que 57,5 % appartenaient à la tranche d'âge de 40 ans à 68 ans [75].

Adawaye C a trouvé 43,7 % des patients inclus dans son étude appartenant à la tranche d'âge de 41 à 60 ans [76].

Dans notre étude, le nombre des femmes était égal à celui des hommes correspondant à un sex-ratio de 1.

La plupart des auteurs, parmi lesquels Diawara M.M et al au Mali [74], Thiam M et al au Sénégal [78], Wallis C.L et al de l'équipe A 5230 [82] ont trouvé un sex-ratio en faveur du sexe féminin.

En effet, la répartition des PVVIH/Sida selon le sexe au niveau global rapporte une féminisation constante de l'épidémie du VIH. Au Burundi des chiffres récents montrent un ratio femme-homme de 1,7 [4, 94].
Un sexe ratio équilibré chez nos patients pourrait s'expliquer suite à la taille réduite de notre échantillon.

IV.2 Caractéristiques clinico-biologiques

Dans notre série, à l'initiation du TARV comme au moment du diagnostic de l'échec thérapeutique ayant indiqué le test de résistance, 87,5 % des patients étaient au stade clinique III ou IV de l'OMS.
Au cours de la maladie sous TARV, seulement 12,5 % des patients avaient connu une légère amélioration clinique avec régression du stade clinique OMS.

Diouf N.L et al au Sénégal ont trouvé que 70 % des patients avaient un stade clinique OMS classé III ou IV au début du TARV [74].

Quant à Hawkins C et al en Tanzanie, ils ont trouvé 76 % des patients inclus dans leur étude étaient au stade clinique classé OMS III ou IV à l'initiation du TARV [84].

A l'initiation du TARV, 14/20 (70 %) malades avaient un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm^3, 6/20 (30 %) malades avaient un taux de CD4 supérieur à 200 et inférieur à 500 cellules/mm^3, et aucun malade n'avait un taux de CD4 supérieur à 500 cellules/mm^3.

Au moment du diagnostic de l'échec du TARV ayant indiqué le test de résistance, 12/23 (52 %) malades avaient une immunodépression sévère avec un taux de CD4 inférieur à 200 cellules/mm^3, 8/23 (35 %) avaient une immunodépression modérée avec un taux de CD4 supérieur à 200 et inférieur à 500 cellules/mm^3, et 3/23 (13 %) avaient un taux de CD4 normal supérieur à 500 cellules/mm^3.

En 2014, les directives nationales de traitement antirétroviral de l'infection VIH préconisait de débuter le TARV à un seuil de CD4 inférieur ou égal à 500 CD4 ou à un stade clinique de l'OMS 3 ou 4 conformément aux directives de l'OMS de 2013.
En 2016, des nouvelles directives nationales sur l'utilisation des ARV précisent que leur utilisation précoce apporte des avantages significatifs en termes de prévention de nouvelles infections à VIH en plus d'améliorer la santé et de prolonger la vie des patients. Désormais, il est recommandé d'initier le TARV chez toute personne dépistée VIH positive peu importe le stade clinique ou le taux de CD4 [5, 95].

Hawkins C et al ont trouvé en Tanzanie en 2016 que 79 % des patients avaient un taux de CD4 < 200 cellules/mm^3 lors de l'échec thérapeutique. Ce taux élevé de

patients présentant une immunodépression sévère était indépendamment liée à une forte élévation de la Charge virale au moment de l'échec virologique [84].

La médiane du taux de CD4 était de 174 cellules/mm^3 à l'initiation du TARV et de 196 cellules/mm^3 au moment du diagnostic de l'échec thérapeutique sans différence statistique significative.

En effet, l'interprétation du taux de CD4 est parfois difficile chez les patients qui commencent le TARV à un stade avancé de la maladie. Le taux de CD4 peut ne pas remonter malgré une charge virale indétectable [95].

La mesure de la charge virale longtemps d'accès peu facile dans le monitoring des PVVIH au Burundi fût constamment recommandée à partir de 2010 dans l'évaluation régulière de la prise en charge thérapeutique et le suivi biologique. Dans la pratique elle est restée intermittente dans la plupart des centres de prise en charge de référence. Elle n'est pas encore recommandée chez les personnes séropositives nouvellement diagnostiquées [95, 96].
C'est ainsi que la charge virale était mesurée chez nos patients qu'après la découverte d'un échec immunologique.

Dans notre série, 16/20 (80 %) patients avaient une charge virale supérieure ou égale à 5 000 copies/ml au moment du diagnostic de l'échec virologique ayant indiqué le test de résistance. La médiane de la charge virale était de 144 570 copies/ml.
Ces résultats sont comparables à ceux des autres auteurs.

Diawara M.M et coll. au Mali en 2013 ont trouvé que 79,4 % des patients inclus dans leur étude avaient une CV supérieure à 5 000 copies/ml au moment de la résistance et que la médiane de la CV était de 28 266 copies/ml [77].
Hawkins C et al en Tanzanie en 2016 ont trouvé que 82 % des patients qui présentaient au moins une mutation avaient une CV > 1 000 copies/ml et que la médiane à l'échec thérapeutique était de 200 279 copies/ml [84].

Adawaye C a trouvé en 2014 au Tchad que 43,75 % avaient une CV > 1 000 copies/ml et la médiane après 8 mois de TARV était de 66 009 copies/ml.
Ce taux d'échec élevé pouvait être expliqué, entre autres, par la faible observance du traitement [76].

IV.3 Observance thérapeutique

Dans notre étude, nous avons trouvé que 10/26 (38 %) patients avaient une bonne observance au TARV et que 16/26 (62 %) avaient une mauvaise observance au suivi du TARV. Parmi les patients observant au TARV, 40 % avaient préalablement changé de site de suivi pour cause non connue après avoir bénéficié d'un suivi probablement irrégulier sous TARV dans d'autres sites.

Adawaye C et al ont trouvé en 2014 au Tchad que 81,25 % des patients étudiés avaient une faible adhérence au TARV. Cette mauvaise adhésion avait diverses causes qui étaient liées soit au patient, à son environnement, à la molécule utilisée et/ou aux services de santé. Certains patients espaçaient la prise des ARV, par oubli ou par négligence [76].

Une mauvaise observance peut entraîner l'échec du TARV et la résistance aux ARV. Les facteurs susceptibles d'influer sur l'observance sont multiples. Ils peuvent être liés à l'efficacité du traitement, ses contraintes de prise ou à ses effets indésirables, essentiellement ceux perçus par le patient, à son adhésion à la stratégie thérapeutique, à ses conditions de vie et à leur évolution, à la présence éventuelle d'une dépression ainsi qu'à l'organisation du système de soins [40].

Dans notre étude, le sexe masculin était associé de manière significative à une mauvaise observance au TARV et simultanément le sexe féminin était significativement associé à une bonne observance au TARV (p= 0,05).

La grande majorité des études ne retrouvent aucun lien entre la qualité de l'observance thérapeutique et le sexe des patients [97].
Néanmoins, une étude effectuée au Sénégal a trouvé une meilleure adhérence chez les femmes et a mis en évidence un large sous-échantillon de patients présentant un comportement d'adhérence intermédiaire et risquant de développer une résistance aux ARV. Par ailleurs, le sexe masculin et la faible adhérence au cours du traitement ARV ont été associés de manière indépendante à un taux de mortalité plus élevé [98].

Penot P et al au Burkina Faso ont trouvé que les hommes sous TARV semblaient plus vulnérables à l'échec virologique que les femmes. Cette analyse leur a permis de conclure qu'à part la nécessité de faire des études complémentaires pour confirmer le pronostic plus sombre des hommes et pour déterminer les causes de leur vulnérabilité afin d'optimiser les soins au cours du VIH/SIDA, des efforts devraient être faits pour soutenir davantage l'adhérence des hommes au TARV dans le contexte africain [99].

Ngabirano J-Eric au Burundi a de même trouvé dans son étude sur l'apport de la charge virale VIH dans le suivi biologique des PVVIH sous TARV que le sexe féminin était le plus observant au traitement antirétroviral mais sans différence statistiquement significative [100].

IV.4 Traitements antirétroviraux

Dans notre série, 16/25 (64 %) patients étaient sous TARV de première ligne et 7/25 (28 %) sous traitement de deuxième ligne après avoir bénéficié d'un TARV de première ligne.

Bangoura N et al ont montré dans leur étude faite en Guinée en 2015 que pour 28 patients ayant bénéficié d'un test de génotypage suite à un échec virologique, 87,88 % étaient sous TARV première ligne alors que 12,12 % étaient sous TARV de deuxième ligne [87].

Au moment du génotypage, 23/28 (82 %) patients étaient sous TARV de deuxième ligne après avoir bénéficié d'un changement probabiliste de ligne thérapeutique.

Diawara M.M et coll. au Mali ont trouvé que 84,78 % des patients dans leur étude étaient sous première ligne et que 15,22 % avaient déjà été mis sous deuxième ligne au moment du génotypage [77].

Le nombre élevé des patients sous deuxième ligne s'explique par le fait que le test de résistance était réalisé chez les patients dont le TARV probabiliste de deuxième ligne n'avait pas donné un bon résultat.

IV.5 Echec thérapeutique et durée de traitement antirétroviral

Le diagnostic de l'échec thérapeutique a été posé chez 18/24 (75 %) patients par une CV détectable après 57,5 mois en moyenne de traitement ARV.

Ces résultats sont comparables à ceux des autres auteurs.
Diawara M.M et al au Mali ont trouvé que 39,13 % des patients pour lesquels les caractéristiques liées à la résistance avaient été étudiées présentaient une durée de traitement sous ARV supérieure à 60 mois [77].
Aissa S et al en Tunisie ont trouvé que la durée moyenne de TARV des patients inclus dans leur étude était de 54,5 mois [75].

Bastard M et al au Sénégal ont trouvé que pour une durée médiane du TARV de 91 mois en moyenne, l'adhésion avait diminué de 7% en moyenne par an au cours des 5 premières années [98].
Dans notre étude, parmi les malades suspectés d'avoir une résistance aux ARV et qui ont bénéficié d'un test de génotypage, 16/30 malades (53 %) étaient sous ARV depuis plus de 60 mois. La durée moyenne de TARV était de 67 mois.
D'où un retard de 10 mois en moyenne dans notre étude entre l'échec thérapeutique et la réalisation du test de résistance. Ceci était dû à la non-disponibilité des tests de génotypage au Burundi.

IV.6 Sous-type viral

Parmi les échantillons analysés, 3 sous-types viraux du VIH ont été trouvé.
Il s'agissait du sous-type viral C pour 27 malades (90 %), du sous-type A pour un malade et du sous-type non B, autre que A et C pour 2 malades.

Ssemwanga D et al dans l'actualisation sur la résistance acquise et transmise du VIH-1 en Afrique montrent que les sous-types A (A1, A2, A3, A4 et A5), C, CRF02_AG et G représentaient 85 % des nouvelles infections.
Les sous-types A et D sont stables en Afrique de l'Est, C en Afrique méridionale, A, G, CRF02_AG et le CRF06_cpx en Afrique de l'Ouest, les sous-types B et CRF02_AG en Afrique septentrionnale [90].

Wallis C.L et al ont trouvé que dans les pays à ressources limitées les sous-types C représentent 66 %, les sous-types AE 18 %, les sous-types A1 8% et les sous-types D 7%. La prédominance du sous-type C a été notée dans notre étude ainsi que dans d'autres études similaires faites au Burundi [88, 29].

Cette prédominance du sous-type C est relative aux données épidémiologiques mondiales actualisées sur la diversité des sous-types du VIH–1 qui lui attribue une implication dans 48 % des personnes infectées du VIH sur l'échiquier de la population séropositive mondiale [24].

IV.7 Mutations de Résistance du VIH-1

Dans notre série, 22/30 de patients présentaient au moins une mutation de résistance sur les gènes codant pour la transcriptase inverse soit une prévalence de 73,3 %.

La prévalence des patients ayant des mutations de résistance associées aux INTIs était de 21/30 (70 %).
Les principales mutations majeures retrouvées étaient M184 I/V (57 %), K70R/K (40 %) et T215F/Y/V (33,3 %).
Les autres mutations présentes sur la TI associées à la résistance aux INTIs avaient respectivement chacune pour fréquence : d67n 12/30 (40 %), k219q/e/k 11/30
Les autres mutations présentes sur la TI associées à la résistance aux INTIs étaient d67n (40 %), k219q/e/k (37 %), K65R (17 %), Y115F/Y (13 %), m41l/m (10 %), L74V (3 %), l210w (3 %).
Le groupe des TAMs (T215Y/F, K70R, k219q/e, d67n, m41l et l210w) était représenté chez 12/30 (40 %) de patients qui avaient au moins 1 TAM.

La prédominance de la mutation de résistance majeure M184V/I a été retrouvée dans d'autres études.
Wallis C.L et al en Afrique du Sud ont trouvé une fréquence de la M184 égale à 86 % [82].
Diawara M.M et coll. au Mali ont trouvé une fréquence de la M184 égale à 73% [77].
Adawaye C au Tchad a trouvé une fréquence de la M184 égale à 70 % [76].
Thiam M et al au Sénégal ont trouvé une fréquence de la M184 égale à 35 % [78].
Nahimana J.D et al au Rwanda ont trouvé une fréquence de la M184 égale à 30 % [89].

Hawkins C et al en Tanzanie ont trouvé une fréquence de la M184 égale à 54 % [84].
SSemwanga D a trouvé une fréquence de la M184 égale à 42 % en Afrique centrale et une fréquence de la M184 égale à 54 % en Afrique de l'Est [90].

En effet cette mutation confère une forte résistance à la 3TC/FTC.
Il faut noter que les INTIs ont une barrière génétique variable selon les molécules et qu'en particulier elle est très faible pour la 3TC et la FTC [40].

Les mutations des analogues de la thymidine représentées par la mutation T215F/Y/V qui font développer rapidement des formes révertantes, avaient aussi une fréquence élevée.

Comparées aux souches résistantes ayant des mutations discriminantes, les souches résistantes contenant déjà plusieurs TAMs sont plus susceptibles de continuer à en développer d'autres.
Ainsi, la présence de 4 à 5 TAMs associées à la M184V/I correspond au profil le plus courant de résistance à tous les INTIs. L'accumulation des TAMs est souvent rapportée chez les patients en échec virologique dans les pays du Sud et dans ce contexte, leur nombre augmente avec la durée de TARV [52, 91].

Par ailleurs, cette prévalence élevée des TAMs associés à la M184V/I dans notre population d'étude explique pourquoi la plupart des INTIs ne devraient pas être utilisés en deuxième ligne de traitement.

La prévalence des patients ayant des mutations de résistance associées aux INNTIs étaient de 70% chez nos malades. Les principales mutations majeures communes fréquemment retrouvées étaient la mutation K103N/S (33 %), la mutation Y181C/V (23 %) ainsi que la mutation G190Q/A/G (20 %).

La prédominance de ces mutations avait été retrouvée dans d'autres études.
Wallis C.L et al en Afrique du Sud ont trouvé la K103N/S à une fréquence de 45 % et Y181C/V à une fréquence de 43 % [82].
Thiam M et al au Sénégal ont trouvé la K103N/S à une fréquence 43% et la Y181C/V à une fréquence de 8 % [78].
Diawara M.M et coll. au Mali ont trouvé la K103N/S à une fréquence de 35 % et la Y181C/V à une fréquence de 27 % [77].
Hawkins C et al en Tanzanie ont trouvé la K103N/S à une fréquence de 35 % et la Y181C/V à une fréquence de 24 % [84].
Adawaye C au Tchad a trouvé la K103N/S à une fréquence de 30 % et la Y181C/V à une fréquence de 26 % [76].

SSemwanga D a trouvé en Afrique Centrale la K130N/S à une fréquence de 33 % et la Y181C/V à une fréquence de 30 % et en Afrique de l'Est la K130N/S ainsi que la Y181C/V ayant chacune une fréquence de 30 % [90].
Nahimana J.D et al au Rwanda ont trouvé la K103N/S à une fréquence de 27 % et la Y181C/V à une fréquence de 20% [89].

Les mutations majeures K103N/S et Y181C/V sont non seulement les plus communes mais aussi elles confèrent facilement la résistance aux INNTIs de première génération (EFV et NVP).

Dans notre étude, les patients qui étaient sous TARV pendant plus de 60 mois avaient 80 % de plus de chance de développer la mutation K103N/S et un risque relatif d'avoir cette mutation 4 fois plus supérieur que les patients sous TARV pendant moins de 60 mois.

Dans l'étude de Diawara M.M et al, les patients traités aux ARV pendant plus de 36 mois avaient 69 % de chance de développer la mutation K103N et un risque relatif 1,7 fois plus supérieur que les patients traités pendant moins de 36 mois [77].

Dans notre étude, l'accumulation de la mutation K103N/S était liée de manière significative à l'allongement de la durée de traitement (p=0,038).
En effet, le duovir ® (d4t+3tc) ou le combivir ® (azt+3tc) combiné le plus souvent à la NVP ou à l'EFV avaient été quasiment les seules combinaisons thérapeutiques de première ligne prescrites en première intention chez nos patients.

Comparée aux INTIs et surtout aux IPs, la barrière génétique des INNTIs est plus faible, car une seule mutation suffit généralement à conférer une résistance élevée à EFV/NVP et RPV. En plus, l'association des mutations Y181C/V et K103N/S confère une résistance croisée à l'EFZ et la NVP.
Comme ces mutations ont généralement peu d'impact sur le fitness viral, elles sont relativement bien transmises et persistantes en l'absence de TARV.
D'où il est conseillé de ne pas garder l'EFV, la NVP ou le RPV dans le traitement ARV combiné en cas de mutations de résistance associées aux INNTIs [59].

Dans plusieurs études, un arrêt de traitement ou une accumulation de mutations de résistance due à la longue durée sous traitement sans surveillance virologique expliquent entre autres facteurs un échec thérapeutique [76, 77, 78, 84].

Dans notre étude, l'analyse de l'accumulation des mutations de résistance associées aux inhibiteurs de la transcriptase inverse ne pouvait pas se porter sur le niveau d'élévation de la charge virale et en encore moins sur le niveau de l'inobservance au

TARV. Seul l'allongement de la durée du TARV apparaissait comme le facteur de risque important d'accumulation de ces mutations de résistance.

Les mutations de résistance associées aux inhibiteurs de la protéase était notées chez 6 patients (20 %) dont 5 (17 %) avaient au moins une mutation majeure associée à la résistance aux IPs.
Il s'agissait de L33F (13 %), M46I/M (13 %), I54V (13 %), V82A (13 %), I84V (3 %), N88D/S (13 %) et L90M (10 %).

Nahimana J.A et al au Rwanda ont trouvé des résultats comparables aux nôtres :
I54V (17%), M46I (13 %), V82A/V (13 %), I84V (7 %), L33F (7 %) [89].

Certaines études ont retrouvé une prédominance élevée de la mutation mineure m36/I [77, 89].
Dans d'autres études la fréquence des mutations mineures telles que k20 et l10 étaient retrouvées à des degrés et avec des prédominances variés [76, 78].

Les IPs sont des molécules à forte barrière génétique car ils nécessitent généralement d'accumuler plusieurs mutations de résistance pour voir diminuer significativement leur affinité de liaison avec le site actif de la protéase.
Ainsi, la présence d'au moins trois mutations est habituellement nécessaire pour conférer une résistance aux IPs les plus couramment utilisés [49].

Dans notre série, la prévalence des patients ayant des mutations majeures de résistance aux IPs était relativement moyenne. Par ailleurs, cinq patients présentaient des mutations majeures de résistance simultanément sur les gènes codant la protéase et sur les gènes codant la transcriptase inverse. Ces mutations leur conféraient un profil de résistance à tous les IPs sauf le darunavir ainsi qu'à la quasi-totalité des inhibiteurs de la transcriptase inverse courants et nécessitaient de facto une troisième ligne de TARV.

L'inobservance au traitement et une charge virale très élevée sous TARV de deuxième ligne ont été beaucoup plus liées à un nombre très élevé de mutations associées à la résistance aux inhibiteurs de la protéase.

CHAPITRE V. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

V.1 CONCLUSION

Les mutations de résistance du VIH–1 sont présentes au Burundi et constituent un facteur important de l'échec thérapeutique chez les PVVIH/Sida sous TARV.

Les résultats de notre étude ont mis en évidence que la tranche d'âge de plus de 40 ans représentait la catégorie la plus touchée.
Le TARV avait été initié à un stade clinique avancé selon la classification de l'OMS de l'infection à VIH, associé à un taux moyen de CD4 effondré sans gain clinico-immunologique et avec une charge virale détectable très élevée après au moins 12 mois de TARV.
La plupart des patients avaient été irréguliers au TARV avec une association significative entre le sexe masculin et une mauvaise observance thérapeutique.
La majorité des patients avaient bénéficié d'un monitoring moins optimal de la survenue de l'échec thérapeutique.
Avant la réalisation du test génotypique, nos malades avaient bénéficié d'un traitement probabiliste ARV avec comme conséquence, l'accumulation des mutations de résistance.
Nos patients portaient exclusivement le VIH de type 1 et majoritairement le sous-type C. Les sous-types A et non B étaient minoritaires.
La prévalence des patients ayant des mutations de résistance sur les gènes codant pour la transcriptase inverse était élevée.
L'accumulation de la mutation K103N/S était significativement liée à l'allongement de la durée du TARV.

La prévalence des patients ayant des mutations majeures de résistance retrouvées sur les gènes codant pour la protéase était relativement moyenne.
L'accumulation des mutations majeures associées à la résistance aux IPs était plutôt liée à une inobservance thérapeutique ainsi qu'à une élévation importante de la charge virale plutôt qu'à l'allongement de la durée du TARV.

V.2 RECOMMANDATIONS

Au terme de cette étude, nous formulons les recommandations suivantes :

Aux Autorités politiques et sanitaires de :

- Doter les laboratoires publics d'appareils pour la réalisation du dosage des CD4 et de la quantification de la charge virale
- Rendre accessible la réalisation des tests de résistance
- Faciliter la disponibilité de tous les schémas thérapeutiques des médicaments ARV existants
- Inclure dans le schéma national de prise en charge du VIH/SIDA, la réalisation préalable des tests de résistances aux ARV pour faire une bonne combinaison thérapeutique

Au personnel soignant :

- Médecins travaillant dans les centres de prise en charge des PVVIH/SIDA de :
    - Faire une surveillance régulière clinique et biologique mais surtout virologique de leurs patients au cours du TARV
    - Renforcer les séances d'observance des patients qui vont bénéficier d'un changement de ligne de TARV
    - Prescrire les molécules les moins toxiques si possible

Aux Personnes Vivant avec le VIH de :

- Faire une bonne observance du TARV, qui est un élément essentiel du succès du traitement
- Respecter le protocole de suivi et les rendez-vous.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. OMS.VIH/SIDA. [En ligne] c2017 [Mise à jour en juillet 2019 ; Consulté en juin 2017] Informations générales (3) ; [environ 3 écrans].
Disponible sur : https://www.who.int/topics/hiv_aids/fr/

2. Barré-Sinoussi F, Chermann J.C, Rey F, Nugeyre M.T, Chamaret S, Gruest J, Dauguet C et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk of Acquired Immune deficiency Syndrom (AIDS). *Science* 1983; 220 (4599): 868–871.

3. OMS. Le point sur le traitement de l'infection à VIH dans le monde: résultats, impact et opportunités. Genève; Juin 2013.p7–12. Disponible sur : https://www.who.int/hiv/pub/progressreports/update2013/fr/ [Consulté en juin 2017]

4**.** ONUSIDA et Ministère de la Santé Publique et de Lutte contre le Sida de la République du Burundi Rapport d'activités sur la lutte contre le sida et rapport sur les progrès enregistrés vers un accès universel au Burundi. Genève; Juin 2015.p6–20. Disponible sur : https://www.unaids.org/sites/default/files/country/documents/BDI_narrative_report_2015.pdf [Consulté en juillet 2017]

5. Ministère de la Santé Publique et de Lutte contre le Sida de la République du Burundi. Directives nationales d'utilisation des ARV pour la prévention et le traitement du VIH. Bujumbura; Sept 2016.p13–23. Disponible sur : http://minisante.bi/wp-content/uploads/pnls/Nouvelles%20Directives%202016.pdf [Consulté en juillet 2017]

6. WHO. Technical update on HIV drug resistance surveillance guidance. Geneva; 2015 Dec.p4–7. Disponible sur : https://www.who.int/hiv/pub/drugresistance/hiv-drug-resistance-2015-update/en/ [Consulté en juin 2017]

7. Rosen S, Long L, Sanne I, Stevens W.S and Fox M.P. The net cost of incorporating resistance testing into HIV/AIDS treatment in South Africa: A Markov model with primary data. *Journal of the International AIDS Society* 2011; 14(): 1–6. doi: 10.1186/1758-2652-14-24

8. Ministère de la Santé Publique et de Lutte contre le Sida de la République du Burundi. Plan Stratégique National de Lutte contre le Sida 2012–2016. p60–63. Disponible sur: https://www.ilo.org/wcmsp5/groups/public/---ed_protect/---protrav/---ilo_aids/documents/legaldocument/wcms_202048.pdf [Consulté en juillet 2017]

9. Larder B.A, Darby G et Richman D.D. HIV with reduced sensitivity to zidovudine (AZT) isolated during prolonged therapy. *Science* 1989; 243(4899): 1731–1734. doi: 10.1126/science.2467383

10. Warnke D, Barreto J et Temesgen Z. Antiretroviral drugs. *J Clin Pharmacol* 2007; 47(12): 1570–1579. doi: 10.1177/0091270007308034

11. Baldwin C and Berkhout B. HIV–1 drug-resistance and drug dependence. *Retrovirology* 2007; 4:78 . doi.org/10.1186/1742-4690-4-78

12. Gotte M. The distinct contributions of fitness and genetic barrier to the development of antiviral drug resistance. *Curr Opin Virol* 2012; 2(5): 644–650. doi: 10.1016/j.coviro.2012.08.004

13. Coffin J.M. HIV population dynamics in vivo: implications for genetic variation, pathogenesis, and therapy. *Science* 1995; 267(5197): 483–489. doi: 10.1126/science.7824947

14. Lafeuillade A and Tardy J.C. Stavudine in the face of cross-resistance between HIV–1 nucleoside reverse transcriptase inhibitors. *AIDS Rev* 2003; 5(2): 80–86.

15. Sollis K.A, Smit P.W, Fiscus S, Ford N, Vitoria M, Essajee S et al. Systematic review of the performance of HIV viral load technologies on plasma samples. Feb 18 2014. *PLoS One* 9(2): e85869. doi.org/10.1371/journal.pone.0085869

16. Eigen M. Self-organization of matter and the evolution of biological macromolecules. *Naturwissenschaften* 1971; 58(10): 465–523.

17. Lynch M. Rate, molecular spectrum, and consequences of human mutation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2010; 107(3): 961–968. doi: 10.1073/pnas.0912629107

18. Sigal A, Kim J.T, Balazs A.B, Dekel E, Mayo A, Milo R et al. Cell-to-cell spread of HIV permits ongoing replication despite antiretroviral therapy. *Nature* 2011, 477: 95–98. doi: 10.1038/nature10347

19. Perno C.F, Ceccherini-Silberstein F, De Luca A, Cozzi-Lepri A, Gori C, Cingolani A et al. Virologic correlates of adherence to antiretroviral medications and therapeutic failure. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2002; 31 Suppl 3: S118–122.

20**.** Longo D.L and Fauci A.S**.** Infections due to Human Immunodeficiency Virus (HIV): The Human Retroviruses. In: Kasper D.L, Hauser S.L, Jameson J.L, Fauci A.S, Longo D.L, Loscalzo J, editors. Harrison's Principles of Internal Medicine. 19th ed. New York: Mac-Graw Hill Education; 2015. p 1626–1631.

21. Briggs J.A.G, Wilk T, Welker R, Kräusslich H.G, Fuller S.D. Structural organization of authentic, mature HIV–1 virions and cores. *EMBO J.* 2003; 22: 1707–1715. doi: 10.1093/emboj/cdg143

22. Krebs C.F, Hogan H.T, Quiterio S, Gartner S and Wigdahl B. Lentiviral LTR directed expression, sequence variation, and disease pathogenesis.

Dernièrement modifié le 7 mai 2013.
Disponible: http://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/REVIEWS/WIGDAHL2001/Wigdahl.html [Consulté le 12/12/2017]

23. The international Immunogenetics information system.
Disponible : http://www.imgt.org, E.GEmrot, 2008 [Consulté le 12/12/2017]

24. Hemelaar J. The origin and diversity of the HIV-1 pandemic. *Trends Mol. Med* 2012; *18*,182–192. doi: 10.1016/j.molmed.2011.12.001

25. Robertson D.L, Sharp P.M, Mc Cutchan F.E and Hahn B.H. Recombination in HIV-1. *Nature* 1995; *374*, 124–126. doi:10.1038/374124b0

26. Lau K.A and Wong J.J.L. Current Trends of HIV Recombination Worldwide. *Infect Dis Rep*. 2013 Jun 6; 5(Suppl 1): e4. doi:10.4081/idr.2013.s1.e4

27. Peeters M, Jung M, Ayouba A. The origin and molecular epidemiology of HIV. *Expert Rev Anti Infect Ther11*.2013 Sep; 11(9):885-96.
doi: 10.1586/14787210.2013.825443

28. Peeters M, D'Arc M and Delaporte E. Origin and diversity of human retroviruses. *AIDS Rev.* 2014; *16*, 23–34.

29. Distribution des sous-types du VIH–1 au Burundi retrouvés sur échantillons de 1991, 2002 et 2007.
Source : www.hiv.Ianl.gov/components/sequence/HIV/geo/geo.comp [Consulté en novembre 2017]

30. Dalgleish A.G, Beverley P.C, Clapham P.R, Crawford D.H, Greaves M.F and Weiss R.A. The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 1984; *312*, 763–767. doi: 10.1038/312763a0

31. Wilen C.B, Tilton J.C and Doms R.W. HIV: cell binding and entry. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2012 Aug 1; 2(8). doi:10.1101/cshperspect.a006866

32. Craigie R. The molecular biology of HIV integrase. *Future Virol*. 2012; *7*, 679–686. doi: 10.2217/FVL.12.56

33. Engelman A and Cherepanov P. The structural biology of HIV–1: mechanistic and therapeutic insights. *Nat Rev Microbiol* 10 2012**;** (4): 279–290.
doi:10.1038/nrmicro2747

34. Laguette N, Sobhian B, Casartelli N, Ringeard M, Chable-Bessia C, Ségéral E et al. SAMHD1 is the dendritic and myeloid-cell-specific HIV-1 restriction factor counteracted by Vpx. *Nature* 2011; *474*, 654–657. doi: 10.1038/nature10117

35. Kluge S.F, Mack K, Iyer S.S, Pujol F.M, Heigele A, Learn G.H et al. Nef proteins of epidemic HIV–1 group O strains antagonize human tetherin. *Cell Host Microbe* 2014; *16*, 639–650. doi: 10.1016/j.chom.2014.10.002

36. Neil S.J.D, Zang T and Bieniasz P.D. Tetherin inhibits retrovirus release and is antagonized by HIV–1 Vpu. *Nature* 2008; *451*, 425–430. doi: 10.1038/nature06553

37. Coffin J and Swanstrom R. HIV Pathogenesis: Dynamics and Genetics of Viral Populations and Infected Cells. *Cold Spring Harb Perspect Med 3*. 2013 Jan 1; 3(1): a012526. doi: 10.1101/cshperspect.a012526

38. Maartens G, Celum C and Lewin S.R. HIV infection: epidemiology, pathogenesis, treatment, and prevention. *Lancet Lond Engl*.2014; *384*, 258–271. doi: 10.1016/s0140-6736(14)60164-1

39. Lambotte O, Boufassa F, Madec Y, Nguyen A, Goujard C, Meyer L et al. HIV Controllers: A Homogeneous Group of HIV-1-Infected Patients with Spontaneous Control of Viral Replication. *Clin Infect Dis*. 2005 ; *41*, 1053–1056. doi: 10.1086/433188

40. Groupe des experts sous la direction de Yeni P. Prise en Charge Médicale des Personnes Infectées par le VIH. Paris, Edition 2010 ; p 52-53, 91-92, 251-252. Disponible sur : http://www.memobio.fr/sources/virologie/VIH/Rapport_2010_sur_la_prise_en_charge_medicale_des_personnes_infectees_par_le_VIH_sous_la_direction_du_Pr-_Patrick_Yeni.pdf [Consulté en septembre 2017]

41. Furman P.A, Fyfe J.A, St Clair M.H, Weinhold K, Rideout JL, Freeman G.A et al. Phosphorylation of 3'-azido-3'-deoxythymidine and selective interaction of the 5'-triphosphate with human immunodeficiency virus reverse transcriptase. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986, 83: 8333–8337. doi: 10.1073/pnas.83.21.8333

42. Esnouf R, Ren J, Ross C, Jones Y, Stammers D, Stuart D. Mechanism of inhibition of HIV–1 reverse transcriptase by non-nucleoside inhibitors. *Nat Struct Biol* 1995, 2: 303–308.

43. Molina J.M, Cahn P, Grinsztejn B, Lazzarin A, Mills A, Saag M et al. Rilpivirine versus efavirenz with tenofovir and emtricitabine in treatment-naive adults infected with HIV–1 (ECHO): a phase 3 randomised double-blind active-controlled trial. *Lancet* 2011, 378: 238–246. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60936-7

44. Cohen C.J, Andrade-Villanueva J, Clotet B, Fourie J, Johnson MA, Ruxrungtham K et al. Rilpivirine versus efavirenz with two background nucleoside or nucleotide reverse transcriptase inhibitors in treatment-naive adults infected with HIV–1 (THRIVE): aphase 3, randomised, non-inferiority trial. *Lancet* 2011, 378: 229–237. doi: 10.1016/S0140-6736(11)60983-5

45. Hammer S.M, Squires K.E, Hughes M.D, Grimes JM, Demeter LM, Currier JS et al. A controlled trial of two nucleoside analogues plus indinavir in persons with human immunodeficiency virus infection and CD4 cell counts of 200 per cubic millimeter or less. AIDS Clinical Trials Group 320 Study Team. *N Engl J Med* 1997, 337: 725–733. doi:10.1056/nejm199709113371101

46. Deeks S.G, Wrin T, Liegler T, Hoh R, Hayden M, Barbour JD et al. Virologic and immunologic consequences of discontinuing combination antiretroviral-drug therapy in HIV-infected patients with detectable viremia. *N Engl J Med* 2001, 344: 472–480. doi: 10.1056/nejm200102153440702

47. Weber J, Rangel H.R, Chakraborty B, Marotta ML, Valdez H, Fransen K et al. Role of Baseline pol Genotype in HIV-1 Fitness Evolution. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2003; 33: 448–460. doi: 10.1097/00126334-200308010-00005

48. Moutouh L, Corbeil J and Richman D.D. Recombination leads to the rapid emergence of HIV–1 dually resistant mutants under selective drug pressure. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996, 93: 6106–6111. doi: 10.1073/pnas.93.12.6106

49. Wensing A.M, Calvez V, Günthard H.F, Johnson V.A, Paredes R, Pillay D et al. Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Top Antivir. Med* 2015; *23*, 132–141. Disponible sur: www.iasusa.org [Consulté en mai 2018]

50. Jain V, Sucupira M.C, Bacchetti P, Hartogensis W, Diaz RS, Kallas EG et al. Differential persistence of transmitted HIV–1 drug resistance mutation classes. *J. Infect. Dis* 2011; *203*, 1174–1181. doi: 10.1093/infdis/jiq167

51. Tang M.W and Shafer R.W. HIV–1 antiretroviral resistance: scientific principles and clinical applications. *Drugs* 2012; *72*, e1–25.
doi: 10.2165/11633630-000000000-00000

52. Marcelin A.G, Charpentier C, Wirden M, Landman R, Valantin M.A, Simon A et al. Resistance profiles of emtricitabine and lamivudine in tenofovir-containing regimens. *J. Antimicrob Chemother* 2012; *67*, 1475–1478. doi: 10.1093/jac/dks047

53. Garforth S.J, Lwatula C and Prasad V.R. The lysine 65 residue in HIV–1 reverse transcriptase function and in nucleoside analog drug resistance. *Viruses* 2012; *6*, 4080–4094. doi: 10.3390/v6104080

54. Iyidogan P and Anderson K.S. Current perspectives on HIV-1 antiretroviral drug resistance. *Viruses* 2014; *6*, 4095–4139. doi: 10.3390/v6104095

55. Menéndez-Arias L. Molecular basis of human immunodeficiency virus type 1 drug resistance: overview and recent developments. *Antiviral Res*. 2013; 98, 93–120. doi: 10.1016/j.antiviral.2013.01.007

56. Meyer P.R, Matsuura S.E, Mian A.M, So A.G and Scott W. A mechanism of AZT resistance: an increase in nucleotide-dependent primer unblocking by mutant HIV-1 reverse transcriptase. *Mol Cell.* 1999 Jul; 4(1): 35-43.

57. Gopalakrishnan S, Montazeri H, Menz S, Beerenwinkel N and Huisinga W. Estimating HIV–1 fitness characteristics from cross-sectional genotype data. *PLoS Comput Biol 10*, e1003886. 2014 Nov 6; 10(11):e1003886. doi: 10.1371/journal.pcbi.1003886

58. Hu Z, Giguel F, Hatano H, Reid P, Lu J and Kuritzkes D.R. Fitness comparison of thymidine analog resistance pathways in human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 2006; *80*, 7020–7027. doi:10.1128/jvi.02747-05

59. Castro H, Pillay D, Cane P, Asboe D, Cambiano V, Phillips…and UK Collaborative Group on HIV Drug Resistance . Persistence of HIV–1 transmitted drug resistance mutations. *J Infect Dis*. 2013; *208*, 1459–1463. doi: 10.1093/infdis/jit345

60. Abecasis A.B, Van Laethem K and Theys K. Lack of evidence for the selection of E138 mutations by first-generation non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors in patients infected with HIV–1 non-B subtypes. *AIDS Lond Engl*. 2015; *29*, 987–988. doi: 10.1097/qad.0000000000000627

61. Rutstein S.E, Hosseinipour M.C, Kamwendo D, Soko A, Mkandawire M, Biddle A.K et al. Dried blood spots for viral load monitoring in Malawi: feasible and effective. *PloS One10*, 2015 Apr 21; 10(4):e0124748. doi: 10.1371/journal.pone.0124748

62. Aitken S.C, Wallis C.L, Stevens W, de Wit TR, Schuurman R. Stability of HIV-1 Nucleic Acids in Dried Blood Spot Samples for HIV-1 Drug Resistance Genotyping. *PLoS One*. 2015 Jul 6;10(7):e0131541. doi: 10.1371/journal.pone.0131541

63. Gueye S.B, Diop N.H, Diallo M.M, Sow-Ndoye A, Diagne-Gueye N.D, Kébé-Fall K et al. Performance of Roche CAP/CTM HIV-1 qualitative test version 2.0 using dried blood spots for early infant diagnosis. *J Virol Methods* 2016; *229*, 12–15. doi: 10.1016/j.jviromet.2015.12.006

64. Protocole pour la collecte et la prise en charge des DBS.
Disponible sur : www.who.int/drugresistance/dbs_protocol.pdf
[Consulté en décembre 2017]

65. Hertogs K, De Béthune M.P, Miller V, Ivens T, Schel P, Van Cauwenberge A et al. A rapid method for simultaneous detection of phenotypic resistance to inhibitors of protease and reverse transcriptase in recombinant human immunodeficiency virus type 1 isolates from patients treated with antiretroviral drugs. *Antimicrob. Agents Chemother* 1998; *42*, 269–276.

66. Morlat P. Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH. Actualisation 2015 du rapport 2013.
https://cns.sante.fr/wpcontent/uploads/2015/10/experts-vih_actualisation2015. pdf

67. Jenabian M-A, Talla F, Talla P, Mbopi-Kéou F-X, Charpentier C, Kane C.T et al. Pitfalls of antiretroviral drug resistance genotyping of HIV-1 Group M and Group N from Cameroon by sequenced-based assays. *Niger Med J* 2015; 56: 420-4. doi: 10.4103/0300-1652.171613

68. Manasa J, Danaviah S, Pillay S, Padayachee P, Mthiyane H, Mkhize C et al. An Affordable HIV-1 Drug Resistance Monitoring Method for Resource Limited Settings. *J Vis Exp*. 2014 Mar 30; (85). doi: 10.3791/51242

69. Brenner S. Frederick Sanger (1918–2013). Science 2014; *343*, 262–262.
doi: 10.1126/science.1249912

70. HIV-1 genotypic drug resistance interpretation's algorithm.
Disponible sur : www.hivfrenchresistance.org [Consulté le 12/12/17]

71. HIVdb Program. Genotypic Resistance Interpretation Algorithm.
Disponible sur:http://sierra2.stanford.edu/sierra/servlet/JSierra?action=sequenceInput
[Consulté le 12/12/2017]
72. Wagner S, Kurz M, Klimkait T and Swiss HIV Cohort Study. Algorithm evolution for drug resistance prediction: comparison of systems for HIV−1 genotyping. *Antivir Ther*. 2015; *20*, 661–665. doi:10.3851/imp2947

73. Barengayabo P. Les Multi échecs thérapeutiques chez les patients infectés par le VIH sous traitement antirétroviral. [Thèse de Médecine, Médecine Générale]. Bujumbura, Université du Burundi, Faculté de Médecine; 2011: p29–73.

74. Diouf N.L. Agence Nationale de Recherches sur le Sida et les Hépatites virales : Echec virologique et résistances aux ARV chez des patients VIH–1 positifs pris en charge dans les programmes et les structures nationaux au Sénégal. Dakar; 2012. Projet ANRS12186. Disponible sur : https://docplayer.fr/47200726-Echec-virologique-et-resistances-aux-arvs-chez-des-patients-vih-1-positifs-pris-en-charge-dans-les-projet-anrs12186.html [Consulté en mai 2018]

75. Aissa S, Jlizi A, Debbech S, Abdemalek R, Ben Hadjkacem, Kilani B et al. Résistance du VIH–1 aux antirétroviraux chez des patients tunisiens: Aspects épidémio-cliniques. STPI 2013: 27 ème Congrès National de la Société Tunisienne de Pathologie Infectieuse; 2013 April 18–20; Tunis, Tunisia.
Disponible sur: https://www.infectiologie.org.tn/pdf_ppt_docs/diaporama/inf_virales/resistance_avec_patient_tunsien.pdf [Consulté en mai 2018]

76. Adawaye C.I. Nouvelles approches génotypiques pour le monitoring de résistance du VIH aux ARV dans les pays à ressources limitées : cas du Tchad.
[Thèse de Doctorat d'Université, Sciences Biomédicales et Pharmaceutiques]. Université de Liège Faculté de Médecine Laboratoire de Référence Sida ; 2014 : p56–116. Disponible sur: http://bictel.ulg.ac.be/ETD-db/collection/available/ULgetd-11052014-212906/unrestricted/theseAdawaye.pdf [Consulté en juin 2017]

77. Diawara M.M et Maiga A. Résistance aux antirétroviraux chez les patients infectés par le VIH–1 au Mali. *Editions Universitaires Européennes*; 2014.

78. Thiam M, Diop-Ndiaye H , Diouf A D, Vidal N, Ndiaye O, Ndiaye I et al.
HIV–1 Genetic Diversity and Drug Resistance among Senegalese Patients in the Public Health System. *Journal of Clinical Microbiology* 2013 Feb; 51(2): 578–84. doi:10.1128/JCM.02452-12

79. Kyeyune F, Richard M.G, Nankya I, Venner C, Metha S, Akao J et al. Low-Frequency Drug Resistance in HIV-Infected Ugandans on Antiretroviral Treatment Is Associated with Regimen Failure. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 2016 June; 60 (6): 3380–97. doi:10.1128/AAC.00038-16

80. Koigi P, Ngayo M.O, Khamadi, Ngugi S.C and Nyamache A.K et al. HIV type 1 drug resistance patterns among patients failing first and second line antiretroviral therapy in Nairobi. *BMC Research Notes* 2014; 7: 890.
https://doi.org/10.1186/1756-0500-7-890

81. Rusine J, Asiimwe-Kateera B, Van de Wijgert J, Boer K.R, Mukantwali E, Karita E et al. Low Primary and Secondary HIV Drug-Resistance after 12 Months of Antiretroviral Therapy in Human Immune-Deficiency Virus Type 1 (HIV–1) Infected Individuals from Kigali. *PLoS One* 8(8): e64345. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0064345

82. Wallis C.L, Aga E, Ribaudo H, Saravanan S, Norton M, Stevens W et al; on behalf of the A5230 team. Drug susceptibility and resistance mutations after first-line failure in resource limited settings. *Clinical Infectious Diseases 2014 Sep*; 59(6):706–715. https://doi.org/10.1093/cid/ciu314

83. Kaleebu P, Kirungi W, Watera C and The HIV Drug Resistance Working group. Virological Response and Antiretroviral Drug Resistance Emerging during Antiretroviral Therapy at Three Treatment Centers in Uganda. *PLoS One*, 2015 Dec 23; 10(12): e0145536. doi: 10.1371/journal.pone.0145536

84. Claudia Hawkins, Nzovu Ulenga, Enju Liu, Said Aboud, Ferdinand Mugusi, Guerino Chalamilla et al. HIV virological failure and drug resistance in a cohort of Tanzanian HIV-infected adults. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 2016 July; 71(7)1:1966–1974. https://doi.org/10.1093/jac/dkw051

85. Masimba P, Kituma E, Klimkait T, Horvath E, Stoeckle M, Hatz C et al. Prevalence of Drug Resistance Mutations and HIV Type 1 Subtypes in an HIV Type 1–Infected Cohort in Rural Tanzania. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2013 Sep; 29(9):1229–1236. doi: 10.1089/aid.2011.0367

86. Svärd J, Mugusi S, Mloka D, Neogi U, Meini G, Mugus F et al. Drug resistance testing through remote genotyping and predicted treatment options in human immunodeficiency virus type 1 infected Tanzanian subjects failing first or second line antiretroviral therapy. 2017 June 5. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0178942

87. Bangoura N, Diouara A.M, Cissé M, Ndiaye H.D, Mboup S, Ayouba A et al. Quantification de la Charge Virale et tests de résistance du VIH-1 aux ARV à partir d'échantillons DBS (Dried Blood Spots) chez des patients Guinéens sous traitement antirétroviral. June 26, 2015. http://dx.doi. org/10.4102/ajlm.v4i1.168

88. Vidal N, Niyongabo T, Nduwimana J, Butel C, Ndayiragije A, Wakana J et al. HIV type 1 diversity and antiretroviral drug resistance mutations in Burundi. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2007; 23: 175–180.

89. Ndahimana J.A, Riedel D.J, Muhayimpundu R, Nsanzimana S, Niyibizi G, Mutaganzwa E et al. HIV drug resistance mutations among patients failing second-

line antiretroviral therapy in Rwanda. *Antiviral Therapy* 2016; 21: 253-259. doi: 10.3851/MP3005

90. Ssemwanga D, Raphael W. L, Ugoji C. Update on HIV–1 Acquired and Transmitted Drug Resistance in Africa. *AIDS Rev.* 2015; 17:3–20.
Disponible sur: www.aiddsreviews.com

91. Invernizzi C.F, Coutsinos D, Oliveira M, Schildknecht RS, Xu H, Gaseitsiwe S et al. The preferential selection of K65R in HIV-1 subtype C is attenuated by nucleotide polymorphisms at thymidine analogue mutation sites. *J Antimicrob Chemother* Volume 68, Issue 10, 1 October 2013, pages 2192–2196. doi.org/10.1093/jac/dkt204

92. Lessells R.J, Stott K.E, Manasa J, Naidu KK, Skingsley A, Rossouw T et al; on behalf of the Southern African Treatment and Resistance Network (SATURN). Implementing antiretroviral resistance testing in a primary health care HIV treatment programme in rural KwaZulu-Natal, South Africa: early experiences, achievements and challenges. *BMC Health Serv Res*. 2014; *14*, 116.
doi: 10.1186/1472-6963-14-116

93. Institut de Statistiques et d'Études Économiques du Burundi, Ministère de la Santé Publique et de la Lutte contre le Sida de la République du Burundi et ICF International. *Enquête Démographique et de Santé Burundi 2010*. Bujumbura; Mai 2012.p175–223. Disponible sur :https://dhsprogram.com/pubs/pdf/FR253/FR253.pdf [Consulté en décembre 2018]

94. Ministère de la Santé Publique et de Lutte contre le Sida de la République du Burundi. Plan Stratégique National de Lutte contre le SIDA 2014-2017. Bujumbura; Juillet 2014.p20–65. Disponible sur :
http://minisante.bi/wp-content/uploads/pnls/PSN-VIH%202014-2017.pdf
[Consulté en décembre 2018]

95. Ministère de la Santé Publique et de Lutte contre le Sida de la République du Burundi. Directives nationales d'utilisation des ARV pour la prévention et le traitement du VIH; Bujumbura, Août 2014. p37– 41.
Disponible sur : https://aidsfree.usaid.gov/sites/default/files/tx_burundi_2014.pdf
[Consulté en décembre 2018]
96. Ministère de la santé publique et de lutte contre le Sida de la République du Burundi. Plan Stratégique de la Réponse du Secteur de la Santé face au VIH/Sida et aux IST au Burundi pour la période 2010–2015.Bujumbura;Novembre 2009. p10–35.
Disponible sur :
http://www.nationalplanningcycles.org/sites/default/files/country_docs/Burundi/psr_vih_sant25c325a9202010_201511.pdf [Consulté en décembre 2018]

97. Emamzadeh-Fard S, Fard S.E, Alinaghi S, Paydary K. Adherence to anti-retroviral therapy and its determinants in HIV/AIDS patients: a review. *Infectious Disorder Drug Targets*. 2012 Oct; 12(5): 346-56.

98. Bastard M, Fall MB, Lanièce I, Taverne B, Desclaux A, Ecochard R.
Revisiting long-term adherence to highly active antiretroviral therapy in Senegal using latent class analysis. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2011 May 1; 57(1):55-61. doi: 10.1097/QAI.0b013e318211b43b

99. Penot P, Héma A, Bado G, Kaboré F, Soré I, Sombié D et al. The vulnerability of men to virologic failure during antiretroviral therapy in a public routine clinic in Burkina Faso. *J Int AIDS Soc.* 2014 Jan 15; 17:18646. doi: 10.7448/IAS.17.1.18646

100. Ngabirano J.Eric. Apport de la charge virale VIH dans le suivi biologique des PVVIH sous traitement ARV. Etude transversale rétro et prospective sur 6 mois à propos de 362 cas colligés dans 4 Centres de Prise en Charge du VIH à Bujumbura. [Thèse de Médecine, Médecine Générale].Bujumbura, Université du Burundi, Faculté de Médecine; 2015: p30–47.

ANNEXES

ANNEXE 1. ANRS AC11 Resistance Study Group
PCR and Sequencing Procedures: HIV-1
Version January 2015

PCR and sequencing Primers

- **Reverse Transcriptase**

Outer primers:

MJ3 : 5'-AGT AGG ACC TAC ACC TGT CA-3'

MJ4: 5'-CTG TTA GTG CTT TGG TTC CTC T-3'

Inner and sequencing primers:

A35: 5'-TTG GTT GCA CTT TAA ATT TTC CCA TTA GTC CTA TT-3'

NE135: 5'-CCT ACT AAC TTC TGT ATG TCA TTG ACA GTC CAG CT-3'

Other sets of primers that can be alternatively used for Reverse

Transcriptase:

Outer primers:

RT18: 5'-GGA AAC CAA AAA TGA TAG GGG GAA TTG GAG G -3'

RT21: 5'-CTG TAT TTC TGC TAT TAA GTC TTT TGA TGG G -3'

Inner and sequencing primers:

RT1: 5'-CCA AAA GTT AAA CAA TGG CCA TTG ACA GA –3'

RT4: 5'-AGT TCA TAA CCC ATC CAA AG –3'

Outer primers:

RT18 : 5'-GGA AAC CAA AAA TGA TAG GGG GAA TTG GAG G -3'

JPH4M: 5'-TGA ATG ATT CCT AAT GCA TAY TGT GAG TCT GT -3'

Inner and sequencing primers:

RT1: 5'-CCA AAA GTT AAA CAA TGG CCA TTG ACA GA –3'

PL1M: 5'-CYT GYT TCT GTA TTT CTG CTA YTA AGT CTT TTG -3'

- **Protease**

Outer primers:

5’PROT1: 5’-TAA TTT TTT AGG GAA GAT CTG GCC TTC C-3’

3’PROT1: 5’-GCA AAT ACT GGA GTA TTG TAT GGA TTT TCA GG-3’

Inner and sequencing primers:

5’PROT2: 5’-TCA GAG CAG ACC AGA GCC AAC AGC CCC A-3’

3’PROT2: 5’-AAT GCT TTT ATT TTT TCT TCT GTC AAT GGC-3’

PCR runs on 9700 PE thermocycler (times have to be adapted to the thermocycler and taq polymerase used)

Conditions for Reverse Transcriptase, Protease and Integrase (protocol):

- **RT-PCR Step, using RT-PCR kit Titan (Roche):**

30’ at 50°C

5’ at 94°C

then: (30’’ at 94°C; 30” at 55°C; 1’ at 68°C) x 45 cycles

- **Nested PCR step, using Ampli Taq gold with Gene Amp (Roche):**

3’ at 94°C

then (30’’ at 94°C; 30” at 55°C; 1’30” at 72°C) x 45 cycles

7’ at 72°C

ANNEXE 2. ANRS AC11 Resistance Study Group ALGORITHM INTERPRETATION September 2013- Version n° 23

I. GENOTYPE INTERPRETATION: NUCLEOSIDE AND NUCLEOTIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

	Mutations associated with resistance	**Mutations associated with « possible resistance »**
ZDV	• T215Y/F • At least 3 mutations among: M41L, D67N, K70R, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V, K219Q/E [1, 2, 3, 4] • Q151M • Insertion at codon 69	• T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V [1, 2, 3, 4]
3TC/FTC	• M184V/I • Insertion at codon 69	• K65R [11, 12, 16] • Q151M
DdI	• At least a score of + 2 among: M41L + T69D + 215Y/F +K219Q/E – K70R – M184 V/I [5, 14, 15, 17, 18] • L74V/I [19] • Q151M	• K65R [11, 12]
d4T	• V75A/M/S/T • T215Y/F [6] • At least 3 mutations among: M41L, D67N, K70R, L210W, T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V, K219Q/E [4, 7, 14, 15] • K65R [30, 31, 32] • Q151M • Insertion at codon 69	• T215A/C/D/E/G/H/I/L/N/S/V [4, 7]
ABC	• At least 4 mutations among: M41L, D67N, M184V/I, L210W, T215Y/F [8,19, 29] • K65R [9, 11, 12] • L74V/I [24, 25, 26, 27, 28, 29] • Y115F • Q151M • Insertion at codon 69	• 3 mutations among: M41L, D67N, M184V/I, L210W, T215Y/F [8, 19, 29]
TDF	• At least 6 mutations among: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I,L210W, T215Y/F [13, 20, 33] • K65R/E [9, 10, 11, 12, 34] • Insertion at codon 69 • K70E [21, 22, 23]	• 3, 4 or 5 mutations among: M41L, E44D, D67N, T69D/N/S, L74V/I, L210W, T215Y/F [13,33]

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

II. GENOTYPE INTERPRETATION: NON-NUCLEOSIDE REVERSE TRANSCRIPTASE INHIBITORS

	Mutations associated with resistance	Mutations associated with « possible resistance »
EFV	• L100I • K101E • K103H/N/S/T [1] • V106M [2] • E138K [12, 13] • Y181C/I • Y188C/L • G190A/C/E/Q/S/T/V • P225H • M230L	
NVP	• A98S (for HIV-1 subtype C only) [3] • L100I • K101E • K103H/N/S/T [1] • V106A/M [2] • Y181C/I • Y188C/H/L • G190A/C/E/Q/S/T/V • M230L	• E138K [13]
ETR	• At least 4 among: V90I, A98G, L100I, K101E/H/I/P/R, V106I, V179D/F/I/L/M/T, Y181C/I, G190A/S, M230L [4, 7, 8, 9, 10, 11] • E138K [12, 13] • Y181V [5, 6] • Y181C+H221Y [7]	• 3 mutations among: V90I, A98G, L100I, K101E/H/I/P/R, V106I, V179D/F/I/L/M/T, Y181C/I, G190A/S, M230L [4, 7, 8, 9, 10, 11] • E138A/G/Q/R [5, 6, 7, 8]
RPV	• K101E/P [9, 13] • E138A/G/K/Q/R/S [12, 13, 14] • V179L [9] • Y181C/I/V [13] • Y188L [9] • H221Y [13] • M230I/L/V [9] • L100I + K103N/S [9, 15] • L100I + K103R + V179D [15]	

III. GENOTYPE INTERPRETATION: PROTEASE INHIBITORS

	Mutations associated with resistance	**Mutations associated with « possible resistance »**
IDV	• M46I/L • V82A/F/M/S/T [11] • I84A/V [8] • L90M and at least 2 among: K20M/R, L24I, V32I, M36I, I54V/L/M/T, A71V/T, G73S/A, V77I	• L90M
SQV/RTV **1000/100mg BID**	• G48V • At least 4 mutations among: L10F/I/M/R/V, I15A/V, K20I/M/R/T, L24I, I62V, G73S/T, V82A/F/S/T, I84V,	• 3 mutations among: L10F/I/M/R/V, I15A/V, K20I/M/R/T, L24I, I62V, G73S/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [9]
NFV	• D30N • I84A/V [8] • N88S/D • L90M	• V82A/F/S/T and at least 2 among: L10I, M36I, M46I/L, I54V/L/M/T, A71V/T, V77I [1]
FPV/RTV **700/100 mg BID**	• I50V • V32I and I47A/V [2, 13, 14] • At least 4 mutations among: L10F/I/V, L33F, M36I, I54A/L/M/S/T/V, I62V, V82A/C/F/G, I84V, L90M [2, 20]	
LPV/r	• At least 6 mutations among: L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [3, 4, 5, 21] • I47A [15, 16] • L76V [18, 19]	• 4 or 5 mutations among: L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M [3, 4, 5, 21]
ATV/RTV **300/100 mg QD**	• I50L [6] • N88S [28,29,30] • At least 3 mutations among: L10F/I/V, G16E, L33F/I/V, M46I/L, D60E, I84V, I85V, L90M [7, 12, 22]	
TPV/RTV **500/200 mg BID**	• At least a score of + 3*: 36I/L/V – 53L/W/Y + 58E+ 69I/K/N/Q/R/Y + 89I/M/R/T/V [10, 23]	• A score of + 2*: 36I/L/V – 53L/W/Y + 58E + 69I/K/N/Q/R/Y + 89I/M/R/T/V [10, 23]
DRV/RTV **600/100 mg BID**	• At least 4 mutations among: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L/M, T74P, L76V, I84V, L89V [17, 24, 25, 26]	• 3 mutations among: V11I, V32I, L33F, I47V, I50V, I54L/M, T74P, L76V, I84V, L89V [17, 24, 25, 26]

C.H.U Pontchaillou Rennes - Pôle biologie
Unité de rétrovirologie UF 3065 - Responsable : Dr Anne Maillard

Date du prélèvement : Prescripteur :

né(e) le Sexe: M Demande N° Nature : Plasma Service - Hopital :

Sous type viral :

Charge virale:

Mutations associées à la transcriptase inverse

Inhibiteurs nucléosidiques de la TI

Résistance: <aucune>
Résistance possible à : <aucune>
Pas de résistance à : AZT ddI 3TC/FTC d4T Abacavir Tenofovir

M	E	K	D	T	K	L	V	Y	Q	M	L	T	K
41	44	65	67	69	70	74	75	115	151	184	210	215	219
AZT														
ddI														
3TC/FTC														
d4T														
Abacavir														
Tenofovir														

Inhibiteurs non nucléosidiques de la TI

Résistance: <aucune>
Résistance possible à : <aucune>
Pas de résistance à : Efavirenz Nevirapine Etravirine Rilpivirine

V	A	L	K	K	V	E	V	Y	Y	G	H	P	M
90 I	98	100	101	103	106	138	179	181	188	190	221	225	230
EFV														
NVP														
ETV														
RPV														

Mutations associées à la protéase

Résistance: <aucune>
Résistance possible à : <aucune>
Pas de résistance à : Indinavir Saquinavir/rito Nelfinavir Fosamprenavir/rito Lopinavir/rito Atazanavir/rito Darunavir/rito (QD) Darunavir/rito (BID) Tipranavir/rito

L	V	I	I	G	K	L	D	V	L	E	M	K	M	I	G	I	F	I	Q	D	I	L	H	A	G	T	L	V	V	N	I	I	N	L	L
10	11	13	15	16	20	24	30	32	33	35	36	43	46	47	48	50	53	54	58	60	62	63	69	71	73	74	76	77	82	83	84	85	88	89	90
Indinavir																																			
SQV/RTV																																			
Nelfinavir																																			
fosAPV/RTV																																			
LPV/r																																			
ATV/RTV																																			
DRV/R(QD)																																			
DRV/R (BID)																																			

Date :

Séquençage du gène de la protéase et de la transcriptase inverse-Technique consensus ANRS
Interprétation selon l'algorithme du groupe résistance AC11 de l'ANRS SEPTEMBRE 2016 - Version 26

http://hivfrenchresistance.org

Bulletin vierge pour les résultats du génotypage en cas de mutations du VIH selon les différentes classes des ARV

FICHE D'ENQUETE

I. Identification du patient

1. Code du patient…….…….. (integer)
2. Site de suivi ……...…….....……..… (text)
3. Age …….....….…..... (integer)
4. Sexe……..…….....…….. (text)

II. Eléments de suivi clinique du patient

1. Stade OMS à l'initiation des ARV……... (integer)
2. Stade OMS lors de l'échec thérapeutique…….…….. (integer)

III. Eléments de suivi biologique du patient

1. Charge virale en copies / ml lors de l'échec thérapeutique…….…….... (integer)
2. Taux de CD4 en cellules / mm^3 à l'initiation des ARV..... (integer)
3. Taux de CD4 en cellules / mm^3 lors de l'échec thérapeutique…….…….. (integer)

IV. Caractéristiques thérapeutiques du patient

1. Observance au TARV
   a. |_| oui
   b. |_| Non

2. Niveau d'inobservance thérapeutique en termes d'irrégularité ou d'interruption du suivi du TARV
   a. |_| irrégularité de suivi inférieure à 3 mois
   b.|_| irrégularité de suivi supérieure à 3 mois
   c. |_| arrêt momentané de la prise des ARV

3. Changement de site de prise en charge
   a. |_| oui
   b. |_| non

FICHE D'ENQUETE

4. Durée du TARV en mois avant l'échec thérapeutique ayant indiqué le test de résistance…….....…….…. (integer)

5. Combinaisons ARV prises avant l'échec thérapeutique
…….…….....…. ……. (text)

6. Schéma thérapeutique au moment du test de résistance…….....…...…... (text)

7. Mise en évidence de l'échec thérapeutique
   a. |_| clinique
   b. |_| clinico-immunologique
   c. |_| CV élevée au-dessus du seuil de détectabilité après au moins 12 mois de TARV

8. Intervalle en mois entre la mise en évidence de l'échec thérapeutique et le test génotypique de résistance…….....….....…. (integer)

V. Test de résistance

1. Type du VIH
   a. |_| VIH 1
   b. |_| VIH 1 et 2

2. Sous-type viral…….....….. (text)

3. Mutations de résistance associées à la TI liées aux INTIs :

   1)|_| M41 |___|

   2)|_| K65 |___|

   3)|_| D67 |___|

   4)|_| K70 |___|

FICHE D'ENQUETE

5)l_l L74 l___l

6)l_l Y115 l___l

7)l_l Q151 l___l

8)l_l M184 l___l

9)l_l I210 l___l

10)l_l T215 l___l

11)l_l K219 l___l

4. Mutations de résistance associées à la TI liées aux INNTIs :

1)l_l A98 l___l

2)l_l K100 l___l

3)l_l K101 l___l

4)l_l K103 l___l

5)l_l V106 l___l

6)l_l E138 l___l

7) l_l Y181 l___l

8)l_l Y188 l___l

9)l_l G190 l___l

10)l_l H221 l___l

11)l_l P225 l___l

12)l_l M230 l___l

5. Mutations de résistance associées à la protéase :

1)l_l L10 l___l

2)l_l I15 l___l

3)l_l k20 l___l

4)l_l D30 l___l

5)l_l L33 l___l

6)l_l M36 l___l

7)l_l M46 l___l

8)l_l I47 l___l

9)l_l G48 l___l

10)l_l I50 l___l

11)l_l I54l___l

12)l_l I62 l___l

13)l_l L63l___l

14)l_l A71l___l

15)l_l L76l___l

16)l_l V82l___l

17)l_l I84 l___l

18)l_l N88l___l

19)l_l L90l___l

SERMENT DE GENEVE

Au moment d’être admis au nombre des membres de la profession médicale,
Je prends l’engagement solennel de consacrer ma vie au service de l’Humanité,
Je garderai à mes maîtres le respect et la reconnaissance qui leur sont dus,
J’exercerai mon art avec conscience et dignité,
Je maintiendrai dans toute la mesure de mes moyens l’honneur et les nobles traditions de la profession médicale,
Mes collègues seront mes frères,
Je ne permettrai pas que les considérations de religion, de race, de parti ou de classe sociale viennent s’interposer entre mon devoir et mon patient,
Je garderai le respect absolu de la vie humaine, dès sa conception,
Même sous menace, je n’admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l’humanité.
Je fais ces promesses solennellement, librement, sur l’honneur.

RESUME

INTRODUCTION : L'émergence de la résistance peut compromettre l'action des ARV mettant ainsi en danger l'efficacité du traitement antirétroviral de réduire ultérieurement l'incidence du VIH, la morbidité et la mortalité qui y sont associées.

OBJECTIF : L'objectif principal de cette étude est de montrer les caractéristiques des principaux types de mutations chez les PVVIH présentant une résistance aux traitements ARV de première et/ou de deuxième ligne au Burundi.

METHODOLOGIE : Il s'agit d'une étude de cohorte rétrospective faite sur des PVVIH/SIDA sous TARV suivis dans six centres de Bujumbura (CPAMP–CHUK, CPAMP–HPRC, ANSS, SWAA Burundi, Nouvelle Espérance, Dispensaire de la Brarudi). Les données ont été saisies et analysées grâce aux logiciels Microsoft office Word, Excel 2013 et SPSS version 18.0. Le test Khi² de Pearson a été utilisé pour mesurer les relations entre les variables qualitatives avec $p < 0,05$ considéré comme significatif.

RESULTATS : Les résultats de notre étude ont mis en évidence que la tranche d'âge de plus de 40 ans représentait la catégorie la plus touchée. La mauvaise observance au TARV retrouvée chez 62 % des patients était significativement associée au sexe masculin. Le changement de ligne thérapeutique probabiliste après l'échec thérapeutique survenait 10 mois avant la réalisation du test de résistance.
Nos patients portaient exclusivement le VIH-1 et majoritairement le sous-type C.
La prévalence des patients ayant des mutations de résistance sur les gènes codant pour la transcriptase inverse était élevée. L'accumulation de la mutation K103N/S était significativement liée à l'allongement de la durée du TARV. La prévalence des patients ayant des mutations majeures de résistance retrouvées sur les gènes codant pour la protéase était relativement moyenne. L'accumulation des mutations majeures associées à la résistance aux IPs était plutôt liée à une inobservance thérapeutique ainsi qu'à une élévation importante de la charge virale qu'à l'allongement de la durée du TARV.

CONCLUSION : Les mutations de résistance du VIH sont présentes au Burundi et constituent un facteur important de l'échec thérapeutique chez les PVVIH/Sida sous TARV. La caractérisation de ces mutations permet de mieux appliquer une prise en charge thérapeutique alternative en cas de résistance.

Mots-clés: Mutation de résistance, TARV, Echec thérapeutique, PVVIH/Sida, Burundi.