



**UNIVERSITE POLYTECHNIQUE DE BOBO
BOBO DIOULASSO**

N° d'ordre : 010/BA-MSB



**DEPARTEMENT DE MICROBIOLOGIE-
IMMUNOLOGIE**

Institut du Développement Rural

Unité d'Immunologie - Mycobactériologie

MEMOIRE

Présenté par :

Adama SANOU

Maître es Biochimie-Microbiologie Appliquée

Pour l'obtention du :

**Diplôme d'Etudes Approfondies en Biologie Appliquée et
Modélisation des Systèmes Biologiques**

Sur le Thème :

**Evaluation de la pertinence du Récepteur soluble de
l'Urokinase type Plasminogène Activateur pour le
suivi biologique des personnes infectées par le
VIH-1 au Burkina Faso.**

Soutenu le 23 Avril 2007, devant le Jury :

Président : Pr Germain SAVADOGO

**Membres : Pr Jean Bosco OUEDRAOGO
Pr Georges Anicet OUEDRAOGO**

Directeur de mémoire : Dr Potiandi Serge Diabougou

THEME :

**Evaluation de la pertinence du Récepteur soluble de
l'Urokinase type Plasminogène Activateur pour le
suivi biologique des personnes infectées par le
VIH-1 au Burkina Faso.**

Dédicace

A mon père et à ma mère

Vos prières quotidiennes et vos encouragements m'ont toujours soutenu depuis mon enfance ; Recevez toute ma gratitude et que Dieu vous accorde une longue vie.

A mes frères et sœurs

Vos soutiens multiformes m'ont permis de mieux progresser. Ce travail est aussi le vôtre, qu'il nous apporte la joie et nous unisse davantage.

Et à toute la grande famille SANOU à Bobo-Dioulasso.

Remerciements

Ce travail a été l'œuvre de plusieurs personnes dont les contributions ont été inestimables et je voudrais remercier :

Dr. Potiandi Serge DIAGBOUGA : Directeur Général du Centre Muraz, responsable de l'Unité Immunologie-Mycobactériologie et Directeur de ce mémoire. Permettez nous de vous congratuler pour avoir guidé ce travail avec rigueur et disponibilité malgré vos multiples occupations. Vos grandes connaissances scientifiques et surtout vos qualités humaines à travers soutien, appui et encouragements de tous les jours sont les motifs de notre admiration pour vous. Permettez nous de vous traduire toute notre gratitude et notre profond respect.

Pr. Georges Anicet OUEDRAOGO, Pr. Jean Bosco OUEDRAOGO, Pr. Viguier MARTINEZ : Vos qualités d'enseignants, de chercheurs font l'objet de notre grande admiration. Merci chers enseignants pour vos efforts multiples dans la formation de la jeunesse burkinabé et particulièrement pour l'ouverture de ce DEA. Trouvez ici l'expression de notre profonde et sincère reconnaissance.

Pr. Germain SAWADOGO : Merci pour l'honneur que vous nous faites d'accepter de présider ce mémoire; Nous vous en remercions sincèrement.

Dr. Hervé HIEN : Merci pour avoir co-dirigé ce travail avec rigueur cela malgré vos multiples sollicitations de toutes parts. Trouvez ici l'expression sincère de ma profonde reconnaissance. Puisse ce travail ne pas vous décevoir.

Dr. Adama OUMINGA : Co-responsable de l'Unité Immunologie-Mycobactériologie pour votre contribution énorme dans la réalisation de ce travail.

Dr. François ROUET : Responsable du laboratoire de Virologie du Centre Muraz pour m'avoir fournie des documents indispensables à la rédaction de ce mémoire.

Dr. Ali DRABO : Responsable du Laboratoire d'Analyses Médicales (LAM), Centre Muraz.

M. Souleymane DIALLO de l'Agence Burkinabé de Collecte et de Distribution (ABCD)
pour tout le soutien apporté.

Dr. Seydou YARO, Dr. Philippe MSELATTI et Roselyne VALLO : pour vos
contributions énormes à l'analyse des données.

Mlle Kambou Sophie pour avoir corrigé le résumé de ce mémoire en anglais.

Mes collègues de service : Dr. Dézémon ZINGUE, Mme Diane VALEA, M. Moumini
NOUCTARA, Mme Antoinette KABORE, Mlle Thérèse KAGONE, M. Eloi BAHEMBERA,
M. Alidou ZANGO, M. Oumar SANOU, et Mme Djénéba OUATTARA ;

Mes promotionnaires : Mme Adèle TRAORE/KAM, Messieurs Yves SERE, Moussa
NAMOUNTOUGOU, Jacques KABORE, Issaka YOUGBARE, Bienvenu SOMDA,
Guillaume Sylvestre SANOU, Vinsoum MILLOGO et Valéri BAZIE.

Mes remerciements vont aussi à l'endroit de **tout le personnel** du **Centre MURAZ**, de
l'**OOAS** (Organisation Ouest Africaine de la Santé), de l'**Université Polytechnique de Bobo-
Dioulasso (UPB)**, du Laboratoire de l'**Hôpital Hvidrove** de Copenhague (Danemark) et à
tous **les enseignants** du DEA Biologie Appliquée et Modélisation des Systèmes Biologiques
(BAMSB).

A tous **mes camarades et amis**, j'exprime ma gratitude pour leurs encouragements tout au
long de ce travail.

A tous ceux qui de près ou de loin ont participé d'une manière ou d'une autre à
l'accomplissement de cette œuvre, je vous en suis profondément reconnaissant.

SOMMAIRE

Dédicace	i
Remerciements.....	ii
SOMMAIRE	iv
LISTE DES ABREVIATIONS	vii
Résumé	ix
I. INTRODUCTION.....	1
I.1. Généralités sur le suPAR	3
I.2. Problématique	4
II. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	6
II.1. Données épidémiologiques	6
II.1.1. Modes de transmission.....	6
II.1.2. Situation de l'infection dans le monde	6
II.1.3. Au Burkina Faso	7
II.1.4. Ampleur de l'infection dans le monde en développement.....	8
II.1.4.1. Impact démographique et socio-économique.....	8
II.1.4.2. Impact sur l'activité économique	8
II.1.4.3. Impact sur les systèmes de santé	9
II.1.4.4. Impact sur la sécurité alimentaire et la nutrition	9
II.1.4.5. Impact sur l'éducation	9
II.2. L'agent pathogène	10
II.2.1. Classification.....	10
II.2.2. Structure du VIH-1.....	10
II.2.3. Cycle de réplication du VIH dans la cellule hôte.....	12
II.2.4. L'infection par le VIH	13
II.2.4.1. Physiopathologie de l'infection à VIH	13
II.2.4.2. Diagnostic et suivi biologique	14
III. OBJECTIFS DE L'ETUDE	19
III.1. Objectif général	19
III.2. Objectifs Spécifiques	19
IV. MATERIEL ET METHODES	20
IV.1. Méthodologie, population et cadre d'étude.....	20
IV.1.1. Observatoire de la Résistance du VIH aux antirétroviraux dans les pays en voie de développement situés en Afrique et en Asie, cas du Burkina Faso	20
IV.1.2. Projet Enfants Non Progressseurs	20
IV.1.3. Cohorte Yerêlon.....	21

IV.1.4. Les patients de REVS+	21
IV.2. Type d'étude	23
IV.3. Type d'échantillonnage	23
IV.4. Critères d'inclusion	23
IV.5. Critères de non inclusion	23
IV.6. Collecte des données	24
IV.6.1. Les Variables	24
IV.6.2. Techniques de collecte des données	24
IV.7. Techniques d'analyse des données	25
IV.8. Considérations éthiques	25
V. RESULTATS	26
V.1. Caractéristiques des patients	26
V.2. Comparaison des concentrations de suPAR des patients naïfs et des patients sous thérapie antirétrovirale.	26
V.3. Comparaison des concentrations de suPAR des patients naïfs ayant un nombre de lymphocytes T-CD4 ⁺ > 403 et des patients naïfs ayant un nombre < 403.	27
VI. DISCUSSION	29
VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	31
VII.1. Conclusion	31
VII.2. Perspectives	31
RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES	32
ANNEXES	I

LISTE DES FIGURES ET TABLEAUX

Figure 2 : Cycle de réplication du VIH -----	13
Schéma 1 : Profil schématique de l'étude -----	22
Figure 3 : Comparaison des concentrations plasmatiques de suPAR (ng /ml) des patients sous traitement antirétroviral (ARV) et des patients naïfs de tout traitement antirétroviral (naïfs) -----	27
Figure 4 : Comparaison des concentrations plasmatiques de suPAR (ng /ml) des patients naïfs ayant des nombres de lymphocytes T-CD4⁺ différents. -----	28
Tableau I : Données générales sur l'épidémiologie du VIH/sida au Burkina Faso -----	7
Tableau II : Concentrations médianes de suPAR, Quartiles 1 et Quartiles 3 des patients naïfs de tout traitement antirétroviral et des patients sous ARV. -----	26
Tableau III : Concentrations médianes de suPAR, Quartiles 1 et Quartiles 3 des patients naïfs en fonction du nombre de lymphocytes T-CD4⁺ -----	28

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ARN : Acide Ribonucléique

ARV : Antirétroviraux

CD : Cluster of Differentiation

CDC : Centers for Disease Control and prevention

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMV : Cytomegalovirus

CNLS-IST : Comité National de Lutte contre le Sida et les Infections Sexuellement Transmissibles

CTA : Centre de Traitement Ambulatoire

D : Domaine

EDTA : Ethylène Diamine Tétracétique

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbant Assay

ENP: Enfants Non Progressseurs

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation

Fc : Fragment cristallisable

gp : glycoprotéine

GPI : glycosphosphatidyl inositol

HSV : Herpes Simplex Virus

INRT : Inhibiteur Nucléosidique de la Reverse Transcriptase

INNRT : Inhibiteur Non Nucléosidique de la Reverse Transcriptase

IP : Inhibiteur de la Protéase

NK : Tueuses Naturelles

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONG : Organisation Non Gouvernementale

ONUSIDA : Organisation des Nations Unies pour la lutte contre le SIDA

ORAV : Observatoire de la Résistance aux Antirétroviraux

p : protéine

PCR : Réaction de Polymérisation en Chaîne

PTME : Programme national de prévention de la Transmission Mère Enfant du VIH.

Pv /VIH : Personnes vivant avec le VIH

REVS : Responsabilité Espoir Vie Solidarité

RT : Reverse Transcriptase

SIDA : Syndrome de l'Immunodéficience Acquise

SIV : Virus de l'Immunodéficience du Singe

suPAR : Récepteur soluble de l'urokinase type Plasminogène Activateur

uPA : urokinase type Plasminogène Activateur

uPAR : Récepteur de l'urokinase type Plasminogène Activateur

VIH-1 : Virus de l'Immunodéficience Humaine type-1

VIH-2 : Virus de l'Immunodéficience Humaine type-2

VZV : Varicella-Zoster Virus

Résumé

Objectif : Evaluer la pertinence de l'utilisation du Récepteur soluble de l'urokinase type Plasminogène Activateur (suPAR) dans le suivi biologique des personnes infectées par le VIH-1 au Burkina Faso.

Schéma : Le suPAR a été mesuré par ELISA chez 31 patients dont 14 étaient sous traitement antirétroviral et 17 étaient naïfs de tout traitement antirétroviral. Le nombre de lymphocytes T-CD4⁺ a été précédemment déterminé par la technique Dynabeads^R (Dyna, France). L'âge et le sexe ont également été déterminés précédemment.

Résultats : Les concentrations de suPAR sont plus élevées chez les patients naïfs de tout traitement antirétroviral en comparaison aux patients sous traitement antirétroviral ($p = 0,0007 < 0,05$, test des scores médians).

Chez les patients naïfs de tout traitement antirétroviral, les concentrations de suPAR ne sont pas significativement plus élevées chez ceux ayant un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ inférieur au nombre moyen (403), que chez les patients ayant un nombre supérieur à cette moyenne ($p = 0,0956 > 0,05$, test des scores médians).

Conclusion : Chez les patients infectés par le VIH-1, la concentration en suPAR est plus élevée chez ceux ne recevant pas de traitement antirétroviral que chez les patients sous traitement antirétroviral.

Le suPAR pourrait donc être un marqueur prédictif du succès du traitement antirétroviral en contexte africain.

Mots clés : suPAR, VIH-1, Afrique, suivi biologique, pertinence



Introduction

I. INTRODUCTION

En 1981, M. Gottlieb est amené à observer une pneumonie à *Pneumocystis carinii* chez un sujet masculin jeune sans antécédents médicaux notables à Los Angeles, présentant un effondrement d'une sous population lymphocytaire jouant un rôle majeur dans l'orchestration des défenses immunitaires : les lymphocytes T-CD4⁺ (Gottlieb *et al*, 1981). En quelques semaines, aussi bien à Los Angeles qu'à New York, d'autres cas de pneumocystoses parfois associés à un sarcome de Kaposi (jusqu'ici exceptionnel en Amérique du nord et en Europe) vont être répertoriés chez des hommes jeunes tous homosexuels. Le CDC (Centers for Disease Control and prevention) va rapidement confirmer l'émergence de pneumocystoses chez des sujets homosexuels à partenaires multiples et présentant en outre des pneumonies à CMV (CytoMegaloVirus), des encéphalites à toxoplasmes et/ou à CMV, des résurgences sévères d'HSV (Herpes Simplex Virus) et/ou de VZV (Varicella-Zoster Virus), des sarcomes de Kaposi... Infections opportunistes et/ou cancers apparaissant à la suite d'une immunodépression liée à l'effondrement des lymphocytes T-CD4⁺. Le terme de SIDA (Syndrome d'Immuno-Déficience Acquise) va être retenu.

Aujourd'hui le SIDA constitue l'un des plus sérieux problèmes de santé publique. C'est une infection virale dont l'agent étiologique est le *Virus de l'Immunodéficience Humaine* (VIH). Deux types de virus ont été mis en cause. Le VIH-1, responsable de la pandémie, et le VIH-2, moins virulent est principalement retrouvé en Afrique de l'ouest (Barré-Sinoussi *et al*, 1983; Clavel *et al*, 1986). Depuis la description des premiers cas de sida (Gottlieb *et al*, 1981), l'infection par le VIH s'est largement répandue dans le monde entier et constitue de nos jours un obstacle au développement (FAO, 1997). Cette infection a toujours constitué un problème majeur à cause de l'absence de traitement curatif et de vaccin.

L'apparition des premières molécules antirétrovirales, bien que très coûteuses s'est traduite par un changement clinique majeur matérialisé par une réduction considérable des taux de morbidité et de mortalité liées à cette infection. Les pays en développement ont véritablement eu accès aux traitements antirétroviraux grâce à la fabrication des médicaments essentiels génériques.

Cependant cette accessibilité récente des pays en développement aux traitements antirétroviraux a mis en exergue une disparité entre la disponibilité des médicaments

antirétroviraux (ARV) et l'insuffisance des outils pour le suivi biologique de cette infection. La non disponibilité des techniques due surtout à leurs exigences en infrastructures de laboratoire onéreuses, entraîne une augmentation du coût du suivi biologique des personnes infectées par le VIH. Cette situation conduit à une mauvaise prise en charge des personnes infectées, entraînant une élévation des taux de morbidité et de mortalité et une émergence de la résistance aux médicaments antirétroviraux (ONUSIDA et OMS, 2005), alors que ces pays ne disposent pas encore de régimes de traitement antirétroviral de seconde ligne.

Pour relever ce défi, de nouvelles méthodes (simples et économiques) de suivi biologique des personnes infectées par le VIH ont été mises au point. C'est dans cette dynamique qu'un nouveau kit, le **suPARnostic™** a été développé par une firme danoise **ViroGates**. Cette méthode est basée sur la mesure de la concentration d'un marqueur d'activation du système immunitaire (le Récepteur soluble de l'urokinase type Plasminogène Activateur : suPAR) dans certains fluides biologiques.

I.1. Généralités sur le suPAR

Le système urokinase type Plasminogène Activateur comprend une protéinase, urokinase type Plasminogène Activateur (uPA); un récepteur, Récepteur de l'urokinase type Plasminogène Activateur (uPAR, CD87) et des inhibiteurs. Le système est impliqué dans la protéolyse péricellulaire, la migration cellulaire et la remodelisation des tissus (Chapman, 1997 ; Blasi, 1997). uPAR est une protéine glycosylée à 3 domaines (D1-D3) qui se lie à l'urokinase avec une forte affinité à travers son domaine D1. Elle est exprimée sur différents types de cellules, les neutrophiles, les éosinophiles, les monocytes, les macrophages, les lymphocytes-T activés et les cellules NK (Nykjaer *et al*, 1994 ; Plesner *et al*, 1994), les cellules endothéliales (Haddock *et al*, 1991) et certaines cellules malignes (de Bock et Wang, 2004 ; Berendt et Stephens, 1998).

Dans certaines conditions physiologiques, cette protéine est surexprimée par les neutrophiles, les éosinophiles, les monocytes, les macrophages, les cellules T-activées et certaines cellules malignes (Plesner *et al*, 1997). uPAR est liée à la surface cellulaire par un glycoposphatidyl inositol (GPI) (Ploug *et al*, 1991). Ce GPI est généralement clivé pour donner une forme soluble du récepteur, le suPAR (Høyer-Hansen *et al*, 1992). Le suPAR a été de ce fait identifié dans le surnageant de cultures cellulaires, dans le sérum, le plasma et dans les urines (Sidenius *et al*, 2000 b). L'élévation des concentrations sériques de suPAR est une conséquence de la surexpression de uPAR sur les surfaces cellulaires.

Plusieurs pathologies conduisent à une augmentation de la concentration de suPAR dans les fluides biologiques. Il s'agit entre autres du paludisme (Ostrowski *et al*, 2005), de la tuberculose pulmonaire (Eugen-Olsen *et al*, 2002), de la méningite à pneumocoque (Wittenhagen *et al*, 2004) et de certains cancers (Riisbro *et al*, 2002 ; Plesner *et al*, 1997). Le système immunitaire est considéré comme activé lorsque la valeur de la concentration de suPAR atteint 3 ng/ml et souvent plus selon les études.

L'infection à VIH-1 conduit également à une surexpression de uPAR sur les monocytes et les lymphocytes-T *in vitro* et *in vivo* (Speth *et al*, 1998 ; Nykjaer *et al*, 1994). Une forte corrélation entre le stade avancé de l'infection à VIH-1 et la concentration en suPAR a été rapportée, suggérant l'utilisation du suPAR comme un marqueur de suivi de cette infection (Sidenius *et al*, 2000 a). Dans la même étude il a été montré en comparaison avec les marqueurs standard de suivi biologique que sont le nombre de lymphocytes T-CD4⁺ et la

charge virale, que le suPAR avait la plus forte valeur pronostique de survie. La concentration de suPAR prédit l'évolution de la charge virale, du nombre de lymphocytes T-CD4⁺ et l'efficacité du traitement antirétroviral chez les enfants (Eugen-Olsen *et al*, 2006 a).

I.2. Problématique

En 2006 on a estimé à 39,5 millions le nombre de personnes infectées par le VIH dans le monde. En dépit des efforts dans la prévention, environ 4,3 millions de nouvelles infections ont été acquises la même année (ONUSIDA, 2006).

Le sida correspond au stade avancé de l'infection à VIH. Il survient en l'absence des traitements antirétroviraux pour 50 % des personnes dans les 10 à 11 premières années après la contamination par le VIH (Girard *et al*, 2004). Les trithérapies antirétrovirales permettent de réduire de 80 % le nombre de cas de sida, l'incidence des infections opportunistes (Girard *et al*, 2004), et le taux de mortalité (Mocroft *et al*, 2003). Aujourd'hui, le taux élevé de morbidité et de mortalité liées à cette infection (ONUSIDA, 2006) peut être du en partie à une inaccessibilité à ces traitements antiviraux, ou à leur exploitation sub-optimale. Le coût des médicaments antirétroviraux a considérablement baissé. Le développement des médicaments génériques a rendu la thérapie anti-VIH possible dans les pays à ressources limitées.

En revanche, le coût du suivi immunovirologique reste encore très élevé. Il constitue ainsi un frein à la prise en charge thérapeutique correcte des patients (Girard *et al*, 2004). Le nombre de lymphocytes T-CD4⁺ et la charge virale sont les paramètres biologiques standard de suivi de l'infection à VIH (Hugues *et al*, 1997 ; Mellors *et al*, 1997). Cependant leurs évaluations imposent une technologie relativement lourde, difficilement transférable en contexte africain (Girard *et al*, 2004). Dans les pays à ressources limitées, malgré le développement de méthodes alternatives de dénombrement des lymphocytes T-CD4⁺ et d'évaluation de la charge virale, le suivi biologique de l'infection à VIH pose encore des problèmes de disponibilité des techniques, et par conséquent de coûts élevés des examens de suivi.

Pour permettre une réduction du coût et améliorer la qualité du suivi biologique des personnes infectées par le VIH-1, **ViroGates** a développé un nouveau kit qui pourrait être accessible à tous les niveaux, le **suPARnosticTM** (Eugen-Olsen *et al*, 2006 b). Ce test permet le dosage d'un marqueur d'activation du système immunitaire (le suPAR) dans certains fluides biologiques. Au cours de cette étude, il a été montré que la concentration de suPAR avait une

valeur pronostique conférée par la détermination de la charge virale. L'avantage du suPARnostic™ est lié à son coût faible, sa simplicité technique et le fait qu'il est facilement transférable. Il coûte 7 à 10 fois moins cher que le comptage des lymphocytes T-CD4⁺, et davantage plus que l'évaluation de la charge virale. Avec le suPAR on pourrait diminuer la fréquence de numération des lymphocytes T-CD4⁺ et de la charge virale du VIH-1.

Aussi du fait de sa forte valeur pronostique dans la survenue du sida, le suPAR permet une meilleure identification des personnes infectées par le VIH-1 nécessitant une prise en charge thérapeutique. En effet un traitement antirétroviral précoce pose des problèmes de coût élevé des médicaments, d'effets secondaires indésirables, et de résistance aux ARV. Par contre un traitement tardif, entraîne une reconstitution insuffisante du système immunitaire, augmente les risques d'hospitalisation et de décès. C'est un test ELISA (Enzyme Linked Immunosorbant Assay) adapté au contexte économique des pays à ressources limitées.

Cependant il existe peu de données sur l'étude de ce marqueur chez les patients africains. Ces données acquises sur les patients en Europe ne semblent pas directement transposables sur les patients africains (Sidenius *et al*, 2000 a). En effet l'activation du système immunitaire est un facteur dominant de l'infection à VIH en Afrique (Bentwitch *et al*, 1995), et l'augmentation de la concentration de suPAR n'est pas spécifique au VIH-1 au cours de cette infection. Certaines pathologies infectieuses fréquentes en Afrique conduisent à une augmentation de la concentration de suPAR (Eugen-Olsen *et al*, 2002 ; Ostrowski *et al*, 2005) ; et il est très probable qu'au cours d'autres pathologies on observe une augmentation de la concentration de ce marqueur. Ce fait justifie les investigations futures du centre Muraz dans le cadre de l'étude de ce marqueur au cours de la fièvre jaune et des hépatites virales. Tous ces facteurs pourraient avoir un impact important sur la pertinence de ce marqueur dans le suivi biologique de l'infection par le VIH-1 en contexte africain. En plus le rôle éventuel de ces infections (sources de suPAR non induit par le VIH-1) dans l'aggravation du déficit immunitaire induit par l'infection à VIH reste discuté (Corbett et De Cock, 2001 ; Badri *et al*, 2001).

C'est dans le but d'évaluer la pertinence du suPAR dans le suivi biologique des personnes infectées par le VIH-1 en contexte africain que nous avons réalisée la présente étude. Cette étude a été possible grâce à une collaboration scientifique avec un laboratoire du Nord : le laboratoire de l'hôpital Hvidrove de Copenhague au Danemark. Les échantillons de l'étude ont été analysés dans ce laboratoire.



Synthèse bibliographique

II. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1. Données épidémiologiques

II.1.1. Modes de transmission

Depuis le début de l'épidémie, trois principaux modes de transmission ont été observés.

- La transmission par voie sexuelle,
- la transmission par voie sanguine,
- la transmission verticale de la mère à l'enfant.

A l'échelon mondial, la majorité des infections par le VIH ont été acquises lors des rapports sexuels (homosexuels et hétérosexuels) non protégés. La transmission sexuelle de l'infection à VIH se fait par l'intermédiaire des muqueuses buccale, génitale ou rectale lorsqu'elles sont en contact avec des sécrétions sexuelles et/ou du sang contenant du virus.

La transmission par voie sanguine concerne principalement trois groupes de populations. Les usagers de drogues par voie intraveineuse, à cause du partage de la seringue et/ou de l'aiguille et le partage de la préparation (drogue). Les hémophiles et les transfusés, à cause de la contamination du sang ou des produits dérivés. Plus rarement les professionnels de santé en milieu de soins et laboratoires, victimes d'accidents exposant au sang.

La transmission verticale est la contamination de l'enfant par sa mère, *in utero* par voie hématogène (le virus ayant traversé la barrière hémato-placentaire) ; *intra partum*, lors de l'accouchement, et au cours de l'allaitement (Leroy *et al*, 1998).

La transmission lors de l'accouchement semble être le cas le plus fréquent.

II.1.2. Situation de l'infection dans le monde

En 2006, 39,5 millions de personnes vivaient avec l'infection à VIH. La même année, près de 4,3 millions de nouvelles infections ont été acquises dans le monde (dont 3,8 millions

uniquement en Afrique subsaharienne) et 2,9 millions de personnes sont mortes de maladies liées au sida (ONUSIDA, 2006).

La distribution des cas par zone géographique montre que l'Afrique subsaharienne est la plus touchée, 24,7 millions de personnes infectées. Cela représente plus de 60 % du taux mondial pour une population qui représente à peine 10 % de la population du globe. Parmi les jeunes de 15 à 24 ans, on estime que 4,6 % des femmes et 1,7 % des hommes vivaient avec le VIH en 2005 (ONUSIDA et OMS, 2005). Le sud et le sud-est asiatiques représentent la seconde région à forte concentration avec environ 6 millions de personnes infectées (ONUSIDA, 2006). Cependant la croissance de l'épidémie la plus forte est toujours enregistrée en Asie centrale et en Europe orientale, notamment en fédération de Russie. Par contre environ 2,2 millions de personnes vivaient avec le VIH/sida en Océanie, et dans les pays industrialisés d'Europe occidentale et centrale et d'Amérique du nord (ONUSIDA, 2006). Ainsi près de 95 % des personnes infectées par le VIH vivent dans les pays en développement.

II.1.3. Au Burkina Faso

Le Burkina Faso reste l'un des pays d'Afrique de l'ouest les plus touchés par l'épidémie du VIH/sida. La séroprévalence du VIH/sida dans la population adulte au Burkina Faso est de 2,3 % (ONUSIDA et OMS, 2005).

Tableau I : Données générales sur l'épidémiologie du VIH/sida au Burkina Faso

Pv/VIH	Adultes de 15 à 45 ans	Femmes	Enfants de 0 à 15 ans	Total
Nombre de Pv/VIH	270 000	150 000	31 000	301 000

(ONUSIDA/CNLS, 2004)

VIH : *Virus de l'Immunodéficience Humaine*

Pv/VIH : Personnes vivant avec le VIH

II.1.4. Ampleur de l'infection dans le monde en développement

II.1.4.1. Impact démographique et socio-économique

Le sida constitue la principale cause de décès des adultes en Afrique subsaharienne. Les conséquences démographiques sont très significatives sur ce continent et dans l'ensemble des pays à fort niveau de prévalence (ONUSIDA, 2006). Le sida a anéanti plusieurs décennies de progrès en matière d'espérance de vie à la naissance, ramenant les indicateurs au niveau des années 1940. Du fait de l'épidémie de sida la mortalité chez les moins de 5 ans a augmenté de 20 à 40 % en Afrique subsaharienne. En 2005, trois millions de personnes sont mortes de maladies liées au sida dont plus d'un demi de million d'enfants (ONUSIDA et OMS, 2005).

Entre 2000 et 2020, 68 millions de personnes dont 55 millions en Afrique, mourront prématurément à cause du sida (Girard *et al*, 2004).

II.1.4.2. Impact sur l'activité économique

La pandémie du VIH/sida affecte l'offre de travail du fait de la mortalité prématurée et de la morbidité dans les populations jeunes en âge de travailler. Des secteurs clés du marché du travail sont particulièrement concernés par la disparition de compétences. C'est le cas du secteur minier en Afrique du sud. Environ 60 % des mineurs ont entre 30 et 44 ans. Dans les 15 prochaines années, ce taux pourrait être ramené à 10 % à cause des décès liés au sida (Dixon *et al*, 2002). Le secteur agricole est également très touché. La FAO et l'ONUSIDA ont estimé qu'entre 1985 et 1997, le sida a provoqué la mort de 7 millions de travailleurs agricoles en Afrique et que 16 millions pourraient décéder d'ici 2015 (FAO et ONUSIDA, 1999).

Le sida entraîne également une augmentation des dépenses de santé. Selon une étude (Bollinger et Stower, 1999) le coût lié au sida pour la compagnie des chemins de fer au Zimbabwe (11 500 salariés) passerait de 39 à 108 millions de Dollars Zimbabwéens (\$Z) entre 1996 et 2005.

II.1.4.3. Impact sur les systèmes de santé

L'épidémie de sida a un effet immédiat sur le secteur de la santé. Elle accroît la demande de services de santé, et simultanément elle affecte le personnel de santé. En effet la proportion de lits hospitaliers occupés par des personnes vivant avec le VIH dans les pays d'Afrique de l'est variait de 30 à 80 % (Haacker, 2002). Dans le même temps, les personnels de santé sont également concernés par le VIH. Au Malawi et en Zambie, les taux de morbidité et de mortalité du sida chez les professionnels de santé ont été multipliés respectivement par 5 et 6. Pour maintenir constant le nombre de médecins et d'infirmières dans ces pays il faudrait dans la période 2000-2010, augmenter de 24 à 40 % la formation de médecins et d'infirmières (Haacker, 2002).

II.1.4.4. Impact sur la sécurité alimentaire et la nutrition

L'agriculture est particulièrement dans les pays en voie de développement un secteur à forte intensité de main d'œuvre. Le secteur agricole est donc particulièrement affecté par le sida. Ce sont non seulement les ménages affectés qui sont menacés dans leur survie, mais c'est également la sécurité alimentaire des pays qui est compromise (Barnett et Whiteside, 2002).

Selon la FAO (FAO, 1997), l'épidémie a anéanti les progrès de 40 années en matière de développement agricole et rural.

Les mécanismes qui conduisent à une réduction de la capacité productive sont bien identifiés (Barnett, 2002). Une diminution de la quantité de la main d'œuvre est décrite au Burkina Faso, où on estime que 20 % des familles rurales ont réduit leur travail agricole ou même abandonné leurs champs à cause du sida (ONUSIDA, 2002). Une réduction des parcelles cultivées, du reste, les plus éloignées et souvent les plus fertiles sont délaissées. C'est le cas du maraîchage au Burkina Faso ou du café et du cacao en Côte d'Ivoire (FAO, 1997). Un changement est observé dans l'éventail des cultures. Celles nécessitant le plus de main d'œuvre sont délaissées au profit de cultures moins exigeantes.

II.1.4.5. Impact sur l'éducation

Contrairement aux autres pathologies, le sida ne touche pas les seules couches les moins instruites et les plus défavorisées de la population. Le secteur de l'éducation est particulièrement concerné. Dans la région du Kwazulu natal en Afrique du sud, 275 000

enfants étaient inscrits à l'école primaire en 2002 contre 370 000 en 1990 (Whiteside, 2002). En République Centrafricaine et au Swaziland, les inscriptions à l'école ont chuté de 20 à 36 % du fait de l'épidémie du VIH/sida. En Afrique du sud, les décès liés au sida ont augmenté de 40 % entre 2000 et 2001 chez les enseignants (Whiteside, 2002).

II.2. L'agent pathogène

II.2.1. Classification

Les virus du sida appartiennent à la famille des *Retroviridae*. Cette famille recouvre toute particule virale possédant une transcriptase inverse (Coffin, 1992). Elle est divisée en trois genres selon des critères de pathogénie, mais aussi selon des paramètres phylogénétiques.

- Les *oncovirus* sont les rétrovirus les plus répandus. Ils sont associés à des tumeurs et à des leucémies.

- Les *lentivirus* sont des virus qui provoquent des maladies à évolution lente (pneumonies, désordres neurologiques). Les VIH font partie de ce sous-groupe (Barré-Sinoussi, 1996). Chez les singes, des virus apparentés appelés SIV (*Simian Immunodeficiency Virus*) ont été isolés à partir de diverses espèces, rhésus macaque, singes verts, mangabés, mandrills, chimpanzé (Hayami *et al*, 1994).

- Les *spumavirus* sont des virus identifiés chez de nombreux mammifères, mais ils ne sont associés à aucune pathologie chez l'homme et chez l'animal.

II.2.2. Structure du VIH-1

Le VIH-1 est un virus de forme sphérique ayant 80 à 100 nm de diamètre.

Son enveloppe est issue de la membrane plasmique des cellules infectées. Dans cette membrane sont incrustés des spicules synthétisés par le virus lui-même. Elle comprend la glycoprotéine gp120 située en surface, et la glycoprotéine gp 41 intégrée dans la membrane. La capside résulte de l'assemblage des protéines p24. A l'intérieur de la capside se trouve la nucléocapside très dense formée des protéines p7 et p9 associées au génome viral.

Le génome viral est constitué de deux molécules d'ARN identiques, qui servent de support de l'information génétique. Ces deux molécules sont associées aux enzymes virales (la transcriptase inverse et l'intégrase) indispensables à la formation de l'ADN proviral et à son intégration dans le génome de la cellule hôte.

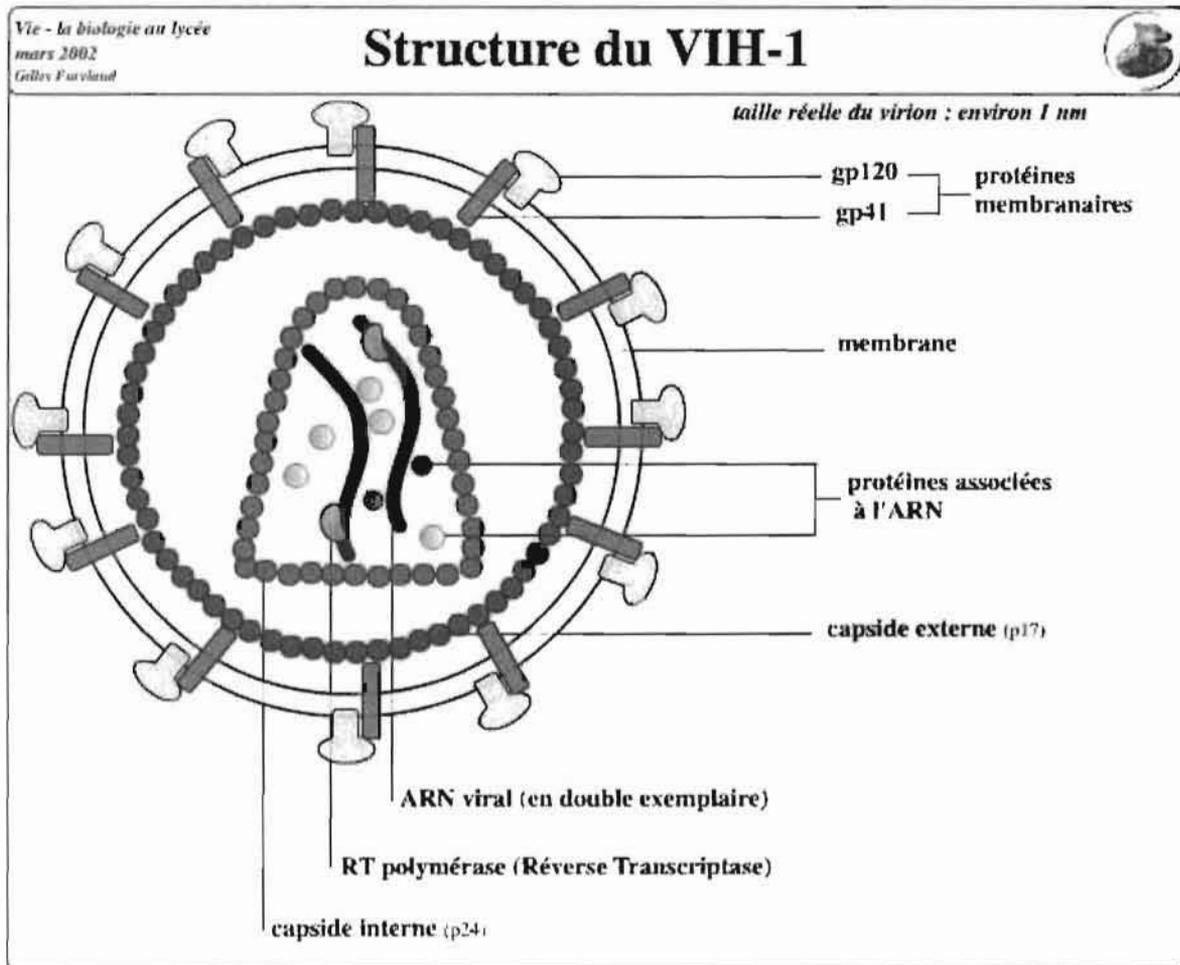


Figure 1 : Structure du VIH-1

gp: glycoprotéine

p = protéine

<http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/SIDA/2struct.htm> (page consultée le 5 mars 2007)

II.2.3. Cycle de réplication du VIH dans la cellule hôte

Les principales étapes du cycle répliatif du VIH sont communes à tous les rétrovirus

(Barré-Sinoussi, 1996 ; Rothe *et al*, 1996).

Les étapes (1) et (2) correspondent à l'attachement et à la pénétration du virus dans la cellule. Cette phase nécessite la reconnaissance par l'enveloppe virale (gp110/120) de molécules de surface cellulaire, appelées récepteurs et corécepteurs du VIH. Le récepteur de haute affinité pour le VIH est la molécule CD4 (Weiss, 1993). Cependant, cette reconnaissance n'est pas suffisante pour l'entrée du virus dans la cellule. Elle est suivie d'un changement conformationnel de la gp110/120 qui permet la reconnaissance de son domaine V3 par les corécepteurs. D'autres mécanismes d'entrée du virus dans la cellule hôte ont été décrits. C'est le cas de la pénétration par l'intermédiaire du récepteur Fc des immunoglobulines, du récepteur pour le complément, ou encore par l'intermédiaire de glycolipides (Weiss, 1993 ; Pantaleo *et al*, 1993).

Ensuite nous avons :

- la décapsidation (3) et la synthèse d'ADN proviral (4) résultant de la copie de l'ARN viral par la transcriptase inverse (RT). Lors de cette synthèse, des erreurs de copie à l'origine de la variabilité génétique du VIH sont effectuées par cette enzyme peu fidèle ;
- l'intégration de l'ADN proviral au génome de la cellule hôte grâce à l'intégrase virale (4).

Les étapes suivantes conduisent à l'expression de nouvelles particules virales. Il s'agit :

- de la transcription du provirus en ARN génomique par l'ARN polymérase II de l'hôte. Cet ARN viral migre alors du noyau vers le cytoplasme et est épissé en différents ARN messagers.
- de la synthèse des protéines virales (5) à partir des ARN messagers viraux ;
- de l'assemblage (6) des polyprotéines virales et de l'encapsidation de l'ARN viral. Cette dernière étape conduit à la maturation des protéines virales et à la formation de nouvelles particules virales, qui bourgeonnent à la surface de la cellule (7), avant d'être libérées (8) dans le milieu extracellulaire, prêtes à infecter une nouvelle cellule cible.

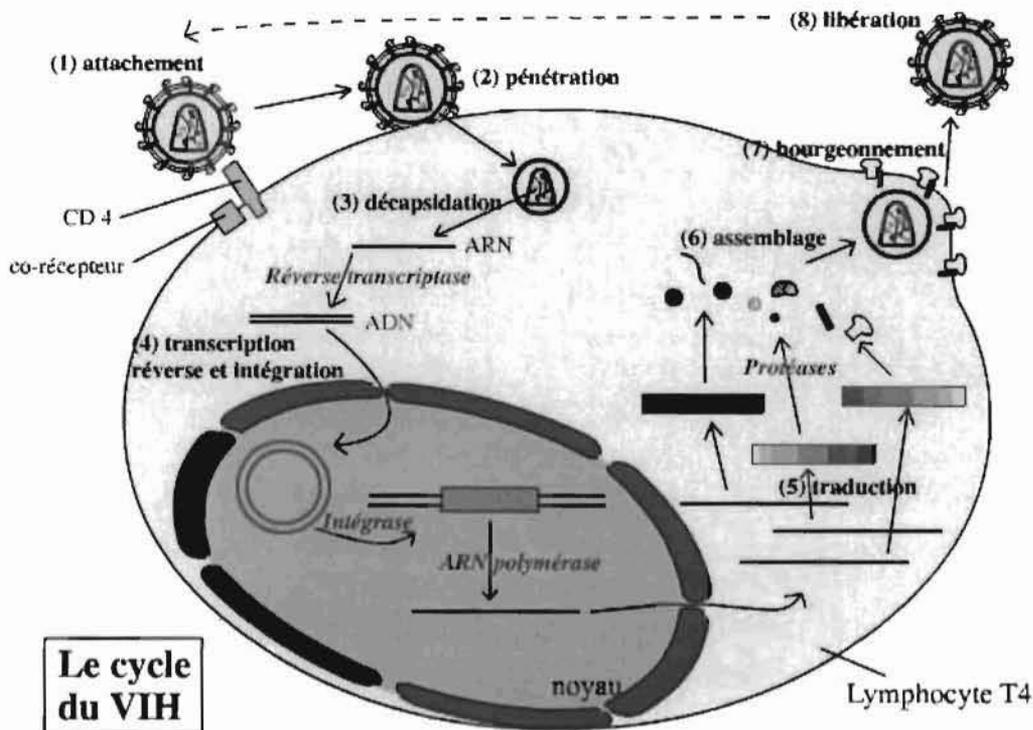


Figure 2 : Cycle de réplication du VIH

Source : <http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/SIDA/images/cycle.swf>

(Page consultée le 20 février 2007)

II.2.4. L'infection par le VIH

L'infection par le VIH évolue en plusieurs phases pouvant se succéder dans le temps,

- la primo-infection avec (50 à 75 % des cas) ou sans symptômes, c'est la phase de séroconversion qui suit la contamination,
- une phase de latence, parfois accompagnée d'un état de lymphadénopathie généralisée,
- une phase à symptômes mineurs,
- la phase d'immunodépression profonde ou stade sida, généralement symptomatique.

II.2.4.1. Physiopathologie de l'infection à VIH

Le VIH provoque une infection chronique de l'organisme humain. Cette infection fait coexister dans l'organisme le virus, présent à l'état libre ou intégré dans le génome des

cellules infectées, et la réponse immunitaire dirigée contre lui, en particulier les anticorps sériques. L'hypothèse qui prévaut actuellement est la suivante ; Dès la primo-infection, le virus se réplique activement dans l'organisme avec une production de 10 milliards de virions quotidiennement, entraînant la destruction d'environ 5 milliards de lymphocytes T-CD4⁺ (Delfraissy, 1999). Cette réplification se stabilise après quelques semaines à un niveau plus ou moins important selon les sujets. Le système immunitaire hyperactivé compense partiellement la destruction massive des lymphocytes T-CD4⁺ en augmentant leur production. Mais l'infection à VIH persiste malgré tout, avec pour conséquence l'émergence et/ou la sélection de virus mutants qui échappent à la réponse immune de l'hôte.

Pendant plusieurs années, les lymphocytes T-CD4⁺ semblent se renouveler rapidement malgré leur destruction par le virus, jusqu'à ce que l'épuisement des organes lymphoïdes centraux (thymus) ne permette plus leur régénération.

Après 10-15 ans d'évolution spontanée sans traitement, le sujet est immunodéprimé (stade sida); des pathologies infectieuses ou tumorales rares (dites opportunistes) surviennent et conduisent au décès.

Actuellement les traitements antirétroviraux évitent/retardent l'évolution vers le stade sida en maintenant les niveaux de répllication du virus au plus bas possible.

La destruction du système immunitaire et la progression clinique avec apparition de maladies opportunistes sont directement liées au taux sanguin des lymphocytes T-CD4⁺ du patient (Ho *et al*, 1995). L'efficacité des traitements antiviraux est évaluée par le niveau de répllication virale mesuré par la charge virale VIH (taux d'ARN plasmatique), la mesure du taux de lymphocytes T-CD4⁺ (immunodépression) et par l'état clinique du patient.

II.2.4.2. Diagnostic et suivi biologique

Chez l'adulte et les enfants de plus de 18 mois, le diagnostic biologique de l'infection par le VIH se fait habituellement de manière indirecte, par la détection des anticorps anti-VIH dans le sérum des patients.

La numération des lymphocytes T-CD4⁺ (cellules clés du système de défense de l'hôte et cibles du virus) et la quantification de l'ARN viral plasmatique renseignent sur le stade de l'infection; et de ce fait ces deux paramètres sont utilisés pour le suivi biologique des personnes infectées par le VIH.

II.2.4.2.1. Diagnostic biologique de l'infection à VIH

Le diagnostic biologique de l'infection à VIH repose généralement sur la détection des anticorps anti-VIH dans le sérum du sujet infecté (test sérologique). Il est généralement basé sur la réalisation et la visualisation d'une réaction antigène anticorps, entre les anticorps sériques du sujet infecté et des antigènes viraux produits en laboratoire. Les méthodes de référence sont actuellement des méthodes immunoenzymatiques de type **ELISA**. Dans les pays en développement, le dépistage se fait essentiellement par des tests dits « rapides ». Au Burkina Faso le diagnostic biologique de l'infection à VIH se fait selon l'algorithme suivant (CNLS-IST, 2004) : on utilise un premier test rapide pour la détection des anticorps anti-VIH (généralement le **Determine HIV**). En cas de positivité, un second test est réalisé (**réactif Immunocomb II bispot, ou Génie II**) pour la confirmation de la présence de ces anticorps, et la discrimination entre les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 afin de définir le type de VIH à la source de l'infection.

Remarque : Si ces tests sont performants pour dépister les anticorps anti-VIH au cours de la phase chronique de l'infection, ils n'offrent cependant pas la même sensibilité au cours de la primo-infection. Chez le nouveau-né et chez l'enfant de moins de 18 mois, on recherche l'ARN viral plasmatique ou l'ADN viral cellulaire par PCR. Si le résultat est négatif, le sujet n'est pas infecté par le VIH; les anticorps anti-VIH qu'il peut avoir dans son sang proviennent de sa mère, et vont disparaître progressivement.

II.2.4.2.2. Méthodes standard de suivi biologique des personnes infectées par le VIH.

II.2.4.2.2.1. Numération des lymphocytes T-CD4⁺

Le VIH s'attaque aux lymphocytes T-CD4⁺ du système immunitaire et induit un déficit profond de l'immunité. La sévérité de ce déficit immunitaire est en grande partie liée à l'interaction spécifique entre la glycoprotéine d'enveloppe du VIH, la gp120, et la molécule CD4. La molécule CD4 est une protéine membranaire exprimée en forte quantité sur la surface des lymphocytes T-auxiliaires. Ces derniers sont responsables de l'initiation de la réponse T-auxiliaire et de l'amplification des diverses fonctions du système immunitaire. La molécule CD4 est aussi faiblement exprimée par les monocytes, les macrophages, les cellules dendritiques, les cellules de Langerhans ainsi que les cellules de la microglie du cerveau.

Le nombre de lymphocytes T-CD4⁺ renseigne donc sur l'état de l'immunité des personnes infectées par le VIH. L'évaluation régulière du nombre de lymphocytes T-CD4⁺ permet de

surveiller la progression de l'infection, afin de savoir quand initier un traitement prophylactique des infections opportunistes et/ou un traitement antirétroviral (O'Brien *et al*, 1996). Elle permet aussi de suivre l'efficacité d'un traitement antirétroviral (Hugues *et al*, 1997). La technique de référence de numération des lymphocytes T-CD4⁺ est la cytométrie en flux. Il existe des techniques alternatives dont le Dynabeads^R, technique manuelle d'immunomarqueurs aux microbilles avec comptage des cellules au microscope à fluorescence.

II.2.4.2.2.2. Quantification de la charge virale plasmatique

La charge virale plasmatique du VIH donne une idée sur l'intensité de la réplication du virus. Sa quantification régulière permet de surveiller la progression de l'infection, et de contrôler l'efficacité virologique d'un traitement ARV (Mellors *et al*, 1996 ; O'Brien *et al*, 1996).

La quantification de l'ARN viral plasmatique se fait par la mesure de la concentration de l'ARN du VIH dans le plasma avec une technique PCR.

La virémie plasmatique est un marqueur prédictif de progression et de survie indépendant du taux de lymphocytes T-CD4⁺ (Mellors *et al*, 1996).

Depuis 1996, la mesure de la charge virale plasmatique a été intégrée en routine dans la prise en charge des patients infectés par le VIH dans les pays développés. Les techniques conventionnelles disponibles sont :

- AmplicorTM HIV-1 Monitor Test v1.5,
- Versant HIV-1 RNA assay v3.0,
- NuclisensTM HIV-1 QTTest,
- LCx HIV RNA Quantitative assay.

Il existe des techniques alternatives dont ExaVir Load Version 2. Les seuils de détection s'abaissent avec les progrès techniques alors que les coûts restent encore trop élevés dans les pays à ressources limitées.

Remarque : La détermination de la charge virale plasmatique est indiquée dans différentes situations cliniques, diagnostic et évaluation des primo-infections, suivi des patients asymptomatiques (tous les 3-4 mois), avant l'initiation ou le changement d'un traitement

antirétroviral, 1 à 2 mois après le début ou la modification du traitement antirétroviral, puis tous les 3-4 mois.

II.2.4.2.2.3. Traitement des personnes infectées par le VIH

▮ Les médicaments antirétroviraux

Les médicaments anti-VIH sont communément appelés antirétroviraux ou ARV. Les ARV inhibent significativement la réplication du VIH, ce qui aboutit à la réduction de la charge virale et à une augmentation du nombre de lymphocytes T-CD4⁺. Cependant, les traitements actuels les plus actifs ne paraissent pas en mesure de bloquer complètement la réplication du virus, repoussant la perspective d'une éradication de l'infection (Grossman *et al*, 1999).

Ces ARV ont pour but d'agir sur différents mécanismes, d'une part sur deux enzymes nécessaires à la réplication du virus (transcriptase inverse et intégrase), et d'autre part sur les mécanismes d'entrée du virus dans la cellule.

Une vingtaine de médicaments antirétroviraux appartenant à 4 classes définies selon leur mode d'action constitue l'arsenal thérapeutique antirétroviral actuel :

- les Inhibiteurs Nucléosidiques de la Reverse Transcriptase (INRT)
- les Inhibiteurs Non Nucléosidiques de la Reverse Transcriptase (INNRT)
- les Inhibiteurs de la Protéase (IP)
- les Inhibiteurs de la fusion.

Remarque : Une monothérapie peut entraîner la sélection des souches résistantes au médicament considéré. Pour prévenir au maximum l'apparition des souches résistantes, des combinaisons de ces médicaments, le plus souvent mais pas exclusivement sous la forme de combinaisons de trois antirétroviraux (les trithérapies) sont utilisées.

Ces médicaments peuvent avoir des effets secondaires passager ou permanent qui peuvent conduire à l'arrêt ou surtout à la modification du traitement antirétroviral.

□ **Quand débiter un traitement par ARV : recommandations pour l'adulte et l'adolescent dans les pays en développement**

Différentes recommandations définissent depuis 1998 les indications des traitements antirétroviraux dans les pays à ressources limitées. Elles sont pour la plupart fondées sur la priorité donnée aux patients symptomatiques ou à fort risque d'évolutivité vers le sida. L'accent est mis sur l'utilisation de critères cliniques et de critères biologiques simplifiés puisque dans les conditions de terrain, les tests biologiques sophistiqués ne sont pas toujours accessibles. Les recommandations de Dakar de 1998, actualisées en octobre 2000 (International AIDS Society, 1999), sont les suivantes :

- chez l'adulte symptomatique au stade sida (groupe C selon la classification du CDC) indépendamment du nombre de lymphocytes T-CD4⁺, le traitement antirétroviral est indiqué.

- En cas de tuberculose chez les patients peu immunodéprimés, le nombre de lymphocytes T-CD4⁺ est le critère d'indication des ARV.

- De même pour les patients asymptomatiques du groupe A, le traitement antirétroviral est préconisé chez ceux dont le taux de lymphocytes T-CD4⁺ est inférieur à 200/mm³.

- Pour les patients ayant entre 200 et 350 lymphocytes T-CD4⁺ le traitement peut être envisagé sur la base d'arguments cliniques (signes du groupe B) ou immunologiques (baisse rapide des lymphocytes T-CD4⁺ justifiant un contrôle rapproché tous les 4 mois au lieu de 6 mois). Les infections opportunistes actives doivent être traitées en priorité. Le traitement antirétroviral étant généralement différé jusqu'à l'amélioration de l'état du patient.

Les critères de mise sous traitement des patients infectés par le VIH-2 ou coinfectés par le VIH-1 et le VIH-2 sont les mêmes que pour l'infection à VIH-1. Compte tenu du caractère évolutif plus lent de ce type d'infection, le suivi du taux des lymphocytes T-CD4⁺ peut être proposé tous les ans avant la mise sous traitement.

Les recommandations de 2002 de l'OMS reposent sur les mêmes principes (International AIDS Society, 1999), et introduisent des critères fondés sur un nombre total de lymphocytes inférieur à 1200/mm³ si la mesure des lymphocytes T-CD4⁺ n'est pas disponible pour les patients aux stades II et III de la classification clinique de l'OMS. En l'absence de mesure de lymphocytes T-CD4⁺, les patients asymptomatiques (stade I) ne devront pas être traités puisque le nombre total de lymphocytes n'est pas un critère biologique suffisant lorsqu'il est pris isolément (absence de critères cliniques).



III. OBJECTIFS DE L'ETUDE

III.1. Objectif général

L'objectif général de cette étude est d'évaluer la pertinence du suPAR dans le suivi biologique des personnes infectées par le VIH-1 au Burkina Faso.

III.2. Objectifs Spécifiques

- Comparer les concentrations de suPAR des patients naïfs de tout traitement antirétroviral et des patients sous traitement antirétroviral.
- Comparer les concentrations de suPAR des patients naïfs de tout traitement antirétroviral ayant un nombre de lymphocytes T-CD4+ < 403 et des patients naïfs ayant un nombre de lymphocytes T-CD4+ > 403.



Matériels et Méthodes

IV. MATERIEL ET METHODES

IV.1. Méthodologie, population et cadre d'étude

La population de cette étude a été constituée à partir de 300 patients infectés par le VIH inclus au cours d'études réalisées au centre MURAZ de 1998 à 2006. Le dosage du suPAR a été réalisé sur 80 échantillons choisis au hasard de la bibliothèque de ces études. Il a porté sur des aliquotes de plasma de patients de la cohorte Yerêlon, de l'association REVS+ (Responsabilité Espoir Vie Solidarité), et des études ORAV (Observatoire de la Résistance aux Antirétroviraux) et ENP (Enfants Non Progresseurs).

Les fiches techniques des différents projets de recherche et un bref résumé sur les patients REVS+ (ci-dessous) donnent une idée des objectifs, des résultats et de la période d'étude.

IV.1.1. Observatoire de la Résistance du VIH aux antirétroviraux dans les pays en voie de développement situés en Afrique et en Asie, cas du Burkina Faso

L'objectif de cette étude était de créer un observatoire de la résistance du VIH-1 aux antirétroviraux (ARV) dans les pays en développement.

Elle s'est déroulée de 2002 à 2004 et a inclus 209 patients naïfs d'ARV, 132 patients sous traitement ARV et 52 patientes ayant réalisé une PTME.

Aucune résistance primaire n'a été détectée. Dans la population traitée il a été observé 20,45 % de mutations associées à un haut degré de résistance aux IP, INNRT et INRT. Environ 16,1% des femmes des programmes PTME ont présenté des mutations de résistances aux INNRT.

IV.1.2. Projet Enfants Non Progresseurs

Les objectifs de cette étude étaient d'identifier les déterminants biologiques associés à la progression à long terme de l'infection à VIH chez l'enfant au Burkina Faso et d'organiser et

évaluer la prise en charge médicale (psychosociale, nutritionnelle et clinique) des enfants recrutés dans le projet. Cette étude s'est déroulée de 1998 à 2004.

Les résultats ont montré une proportion importante d'enfants infectés par le VIH ayant une progression lente de leur maladie 20/69 soit 29%. Une analyse de virus de l'hépatite G a montré une fréquence de ce virus chez les enfants présentant une progression clinique lente.

IV.1.3. Cohorte Yerêlon

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact d'un traitement suppressif de l'infection à HSV-2 par valacyclovir sur le portage génital du VIH chez des patientes co-infectées par HSV-2 et HIV-1. Cette étude s'est déroulée de 2004 à 2005.

Sur un échantillon de 140 patientes, l'étude a montré que la détection et la quantité d'ARN VIH-1 étaient diminuées significativement aux niveaux génital et plasmatique, et que cet impact augmentait d'un point de mesure à un autre. Les femmes traitées par valaciclovir avaient une charge virale plasmatique VIH inférieure en moyenne de 0,5 log copies/ml sur les 3 mois de suivi.

IV.1.4. Les patients de REVS+

REVS+ est une ONG de soutien aux personnes infectées et affectées par le VIH. La clinique REVS+ s'occupe de la prise en charge médicale de tout patient dépisté positif pour l'infection par le VIH. Les examens de suivi biologique des patients membres de l'association sont réalisés au centre Muraz depuis avril 2006 dans le cadre d'une convention entre les deux partenaires. Dans la présente étude, les échantillons de 50 patients de REVS+ faisaient partie de la bibliothèque.

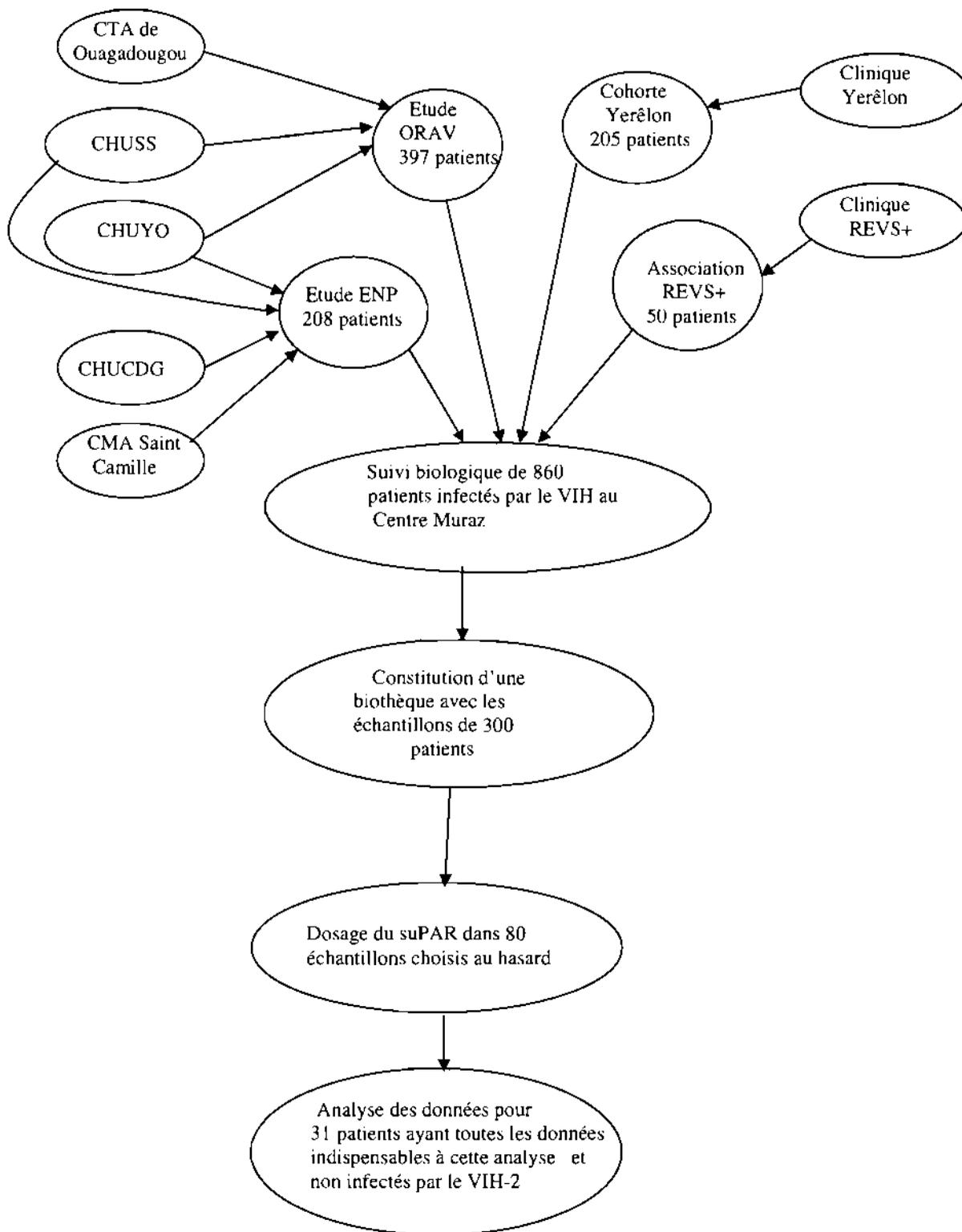


Schéma 1 : Profil schématique de l'étude

IV.2. Type d'étude

Il s'agit d'une étude transversale.

IV.3. Type d'échantillonnage

L'échantillonnage est non probabilisé, il s'agit d'un échantillonnage de commodité basé sur la disponibilité des échantillons de plasma.

IV.4. Critères d'inclusion

Les patients inclus dans cette étude sont ceux qui sont infectés par le VIH-1. Sur l'ensemble des 300 patients, seulement les échantillons de 80 patients avaient été déjà analysés pour le dosage du suPAR. Parmi ces patients, 29 étaient des patients du projet Enfants Non Progresseurs (ENP), 10 du projet Observatoire de la Résistance aux Antirétroviraux (ORAV), 19 patientes de la cohorte Yerêlon et 22 patients de l'association REVS+.

Sur ces 80 patients, l'analyse des données a porté sur 31 qui avaient toutes les données indispensables à cette analyse disponibles et n'étaient pas infectés par le VIH-2.

IV.5. Critères de non inclusion

Les patients infectés par le VIH-2 et les patients coïnfectés par le VIH-1 et le VIH-2 n'ont pas été inclus dans cette étude.

IV.6. Collecte des données

IV.6.1. Les Variables

Les variables suivantes avaient été précédemment déterminées :

- la présence des anticorps anti-VIH dans le sérum des patients,
- le nombre de lymphocytes T-CD4⁺ par microlitre de sang,
- le genre (féminin ou masculin),
- l'âge des patients (en années),
- la prise ou non des médicaments antirétroviraux (naïfs ou traités).

Au cours de la présente étude une seule variable a été déterminée, il s'agit de la quantité de suPAR en nanogramme (ng) par millilitre de plasma.

IV.6.2. Techniques de collecte des données

La sérologie rétrovirale a été déterminée suivant un algorithme de dépistage de l'infection à VIH au Burkina Faso en utilisant les tests Determine et Génie II (CNLS-IST, 2004).

Le dénombrement des lymphocytes T-CD4⁺ avait été fait avec la technique Dynabeads^R (DynaL, France) conformément au protocole en annexe-1, au laboratoire d'Immunologie du Centre Muraz. Egalement tout le matériel utilisé pour le dénombrement des lymphocytes T-CD4⁺ est notifié dans l'annexe n°1.

L'âge, le sexe et le caractère naïf ou non de tout traitement antirétroviral des patients ont été déterminés à partir de questionnaires adressés aux différents patients (parents ou tuteurs pour les enfants), ou souvent à partir de leurs pièces justificatives d'état civil pour l'âge.

Au cours de la présente étude, seule la concentration plasmatique de suPAR de nos échantillons a été déterminée. Ce dosage a été fait selon la technique ViroGates SA, suPARnosticTM ELISA kit code no. A001 (ViroGates, 2007) au laboratoire de l'hôpital Hvidrove de Copenhague au Danemark. Le matériel et le protocole utilisés pour le dosage du suPAR sont bien détaillés dans la référence de ViroGates.

IV.7. Techniques d'analyse des données

Les données ont été saisies sur fichier informatique à l'aide du logiciel Excel 2000 et analysées par le logiciel EPI INFO 6.04. En plus, le logiciel Excel 2000 a été utilisé pour les représentations graphiques. Le test statistique des scores médians a été utilisé pour la comparaison des médianes. La valeur de $p < 0,05$ a été retenue comme seuil de significativité.

IV.8. Considérations éthiques

Afin de garantir l'anonymat, le manipulateur a utilisé un code pour chaque patient, et aucune information concernant le nom, le prénom et l'adresse du patient n'a été utilisée.

Aussi à leur inclusion dans nos études précédentes, un consentement des patients (parents ou tuteurs pour les enfants) sur la possibilité de tester des outils de suivi biologique qui seront développés avec les progrès scientifiques sur les aliquotes conservés avait été obtenu.



Résultats

V. RESULTATS

V.1. Caractéristiques des patients

Au total 31 patients infectés par le VIH-1 ont été retenus pour l'analyse des données (annexe n° 2). Parmi ces patients, 17 étaient naïfs de tout traitement antirétroviral et 14 patients étaient sous traitement antirétroviral. L'âge moyen était de 30 ans [6 à 48 ans]. L'échantillon comprenait 6 patients de sexe masculin et 25 de sexe féminin. Leur nombre moyen de lymphocytes T-CD4⁺ par microlitre de sang était de 394 [12 à 912]. La concentration moyenne de suPAR était de 2,82 ng/ml [1,45 à 5,21 ng/ml].

Dans le groupe des patients naïfs de tout traitement antirétroviral, le nombre moyen de lymphocytes T-CD4⁺ par microlitre de sang était de 403. Neuf patients avaient un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ supérieur à cette moyenne et huit avaient un nombre inférieur à cette moyenne.

V.2. Comparaison des concentrations de suPAR des patients naïfs et des patients sous thérapie antirétrovirale.

Le **tableau II** nous montre les différentes valeurs de la concentration médiane de suPAR et des différents quartiles des patients naïfs et des patients sous traitement antirétroviral.

Tableau II : Concentrations médianes de suPAR, Quartiles 1 et Quartiles 3 des patients naïfs de tout traitement antirétroviral et des patients sous ARV.

Paramètre (ng/ml)	Patients naïfs	Patients sous ARV
Q3	3,52	2,27
Médiane	3,23	1,96
Q1	2,79	1,59

Q3 : Quartile 3

Q1 : Quartile 1

La **figure 3** montre une comparaison des concentrations de suPAR des patients naïfs de tout traitement antirétroviral et des patients sous ARV.

Les concentrations médianes diffèrent statistiquement l'une de l'autre ($p = 0,0007 < 0,05$).

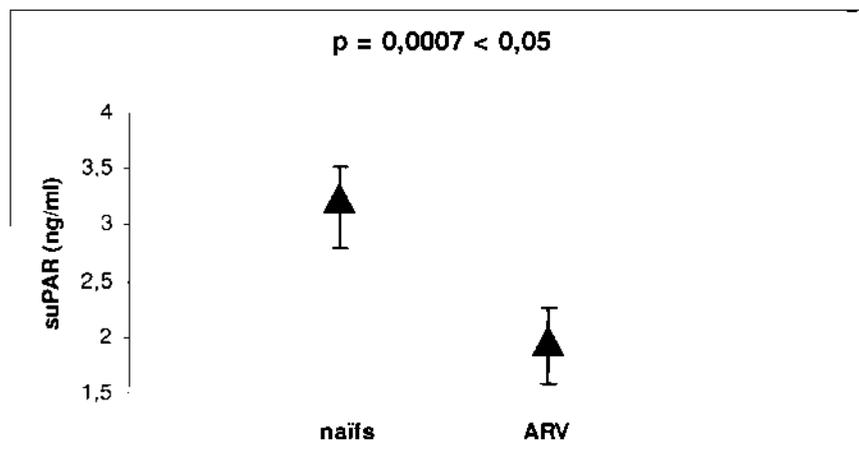


Figure 3 : Comparaison des concentrations plasmatiques de suPAR (ng /ml) des patients sous traitement antirétroviral (ARV) et des patients naïfs de tout traitement antirétroviral (naïfs)

Les concentrations médianes sont représentées par les triangles et les limites représentent les interquartiles. Les groupes sont comparés par le test des scores médians et la valeur de p obtenue est de $0,0007 < 0,05$.

V.3. Comparaison des concentrations de suPAR des patients naïfs ayant un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ > 403 et des patients naïfs ayant un nombre < 403.

Du fait de la très petite taille du groupe des patients naïfs de tout traitement antirétroviral, le groupe a été scindé en deux à partir de la valeur moyenne du nombre de lymphocytes T-CD4⁺. Neuf patients avaient un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ supérieur à cette moyenne (CD4 élevés) et huit avaient un nombre inférieur à cette moyenne (CD4 bas).

Le **tableau III** nous montre les différentes valeurs de la concentration médiane de suPAR et des différents quartiles des patients naïfs ayant un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ supérieur à 403 et des patients naïfs ayant un nombre inférieur à 403.

Tableau III : Concentrations médianes de suPAR, Quartiles 1 et Quartiles 3 des patients naïfs en fonction du nombre de lymphocytes T-CD4⁺

Paramètre (ng/ml)	CD4 > 403	CD4 < 403
Q3	3,13	3,95
Médiane	2 ,80	3,52
Q1	2,24	2,23

Q3 : Quartile 3

Q1 : Quartile 1

La **Figure 4** montre une comparaison des concentrations de suPAR des patients naïfs ayant un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ < 403 et des patients naïfs ayant un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ > 403.

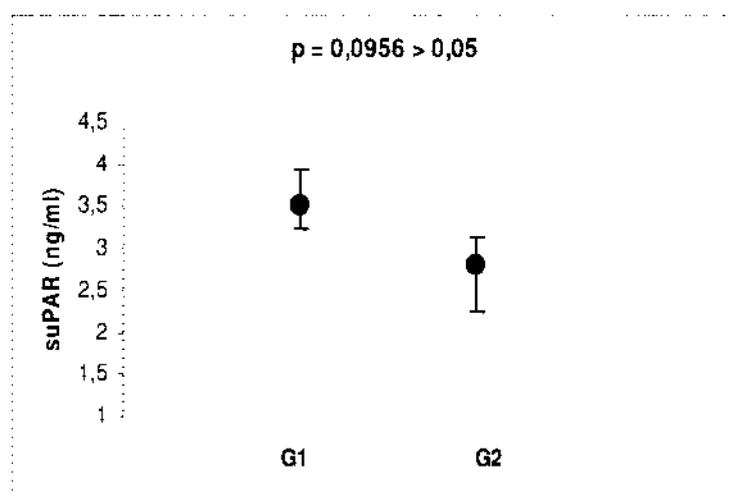


Figure 4 : Comparaison des concentrations plasmatiques de suPAR (ng /ml) des patients naïfs ayant des nombres de lymphocytes T-CD4⁺ différents.

Les concentrations médianes sont représentées par les cercles et les limites représentent les interquartiles. Le groupe 1 (G1) comprend les patients ayant un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ < 403. Le groupe 2 (G2) comprend les patients ayant un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ > 403. Les groupes sont comparés par le test des scores médians et on a une valeur de $p = 0,0956 > 0,05$.



Discussion

VI. DISCUSSION

Le groupe analysé était composé de 25 femmes et 6 hommes. Le sexe ratio (M/F) était de 0,24. En effet 18 des patients retenus pour l'analyse des données (soit un taux de 58 %) sont des patients de la cohorte Yerêlon (exclusivement de sexe féminin).

En comparaison avec les patients sous traitement antirétroviral, les patients naïfs ont des concentrations en suPAR plus élevées ($p = 0,0007 < 0,05$). En accord avec nos résultats, des travaux publiés ont montré une diminution de la concentration du suPAR avec le traitement antirétroviral (Ostrowski *et al*, 2004). A priori cette observation laisse penser que la baisse de la concentration de suPAR est due à une diminution de la charge virale du VIH-1 induite par le traitement antirétroviral. Le VIH-1 entraîne une surexpression de uPAR sur les surfaces cellulaires des monocytes et des lymphocytes-T *in vitro* et *in vivo* (Speth *et al*, 1998 ; Nykjaer *et al*, 1994). uPAR est liée à la surface cellulaire par un glycoposphatidyl inositol qui peut être clivé pour donner une forme soluble du récepteur, le suPAR (Høyer-Hansen *et al*, 1992), d'où une diminution de la concentration de suPAR due au traitement antirétroviral.

Notre étude n'a pas concernée les personnes séronégatives pour le VIH-1. Cependant le fait que le traitement antirétroviral conduit à une diminution de la concentration de suPAR, laisse supposer qu'au cours de l'infection à VIH-1 il est observé une augmentation de la concentration de suPAR. Cela reste à être confirmé dans une étude comparative. Il a été montré dans la littérature que la concentration de suPAR était plus élevée chez les personnes infectées par le VIH-1 que chez les contrôles séronégatifs (Ostrowski *et al*, 2005).

Sur l'effectif limité des patients naïfs de tout traitement antirétroviral, la concentration en suPAR n'est pas significativement différente quand on les compare suivant les strates de lymphocytes T-CD4⁺ différents. En effet la concentration de suPAR n'est pas significativement plus élevée chez les patients ayant un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ inférieur à la moyenne (403), que chez les patients ayant un nombre supérieur à cette moyenne ($p = 0,0956 > 0,05$). Une étude de cohorte danoise a montré que pour les patients se trouvant à un même stade clinique, la concentration de suPAR était plus élevée chez les patients ayant un nombre de lymphocytes T-CD4⁺ plus bas (Sidenius *et al*, 2000 a). Cela laisse penser que c'est un marqueur prédictif de l'évolution péjorative de l'infection à VIH-1.

Plusieurs facteurs peuvent intervenir dans l'augmentation de la concentration de suPAR. C'est notamment les pathologies infectieuses. Dans notre série nous avons testé le suPAR sur des échantillons conservés. Il n'y a pas eu une évaluation des événements morbides des patients. Il est difficile alors d'incriminer seul le VIH-1 dans les variations de concentration de suPAR.

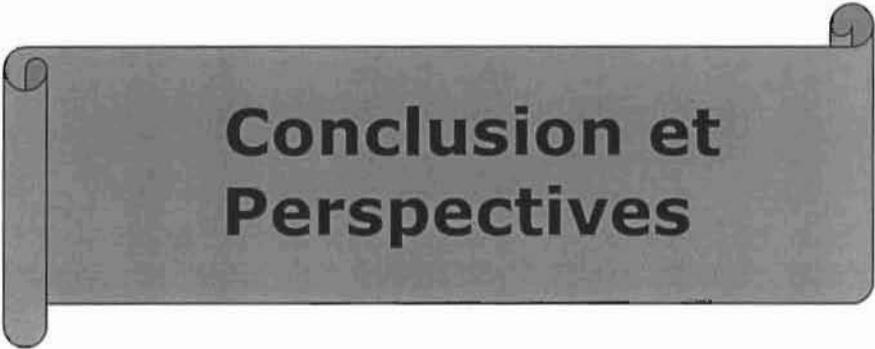
En effet le pneumocoque, *Mycobacterium tuberculosis* et *Plasmodium falciparum* peuvent provoquer à n'importe quel stade de l'infection à VIH-1, une augmentation de la concentration en suPAR. Bien que leurs prévalences n'aient pas été évaluées dans notre échantillon, ces infections sont généralement plus fréquentes chez les personnes infectées par le VIH en Afrique. Dans certains pays d'Afrique subsaharienne, jusqu'à 32,8 % des sujets séropositifs pour le VIH ont une tuberculose pulmonaire active (Awoyemi *et al.*, 2004). Une recrudescence du paludisme clinique est également associée à l'infection à VIH (Whitworth *et al.*, 2000). En effet 71 % de nos échantillons de sang ont été recueillis de septembre à novembre. Cette période correspond à la période de haute transmissibilité du paludisme.

Cependant le rôle de ces infections dans la pathogenèse de l'infection à VIH n'est pas clairement établi. D'après certaines études, la réponse immunitaire de l'hôte à *M. tuberculosis* facilite la réplication du VIH et pourrait accélérer l'évolution naturelle de l'infection à VIH

(Nakata *et al.*, 1997 ; Del Amo *et al.*, 1999). Selon certains chercheurs le paludisme pourrait activé les cellules-T, facilitant ainsi la réplication du VIH (Xiao *et al.*, 1998 ; Froebel *et al.*, 2004). Les charges virales élevées étant associées à une progression de l'infection à VIH (Vlahov *et al.*, 1998), le paludisme peut donc faciliter la progression au stade de déficit immunitaire et par conséquent au décès (Kublin *et al.*, 2005). Cependant dans notre étude une augmentation significative de la concentration de ce marqueur n'accompagne pas une baisse du nombre de lymphocytes T-CD4⁺.

En revanche la contribution de ces infections dans l'augmentation de la concentration du suPAR pourrait être non négligeable, ou encore d'autres pathologies activant le système immunitaire au cours de l'infection à VIH-1 y contribuent significativement.

Cependant nos observations peuvent aussi être dues au fait que l'analyse de nos résultats a concerné seulement 31 patients. Nos observations doivent être confirmées à la fin de cette étude ou par une étude sur une autre cohorte de plus grande taille.



**Conclusion et
Perspectives**

VII. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

VII.1. Conclusion

Chez les patients infectés par le VIH-1, la concentration en suPAR est plus élevée chez ceux ne recevant pas de traitement antirétroviral que chez les patients sous traitement antirétroviral.

Le suPAR pourrait donc être un marqueur prédictif du succès du traitement antirétroviral en contexte africain.

VII.2. Perspectives

- Une étude avec une cohorte indépendante de plus grande taille est indispensable pour confirmer ou non nos résultats.
- Aussi une étude prospective d'une corrélation entre la concentration de suPAR et le temps de survie permettra de mieux apprécier la valeur pronostique du suPAR en contexte africain.
- Enfin une étude de suPAR au cours d'autres pathologies infectieuses fréquentes en Afrique permettra de mieux apprécier l'intérêt de ce marqueur dans le suivi biologique de l'infection par le VIH-1 en Afrique.



Références bibliographiques

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Awoyemi OB., Ige OM., Onadeko BO., Prevalence of active pulmonary tuberculosis in human immunodeficiency virus seropositive adult patients in University College Hospital, Ibadan, Nigeria. *Afr J Med Sci.* 2002 Dec; 31(4): 329-32.

Badri M., Ehrlich R., Wood R., Pulerwitz T. and Maartens G., 2001. Association between tuberculosis and HIV disease progression in a high tuberculosis prevalence area. *Int J Tuberc Lung Dis* 5, 205-207.

Barnett T., 2002. The challenge of HIV/AIDS for Food Security and nutrition. 14th International Conference on AIDS. Barcelona.

Barnett T. and Whiteside A., 2002. AIDS in the 21st century : disease and globalization. Palgrave-Mac-Milan, London.

Barré-Sinoussi F., Chermann J.C. and Rey F.,1983. Isolation of a T-Lymphotropic Retrovirus from a patient at Risk for Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). *Science* 220, 868-871.

Barré-Sinoussi F., 1996. HIV as the cause of AIDS. *Lancet* 348, 31-35.

Behrendt N. and Stephens R.W., 1998. The urokinase receptor. *Fibrinolysis Proteolysis* 12, 191-204.

Bentwitch Z., Kalinkovich A. and Weisman Z., 1995. Immune activation is a dominant factor in the pathogenesis of African AIDS. *Immunol Today* 16, 187-191.

Blasi F., 1997. uPA, uPAR, PAI-1: key intersection of proteolytic, adhesive and chemotactic highways? *Immunol Today* 18, 415-417.

Bollinger L. and Stower J., 1999. The economic impact of AIDS. Glastonbury, CT : Futures Group International.

Chapman H.A., 1997. Plasminogen activators, integrins, and the coordinated regulation of cell adhesion and migration. *Curr Opin Cell Biol* 9, 714-724.

Clavel F., Guetard D., Brun-Vezinet F., Chamaret S., Rey M .A., Santos Ferreira M.O., Rey M.A., Laurent A.G., Dague C., Katlama C., Rouzioux C., Klatzmann D., Champalimaud J. L. and Montagnier L., 1986. Isolation of a new human retrovirus from West African patients with AIDS. *Science* 233, 343-346.

CNLS-IST, 2004. Algorithme de dépistage et diagnostic de l'infection à VIH au Burkina Faso. ENIF. Ouagadougou, Burkina Faso.

Coffin J.M., 1992. Structure and classification of retroviruses. In : *Levy J.A. (Eds): The Retroviridae. Volume 1. Plenum Press, New York.* p : 19-50.

Corbett C. and De Cock K., 2001. The clinical signification of interactions between HIV and TB : more questions than answers. *Int J Tuberc Lung Dis* 5, 205-207.

de Bock C.E. and Wang Y., 2004. Clinical significance of urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) expression in cancer. *Med Res Rev* 24, 13-39.

Del Amo J., Malin A.S., Pozniak A. and De Cock K.M., 1999. Does tuberculosis accelerate the progression of HIV disease? Evidence from basic science and epidemiology. *AIDS* 13, 1151-1158.

Delfraissy J.F., 1999. Mécanismes immunologiques et virologiques impliqués dans l'infection à VIH : Impact des traitements. *La Revue du Praticien* 49, 1740-1745.

Dixon S., McDonald S. and Roberts J., 2002. The impact of HIV and AIDS on Africa's economic development. *Br Med J* 324, 232- 234.

Eugen-Olsen J., Gustafson P., Sidenius N., Fisher T.K., Parner J., Aaby P., Gomes V.F. and Lisse I., 2002. The serum level of soluble urokinase receptor is elevated in tuberculosis patients and predicts mortality during treatment : a community study from Guinea-Bissau. *Int J Tuberc Lung Dis* 6, 686-692.

a-Eugen-Olsen J., Nuttall J., Ryt Hansen R., Westh H., Hussey G.D. and Eley B., 2006. suPAR baseline levels in children at time of ART initiation are predictive of treatment efficacy. In : XVI World AIDS Conference. 14 August Toronto, Canada. Available at <http://www.virogates.com>.

b-Eugen-Olsen J., Stausgaard A., Kahns L. and Kyhse-Andersen J., 2006. suPARnosticTM, a novel and simple assay for monitoring HIV disease progression. In : XVI World AIDS Conference. 14 August. Toronto, Canada. Available at <http://www.virogates.com>.

FAO/UNAIDS, 1997. Sustainable Agriculture/Rural development and vulnerability to the AIDS epidemic. FAO and UNAIDS joint publication, UNAIDS Best Practice Collection.

Froebel J., Howard W., Schafer J.R., Howie F., Whitworth J., Kaleebu P., Brown L.A. and Riley E., 2004. Activation by malaria antigens renders mononuclear cells susceptible to HIV infection and re-activates replication of endogenous HIV in cells from HIV-infected adults. *Parasite Immunol* 26, 213–217.

Gottlieb M., Schroff S.R., Schanker H. M., Weisman J. D., Fan P. T., Wolf R. A. and Saxon A., 1981. *Pneumocystis carinii* pneumonia and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men : evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med* 305 :1425-1431.

Girard P.M., Katlama Ch. and Pialoux G., (2004) VIH n°6 ed. Doin, France.

Grossman Z., Polis M., Feinberg M.B., Grossman Z., Levi I., Jankelevich S., Yarchoan R., Boon J., de Wolf F., Lange J.M., Goudsmit J., Dimitrov D.S. and Paul W.E., 1999. Ongoing HIV dissemination during HAART. *Nature Med* 5, 1099-1104.

Haacker M., 2002. The economic consequences of HIV/AIDS in southern Africa. Washington : IMF Working Paper, International Monetary Fund, 40p.

Haddock R.C., Spell M.L., Baker C.D. III, Grammer J.R., Parks J.M., Speidel M. and Booyse F.M., 1991. Urokinase binding and receptor identification in cultured endothelial cells. *J Biol Chem* 266, 21466 –21473.

Hayami M., Ido E. and Miura T., 1994. Survey of Simian Immunodeficiency Virus among non-human primate populations. *Curr Top Microbiol Immunol* 188, 1-20.

Ho D.D., Neumann A.U., Perelson A.S., Chen W., Leonard J.M. and Markowitz M., 1995. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature* 373 (6510), 123-126.

Høyer-Hansen G., Rønne E., Solberg H., Behrendt N., Ploug M., Lund L.R., Ellis V. and Danø K., 1992. Urokinase plasminogen activator cleaves its cell surface receptor releasing the ligand-binding domain. *J Biol Chem* 267, 18224-18229.

Hugues M.D., Johnson V.A., Hirsch M.S., Bremer J.W., Elbeik T., Erice A., Kuritzkes D.R., Scott W.A., Spector S.A., Basgoz N., Fischl M.A. and D'Aguiña R.T., 1997. Monitoring plasma human immunodeficiency virus (HIV-1) RNA levels in addition to CD4⁺ lymphocytes improves the assessment of antiretroviral therapeutic response. *Ann intern Med* 126, 929-945.

International AIDS Society, 1999. Place of antiretroviral drugs in the treatment of HIV-infected people in Africa. *AIDS* 13 (2), S1-3.

Kublin J., Jere C., Miller W., Hoffman N., Chimbiya N., Pendame R., Chimbiya N., Pendame R., Taylor T.E. and Molyneux M.E., 2005. Effect of *Plasmodium falciparum* malaria on concentration of HIV-1-RNA in the blood of adults in rural Malawi : a prospective cohort study. *Lancet* 365, 233–240.

Leroy V., Newel M.L., Dadis F., Peckham C., Van de Perre P., Bulterys M., Kind C., Simonds R.J., Wiktor S. and Msellati P., 1998. International multicentre pooled analysis of late postnatal mother-to-child transmission of HIV-1 infection. *Lancet* 352, 597-600.

Mellors J.W., Rinaldo C.R.J., Gupta P., White R.M., Todd J.A. and Kingsley L.A., 1996. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 272, 1167-1170.

Mellors J.W., Munoz A., Giorgi J.V., Margolick J.B., Tassoni C.J., Gupta P., Kingsley L.A., Todd J.A., Saah A., Detels R., Phair J.P. and Rinaldo C. R. Jr., 1997. Plasma viral load and CD4⁺ lymphocytes as prognostic markers of HIV infection. *Ann intern Med* 126, 946-954.

Mocroft A., Ledergerber B., Katlama C., Kirk O., Reiss P., D'Armanio M.A., Knysz B., Dietrich M., Phillips A.N. and Lundgren J.D., 2003. Decline in the AIDS and death rates in the EuroSIDA study : an observation study. *Lancet* 362, 22-29.

Nakata K., Rom W.N., Honda Y., Condos R., Kanegasaki S., Cao Y. and Weiden M., 1997. *Mycobacterium tuberculosis* enhances human immunodeficiency virus-1 replication in the lung. *Am J Respir Crit Care Med* 155, 996-1003.

Nykjaer A., Moller B., Todd R.F., Christensen T., Andreasen P.A., Gliemann J. and Petersen C.M., 1994. Urokinase receptor : an activation antigen in human T lymphocytes. *J Immunol* 152, 505-516.

O'Brien W.A., Hartigan P.M., Martin D., Esinhart J., Hill A., Benoit S., Rubin M., Simberkoff M.S. and Hamilton J.D., 1996. Changes in plasma HIV- RNA and CD4⁺ lymphocyte counts and the risk of progression to AIDS. *N Engl J Med* 334, 426-431.

ONU-SIDA, 2002. Rapport sur l'épidémie mondiale de VIH/Sida. Genève, Suisse. <http://www.who.int/>.

ONUSIDA, 2006. Le point sur l'épidémie de sida : rapport annuel d'ONUSIDA. Genève, Suisse. <http://www.unaids.org/>.

ONUSIDA /CNLS, 2004. Données générales sur l'épidémiologie du VIH/SIDA au Burkina Faso. Ouagadougou, Burkina Faso.

ONUSIDA et OMS, 2005. Le point sur l'épidémiologie mondiale de sida : rapport annuel d'ONUSIDA. Genève, Suisse. <http://www.unaids.org/>.

Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et le Développement (FAO), 1997. Impact du VIH /sida sur les systèmes d'exploitation agricole en Afrique de l'ouest. FAO, Rome.

Ostrowski S.R., Katzenstein T.L., Piironen T., Gerstoft J., Pedersen B.K. and Ullum H., 2004. Soluble urokinase receptor levels in plasma during 5 years of HAART in HIV-1 infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr* 35(4), 337-342.

Ostrowski S.R., Ullum H., Goka B.Q., Høyer-Hansen G., Obeng-Adjei G., Pedersen B.K., Akanmori B.D. and Kurtzhals J.A.L., 2005. Plasma concentrations of soluble urokinase-type Plasminogen activator receptor are increased in patients with malaria and are associates with a poor clinical or a fatal outcome. *JID* 191, 1331-1341.

Pantaleo G., Graziosi C. and Fauci A.S., 1993. Mechanisms of disease : the immunopathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 328, 327-336.

Perch M., Kofoed P.E., Fisher T.K., Co F., Rombo L., Aaby P. and Eugen-Olsen J., 2004. Serum levels of urokinase plasminogen activator receptor is associated with parasitemia in children with acute *Plasmodium falciparum* malaria infection. *Parasite Immunol* 26, 207-211.

Plesner T., Ralfkiaer E., Wittrup M., Johnsen H., Pyke C., Pedersen T. L., Hansen N. E. and Danø K., 1994. Expression of the receptor for urokinase-type plasminogen activator in normal and neoplastic blood cells and hematopoietic tissue. *Am J Clin Pathol* 102, 835-841.

Plesner T., Behrendt N. and Ploug M., 1997. Structure, function and expression on blood and bone marrow cells of the urokinase-type plasminogen activator receptor, uPAR. *Stem Cells* 15, 398-408.

Ploug M., Rønne E., Behrendt N., Jensen A.L., Blasi F. and Danø K., 1991. Cellular receptor for urokinase plasminogen. *J Biol Chem* 266, 1926-1933.

Riisbro R., Christensen I.J., Piironen T., Greenall M., Larsen B., Stephens R. W., Han C., Høyer-Hansen G., Smith K., Brüner N. and Harris A. L., 2002. Prognostic significance of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in serum and cytosol of tumor tissue from patients with primary breast cancer. *Clin Cancer Res* 25, 53-56.

Rothe M., Israël N. and Barré-Sinoussi F., 1996. Mécanismes de la réplication virale des VIH. *Medecine Therapeut* 2, 12-18.

a-Sidenius N., Sier C.F., Ullum H., Pedersen B.K., Lepri C.A., Blasi F. and Eugen-Olsen J., 2000. Serum level of soluble urokinase-type plasminogen activator receptor is a strong and independent predictor of survival in human immunodeficiency virus infection. *Blood* 96, 4091-4095.

b-Sidenius N., Sier C.F. and Blasi F., 2000. Shedding and cleavage of the urokinase receptor (uPAR) : identification and characterisation of uPAR fragments *in vitro* and *in vivo*. *FEBS Lett* 475, 52-56.

Speth C., Pichler I., Stockl G., Mair M. and Dierich M.P., 1998. Urokinase plasminogen activator receptor (uPAR; CD87) expression on monocytic cells and T cells is modulated by HIV-1 infection. *Immunobiology* 199, 152-162.

ViroGates, 2007. Enzyme immunoassay for quantitative determination of soluble urokinase plasminogen activator receptor in human plasma. Ed. 1 p : 1-9 (Danemark). Available at ig@virogates.com.

Vlahov D., Graham N., Hoover D., Flynn C., Bartlett J.G., Margolick J.B., Lyles C.M.,

Nelson K. E., Smith D., Holmberg S. and Farzadegan H., 1998. Prognostic markers for AIDS and infectious disease death in HIV-1 infected injection drug users : plasma viral load and CD4R cell count. *JAMA* 279, 35-40.

Weiss R.A., 1993. Cellular receptors and viral glycoproteins involved in retrovirus entry. In : *Levy J.A., (Eds) : The Retroviridae. Vol 2. Plenum Press, New York.* p: 1- 108.

Whiteside A., 2002, HIV/AIDS, health and education. In : *Forsythe S., ed. State of the Art, AIDS and economics. IAEN, 24-29.*

Whitworth J., Morgan D., Quigley M., Smith A., Mayanja B., Eotu H., Omoding N., Okongo M., Malamba S. and Ojwiya A., 2000. Effect of HIV-1 and increasing immunosuppression on malaria parasitaemia and clinical episodes in adults in rural Uganda : a cohort study. *Lancet* 356, 1051-1056.

Wittenhagen P., Kronborg G., Weis N., Nielsen H., Obel N., Pedersen S. S. and

Eugen-Olsen. J., 2004. The plasma level of soluble urokinase receptor is elevated in patients with *streptococcus pneumoniae* bacteremia and predicts mortality. Clin Micro Inf 10, 409-415.

Xiao L., Owen S.M., Rudolph D.L., Lal R.B. and Lal A.A., 1998. *Plasmodium falciparum* antigen-induced human immunodeficiency virus type-1 replication is mediated through induction of tumour necrosis factor-alpha. J Infect Dis 177, 437- 445.



Annexes

ANNEXES

Annexe 1

DYNABEADS (Dynal, France)

Protocole de dénombrement des lymphocytes T-CD4⁺

1. Préparation des échantillons sanguins et déplétion monocyttaire

1.1. Prélever le sang dans 1 tube avec anticoagulant k3EDTA ou ACD

Mélanger doucement par retournements

Identifier les tubes de sang en y portant le numéro du malade (ex M1, M2, M3, etc)

Conserver les tubes de sang à température ambiante

1.2. Sortir les réactifs Dynabeads du réfrigérateur et laisser revenir à température ambiante

1.3. Mettre à agiter les tubes de sang pendant 5 minutes à température ambiante sur l'agitateur rotatif Dynal MX1 (vitesse moyenne)

Remarque : Pendant l'incubation, préparer les étapes suivantes 1.4., 1.5. et 1.6.

1.4. Identifier 1 microtube Dynal **T1** pour chaque malade en y portant le numéro du malade (exemple T1 M1, T1 M2, T1 M3 etc)

1.5. Se placer si possible sous une hotte à flux laminaire

Diluer dans 1 microtube **T2** le réactif Dynabeads anti-CD14 au ½ dans du tampon PBS

Prévoir 30 µl pour 1 malade (15 µl PBS + 15 µl anti-CD14)

60 µl pour 2 malades, (30 µl PBS + 30 µl anti-CD14)

80 µl pour 3 malades (40 µl PBS + 40 µl anti-CD14)

Utiliser une P20 ou une P50 ou une P100 pour les dilutions

1.6. Ajouter dans chaque microtube Dynal **T1** portant le numéro du malade :

350 µl de PBS (utiliser une P1000)

125 µl de sang total correspondant au malade (utiliser une P200)

25 µl de réactif Dynabeads anti-CD14 dilués au 1/2 (tube T2) (utiliser une P50)

Remarque : *Prélever le sang total se trouvant au milieu du tube de sang. Essuyer le cône jaune avec un papier buvard du haut vers le bas. Puis, en déposant les 125 µl de sang total, rincer le cône jaune de la pipette dans le PBS.*

Resuspendre bien le tube T2 à l'aide de la pipette avant de prélever les 25 µl d'anti-CD14 dilués au 1/2. Puis, en déposant les 25 µl d'anti-CD14 dilués au 1/2, rincer le cône jaune de la pipette dans le PBS.

1.7. Fermer hermétiquement les microtubes T1 avec les bouchons Dynal (*visser en poussant vers le bas*)

Agiter doucement les microtubes T1 pendant 10 secondes (*par retournements*)

Mettre à agiter les microtubes T1 pendant 10 minutes à température ambiante sur l'agitateur rotatif Dynal MX1 (vitesse moyenne).

Remarque : *L'action de rotation et de va et vient est impérative. S'assurer que les microtubes T1 placés sur l'agitateur MX1 tournent bien. Sinon, arrêter l'agitateur, retirer les microtubes et agiter les par retournements, puis les replacer sur l'agitateur et relancer. Toute négligence à ce stade se traduit par une baisse du rendement*

1.8. Récupérer les microtubes Dynal T1

Enlever doucement les bouchons en prenant soins de faire retomber les gouttelettes de sang restant sur les bouchons au fond des microtubes

Jeter ensuite les bouchons dans le crachoir contenant l'eau de javel diluée

Remarque : *si vous avez manipulé au moins 3 échantillons, songer à resuspendre les microtubes T1 avec une P200 avant de passer rapidement à l'étape suivante.*

1.9. Positionner correctement l'aimant Dynal sur le portoir Dynal

Placer les microtubes Dynal T1 sur le portoir aimanté

Laisser incuber 2 minutes à température ambiante

1.10. Identifier 1 microtube Dynal **T3** pour chaque malade en y mentionnant le numéro du malade (exemple T3M1, T3M2, T3M3, etc).

Déposer 200 µl de PBS dans chaque microtube T3 avec une P200 ou avec une P1000.

1.11. Transférer dans chaque microtube T3, 200 µl de sang démonocyté provenant des microtubes T1 correspondants (de l'étape 1.9.) avec une P200

***Remarque :** Les microtubes T1 doivent rester positionnés sur le portoir aimanté pendant que l'on prélève les 200 µl de sang démonocyté. Prendre soins de ne pas toucher le côté des billes avec le cône jaune.*

1.12. Jeter en toute sécurité les microtubes Dynal T1 contenant les rosettes de monocytes (bille-cellules) dans un crachoir contenant l'eau de javel diluée.

2. Séparation des lymphocytes T-CD4⁺

2.1. Ajouter 25 µl de réactif Dynabeads anti-CD4 **non dilué** dans les microtubes T3

2.2. Fermer hermétiquement les microtubes Dynal T3 avec les bouchons Dynal

Agiter doucement les microtubes Dynal T3 pendant 10 secondes

Mettre à agiter les microtubes Dynal T3 pendant 10 minutes à température ambiante sur l'agitateur rotatif Dynal MX1 (vitesse moyenne).

2.3. Récupérer les microtubes Dynal T3

Enlever doucement les bouchons en prenant soins de faire retomber les gouttelettes de sang restant sur les bouchons au fond des microtubes

Jeter ensuite les bouchons dans le crachoir contenant l'eau de javel diluée

***Remarque :** si vous avez manipulé au moins 3 malades, songer à resuspendre les microtubes T3 avec une P200 avant de passer rapidement à l'étape suivante*

2.4. Positionner correctement l'aimant Dynal sur le portoir Dynal

Placer les microtubes Dynal T3 sur le portoir aimanté

Laisser incuber 2 minutes à température ambiante

2.5. Lavage des rosettes

Eliminer le surnageant par 3 pipetages de 200 µl avec une P200

Retirer les microtubes Dynal T3 du portoir aimanté

Distribuer rapidement 500 µl de PBS dans chaque microtube T3 (du côté cellules)

Placer un morceau de parafilm doublé sur chaque microtube T3

Boucher chaque microtube T3 avec les bouchons Dynal

Resuspendre doucement pendant 10 secondes (*par retournements*)

Retirer les bouchons et les parafilms et les jeter dans le crachoir

2.6. Positionner correctement l'aimant sur le portoir Dynal

Déposer les microtubes Dynal T3 sur le portoir aimanté

Incuber 2 minutes à température ambiante

Eliminer le surnageant par 3 pipetages de 200 µl avec une P200

Remarque : pendant l'incubation, préparer l'étape 3.1.

3. Dénombrement des lymphocytes T-CD4⁺

3.1. Récupérer les microtubes Dynal T3

Distribuer rapidement 50 µl de tampon de lyse dans chaque microtube T3 (du côté cellules)

Agiter au Vortex pendant 10 secondes

Laisser reposer pendant 5 minutes

Agiter au Vortex pendant 10 secondes

Ajouter 50 µl de tampon d'acridine orange dans chaque microtube T3

Agiter au Vortex pendant 10 secondes

Laisser reposer 5 minutes à l'**obscurité**

3.2. Dénombrement des noyaux des lymphocytes T-CD4⁺

Resuspendre bien les microtubes T3

Prélever 15 µl dans chaque microtube T3 et déposer dans une cellule de Malassez précédemment recouverte d'une lamelle

Laisser reposer 5 minutes

Placer sous un microscope à fluorescence G x 40

Les noyaux des lymphocytes T-CD4⁺ apparaissent sous forme de point vert fluorescent

Remarque : Bien visualiser les lignes et les colonnes de la cellule de Malassez

Bien distinguer les noyaux des artefacts éventuels

Compter l'ensemble des noyaux sur toute la cellule de Malassez.

La concentration cellulaire dans 1 µl de sang total est égale au nombre total de noyaux comptés sur toute la cellule de Malassez multiplié par 2.

Remarque : Les microtubes T3 peuvent être conservés 1 heure à +4°C avant la lecture

4. Matériel nécessaire à la réalisation de la manipulation

Microtubes Dynal DYN93.002 avec bouchons

Anticorps Dynabeads DYN111.11 Anti-CD14

Anticorps Dynabeads DYN111.05 Anti-CD4

Tampon de lyse Dynabeads DYN930.00

Tampon d'Acridine Orange Dynabeads DYN930.01

Aimant Dynabeads DYN120.08 MPC-S

Agitateur rotatif Dynal MX 1

Cellule de Malassez double métallisée POLY LABO

Microscope à fluorescence, Minuteur, Compteur de cellules

Tubes k3EDTA ou ACD, Pipettes P20, P50, P100, P200 et P1000

PBS, Papier parafilm

Cônes jaunes (20, 50, 100 et 200 µl), Cônes bleus (200 et 1000 µl)

Marqueurs indélébiles de différente couleur

Crachoir contenant de l'eau de javel diluée, Portoir de microtubes Dynal

Sacs poubelles, Papier buvard, Vortex, Gants en latex, portoir de tubes d'échantillons pour les prélèvements sanguins.

Annexe 2

ARV	Sexe	Age	CD4/µl	CD87 (ng/ml)
0	M	35	12	4,84
0	F	28	208	5,21
0	F	29	52	2,43
0	M	44	182	3,77
0	F	36	402	3,21
0	F	34	300	3,52
0	F	40	336	3,23
0	F	22	576	2,22
0	F	34	681	1,77
0	F	32	446	2,26
0	M	13	632	2,79
0	M	8	448	3,42
0	F	8	164	3,26
0	F	9	187	3,95
0	M	8	619	3,43
0	M	8	705	2,84
0	F	6	912	2,8
1	F	48	114	2,08
1	F	41	382	3,6
1	F	24	203	1,81
1	F	45	338	2,19
1	F	45	202	1,45
1	F	41	824	2,43
1	F	33	342	1,92
1	F	34	412	1,57
1	F	29	249	1,76
1	F	42	307	1,59
1	F	37	387	3,75
1	F	31	464	2,27
1	F	27	131	1,99
1	F	37	617	1,47

ARV = 0 (patients naïfs)

ARV = 1 (patients sous ARV)

Abstract

Objective: to evaluate whether the soluble urokinase plasminogen activator receptor (suPAR) is the pertinent marker in African HIV-1 infection monitoring.

Design: suPAR was measured using ELISA test in 31 patients; 17 patients were naïve for antiretroviral treatment and 14 were treated with highly antiretroviral therapy.

CD4 count was previously determined by Dynabeads (Dynal, France) technique. Age and sex were also previously determined.

Results: The levels of suPAR were significantly elevated within patients who are naïve of any antiretroviral treatment compared to the patients receiving antiretroviral treatment ($p= 0.0007 < 0.05$, test of median).

Within patients who are naïve of any antiretroviral treatment the levels of suPAR are not significantly high for those whose CD4 cells count is below the average number (403) than those whose CD4 cells count is above the average number ($p= 0.0956 > 0.05$, test of median).

Conclusion: The levels of suPAR decreased with antiretroviral treatment. Therefore, in African HIV-1 infection, suPAR should be a marker of virological efficacy of antiretroviral treatment.

Key words: suPAR, HIV-1, Africa, biological monitoring, pertinency