

Cours de Microbiologie
4^{ème} année Pharmacie
Pr ag Sonia Benammar
MCA-HU en Microbiologie médicale
Département de Médecine- Faculté de Médecine Batna
Année universitaire 2019-2020
Mail : miryaben@yahoo.fr

<p>VIRUS DE L'IMMUNODEFISCIENCE HUMAINE (VIH)</p>
--

PLAN

- I. OBJECTIFS DU COURS
- II. HISTORIQUE
- III. CLASSIFICATION
- IV. STRUCTURE
- V. MULTIPLICATION VIRALE
- VI. CARACTERISTIQUES DU VIH
- VII. EPIDEMIOLOGIE
- VIII. PHYSIOPATHOLOGIE-TRANSMISSION-CLINIQUE
- IX. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE
- X. TRAITEMENT
- XI. PREVENTION
- XII. CONCLUSION

I. OBJECTIFS DU COURS :

Connaitre les particularités dans la structure du virus HIV ainsi les étapes de la multiplication virale et les traitements antirétroviraux possibles pouvant agir à chacune de ces étapes. Connaitre la physiopathologie, les modes de contamination et l'évolution clinico-biologique de l'infection par le VIH. Etudier les différentes techniques utilisées dans le diagnostic biologique de l'infection ainsi que leur indication en fonctions des cas de patients. Terminer par les bases de prophylaxie et de traitement curatif.

II. HISTORIQUE :

1981 : Sida maladie décrite pour la 1^{ère} fois aux USA chez des homosexuels.

1983 : Identification du virus par des chercheurs de l'Institut Pasteur -Paris.

1986 : Isolement d'un 2^{ème} virus VIH-2 chez des patients originaires de l'Afrique de l'Ouest.

1981 : Une maladie mortelle => 2015 : une maladie chronique

2008 : prix Nobel de médecine pour F. Barré- Sinoussi et L. Montagné.

❑ Les VIH type 1 et 2, agents étiologiques du SIDA (Syndrome d'Immunodéficience Acquis) chez l'homme, sont apparentés aux lentivirus de primates appelés SIV pour Simian Immunodeficiency Virus. Ils sont le résultat de plusieurs transmissions inter espèces de virus simiens à l'homme.

❑ Le mode exact de transmission des virus simiens à l'homme n'est pas connu. Plusieurs hypothèses sont émises à savoir : l'exposition à du sang ou à des sécrétions d'animaux infectés à l'occasion de la chasse, la préparation de la viande de brousse ou les morsures de singes captifs. L'origine des VIH étant la partie ouest de l'Afrique centrale.

❑ Après une étape de passage de la barrière d'espèce et d'adaptation à son nouvel hôte, le virus a diffusé à travers la population.

III. CLASSIFICATION :

Le VIH appartient à la famille des Rétroviridae, à la sous-famille des Orthoretrovirinae et au genre Lentivirus. On distingue deux types VIH-1 et le VIH-2, antigéniquement distincts avec 42% d'homologie au niveau du génome. L'analyse phylogénétique a permis de classer le VIH1 en groupes, sous types et recombinants (au sein du groupe M qui est pandémique) (**Fig1**). Ces virus sont caractérisés par : leur mode de réplication avec ARN viral transcrit en ADN proviral dans la cellule infectée grâce à une enzyme virale (RT), ainsi que par le mode d'évolution de l'infecté qu'ils suscitent qui est lente.

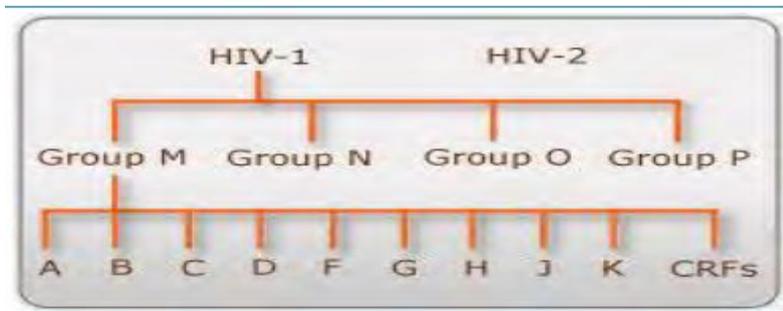


Fig1. Classification du VIH en types, groupes et sous types

IV. STRUCTURE :

Le VIH possède une forme sphérique dont la taille est de 80 à 120nm de diamètre. Il comprend :

IV.1. Une enveloppe :

D'origine cellulaire dans laquelle sont ancrées les glycoprotéines structurées en deux sous-unités pour le VIH :

- **La gp120** : qui se fixe au récepteur cellulaire.
- **La gp41**, transmembranaire liée à la gp120, est responsable de la fusion de l'enveloppe avec la membrane cellulaire.

Pour le VIH, ces 2 glycoprotéines sont la **gp 125 et gp 36**.

IV.2. Une matrice : tapisse la face interne de l'enveloppe. Contient la **P17**.

IV.3. Une capsid : complexe

- Formée de protéine interne majeure : **P24 pour VIH1 et P26 pour VIH2**.
- A l'intérieur de la capsid, nous trouvons :
 - ❖ Les protéines de la nucléocapsid : p7-p9.
 - ❖ Les enzymes : transcriptase inverse, protéase et intégrase.
 - ❖ **Un ARN diploïde** : 2 molécules d'ARN monocaténaire.

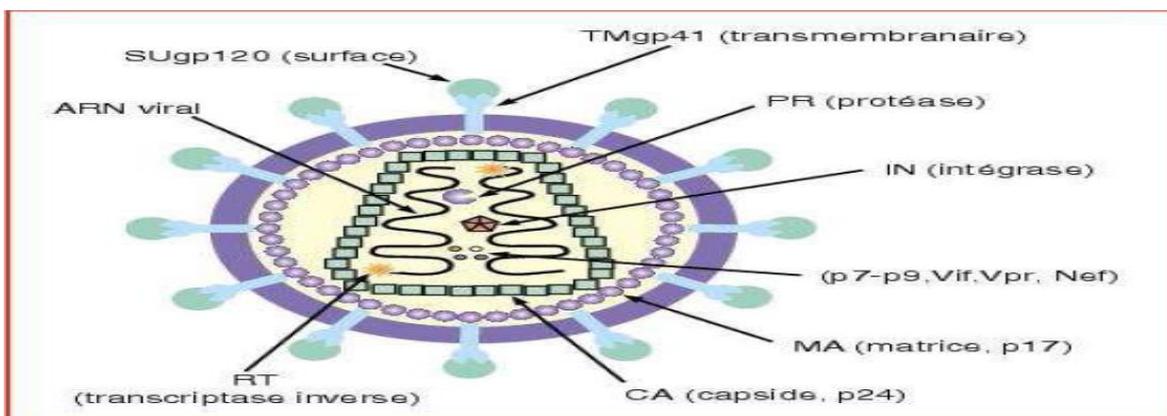


Fig 2. Organisation génomique du VIH-1

V. MULTIPLICATION VIRALE :

La multiplication virale suit plusieurs étapes :

1. **Attachement** : Le virus se fixe sur le lymphocyte T4, par reconnaissance entre la protéine de surface gp120 et la protéine CD4 du lymphocyte ainsi qu'aux corécepteurs CCR5 OU CXCR4.
2. **Pénétration** : par fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire.
3. **Décapsidation** : et libération de l'ARN viral dans le cytoplasme.
4. **Intégration génomique** : transcription inverse grâce à la Reverse Transcriptase virale en ADN double brin. Passage dans le noyau de la cellule, l'ADN se circularise puis va s'intégrer dans l'ADN cellulaire. Le provirus peut rester latent pendant des mois ou des années.
5. **Cycle productif** : cette étape aboutit à la synthèse d'ARN génomiques qui serviront de génomes pour les nouveaux virions et d'ARN messagers qui seront traduits en une polyprotéine clivée en protéines de structure et en protéines enzymatiques.
6. **Assemblage** : les protéines et l'ARN viral s'associent pour former de nouveaux virus.
7. **Bourgeonnement** : à travers la membrane plasmique.
8. **Libération** : ils peuvent infecter de nouveaux lymphocytes.

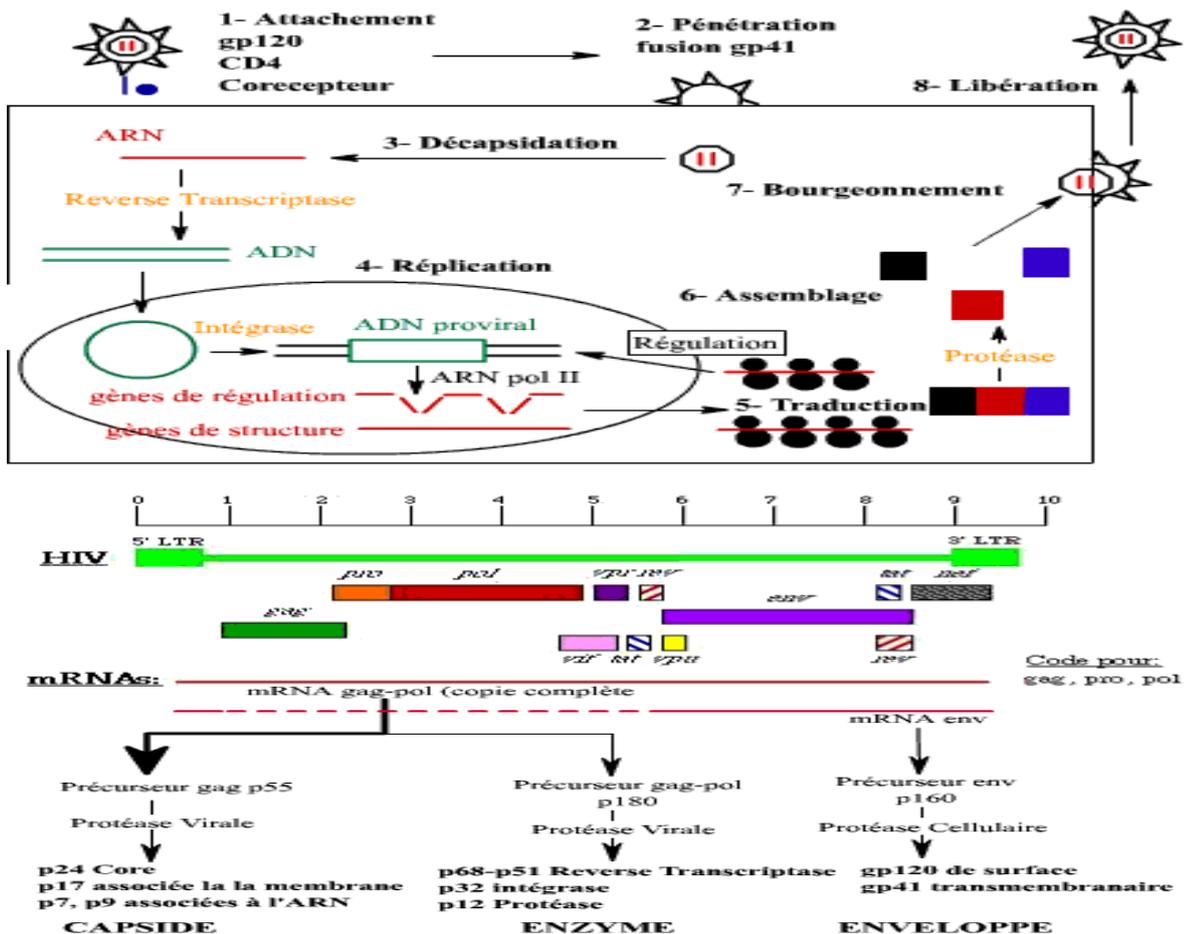


Fig3 et 4. Etapes détaillées de la multiplication virale

VI. CARACTERISTIQUES DU VIH :

1. **La variabilité génétique** est la caractéristique majeure du VIH. Elle est localisée au niveau du gène env (gp120). En effet ce dernier contient des domaines bien conservés, comme celui de la reconnaissance du récepteur CD4 et des **domaines hypervariables** parmi lesquels se trouve l'épitope majeur de neutralisation. Les conséquences sont :

- La résistance aux antirétroviraux.
- L'échappement aux réponses immunitaires de l'organisme.

2. Chez un même individu, on peut trouver des **Quasi-espèces= variabilité intra individuelle**. Cette variabilité est due à une réplication virale intense (10^{10} virions produits/j), ainsi qu'à l'infidélité de la transcriptase Inverse à l'origine de mutations ponctuelles. De ce fait, les mutations de résistances existent avant le traitement et un équilibre des quasi-espèces est observé. Seulement, lors de l'instauration du traitement antirétroviral, cet équilibre est rompu et la sélection des variants résistants qui deviennent majoritaires est aisée.

3. **Propriétés physico-chimiques** : C'est un virus fragile, sensible à l'alcool à 70%, à l'eau de javel à 10%, au PH <6 et >10, à un chauffage à 56°C pendant 30 mn. A forte concentration, le virus persiste : 15j à 20°C et 11j à 37°C.

VII. EPIDEMIOLOGIE :

- En 2016, selon l'OMS :

- 36,7 millions de personnes vivaient avec le HIV dans le monde dont 1,8 millions de nouvelles infections
- 1 million de personnes sont décédées d'une ou des causes liées au VIH dans le monde.
- La Région africaine où 25,6 millions de personnes vivaient avec le VIH en 2016 est la région la plus touchée.

- En 2013, toujours selon l'OMS : La prévalence est estimée à 0.8% avec de fortes disparités régionales 4,5% sur le continent africain avec certains pays où 30% de la population serait infectée et des régions moins touchées comme le Pacifique Ouest

-Le HIV1 a une répartition mondiale alors que l'HIV2 a une répartition géographique très particulière car il reste localisé principalement dans les pays d'Afrique de l'ouest.

-En Algérie, l'infection à VIH est à déclaration obligatoire depuis 1990. La prévalence y est faible (<0,1%). Le laboratoire de référence du VIH de l'Institut Pasteur d'Algérie a comptabilisé, au 30 septembre 2013 : 1500 sidéens et 6603 séropositifs depuis l'apparition des premiers cas dans le pays, en 1985. Pour l'année 2013, 78 nouveaux sidéens et 459 séropositifs ont été recensés. De 1985-2015, sont recensées 9846 **personnes vivant avec le VIH** (8192 séropositifs et 1651 au stade SIDA).

VIII. PHYSIOPATHOLOGIE-TRANSMISSION-CLINIQUE :

❑ Le VIH est présent dans la plupart des liquides biologiques : sang, sperme, sécrétions vaginales +, mais également dans la salive, le LCR, le liquide pleural, les urines et le lait.

❑ Les modes de transmission de ce virus sont :

1. Voie sexuelle : hétérosexuelle et homosexuelle. Les partenaires multiples favorisent ce risque.
2. Sanguine : accidentelle (AES), à l'occasion d'une transfusion sanguine et chez les toxicomanes.
3. Materno-fœtale : in utéro (1/3), à l'accouchement (2/3) et lors de l'allaitement.

❑ En Algérie, la voie hétérosexuelle est la première voie de contamination. La tranche d'âge la plus touchée est représentée par l'adulte jeune entre 25- 39 ans.

❑ L'infection par le HIV évolue en 3 phases :

1- Primo-infection :

Elle est souvent peu symptomatique : syndrome pseudo grippal, éruption fébrile, adénopathies généralisées et syndrome méningé. Elle se caractérise par un pic de réplication virale et une chute des CD4. Cette virémie ne dure que 3-4 sem et disparaît lorsque les anticorps apparaissent à partir de la 3ème sem (séroconversion)

2-Phase de latence clinique :

Peut durer 10 à 15 ans en l'absence de traitement. La réplication virale et le nombre de lymphocytes T se stabilisent. Les patients, à ce stade, ont un taux d'anticorps élevé.

3-Maladie SIDA :

Correspond à l'entrée dans le stade symptomatique. Elle est précédée par une détérioration du système immunitaire : ↗ charge virale et ↘ CD4. Elle se traduit par : de la fièvre, un amaigrissement, une diarrhée, des infections opportunistes infectieuses et tumorales du fait de l'immunodépression (pneumocystose pulmonaire, toxoplasmose, sarcome de Kaposi). Son pronostic est fâcheux (2 à 5 ans de survie).

IX. DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

IX.1. Prélèvement :

Les prélèvements de sang sont effectués sur tube sec pour la sérologie et avec anticoagulant (EDTA ou Citrate) pour la charge virale. Le sang total doit être acheminé au laboratoire à température ambiante dans les six heures suivant son prélèvement (transport rapide). Une fois centrifugé, le plasma peut être conservé : 1 jour à température ambiante, 5 jours à 2-8°C ou congelé à -20°C indéfiniment.

IX.2. Diagnostic sérologique :

-Permet de mettre en évidence les Ac anti-HIV. Se divisent-en :

❖ **Tests de dépistage** : tests ELISA et tests rapides

❖ **Tests de confirmation** = western-blot.

a. Les tests ELISA de 3^{ème} génération constituent la méthode de référence, avec une excellente sensibilité et bonne spécificité. Permettent la détection des anticorps, 20 jours après le contage. Sont en général mixtes : détectant HIV-1 et HIV-2

b. Les tests ELISA de 4^{ème} génération ou test combinés permettent la recherche simultanée des Ac anti HIV et de l'Ag P24 du VIH.

c. Les tests rapides sont représentés par les techniques Immuno chromatographiques, et l'agglutination des particules de latex sensibilisées.

d. Test de Western -Blot : Test de référence pour la confirmation. Il met en évidence et distingue les anticorps dirigés contre les différentes protéines du VIH1 ou du VIH2, par des bandes colorées. Selon l'OMS, un résultat positif ne peut être confirmé que si 2 bandes au moins sont détectés parmi les glycoprotéines d'enveloppe =>

✓ **Test positif** = 2 ENV +/- GAG +/- POL.

✓ **Test négatif** = Absence de bandes colorées.

✓ **Test Indéterminé** = 1 ENV +/- GAG +/- POL ou GAG + POL ou POL ou GAG

□ **Indications du diagnostic sérologique** :

- Diagnostic de l'infection à VIH chez l'adulte et l'enfant > 18 mois.

- Dépistage sérologique HIV chez les donneurs de sang d'organes, ou en cas d'accident d'exposition au sang (AES).



Fig 5. ELISA



Fig 6. Tests rapides

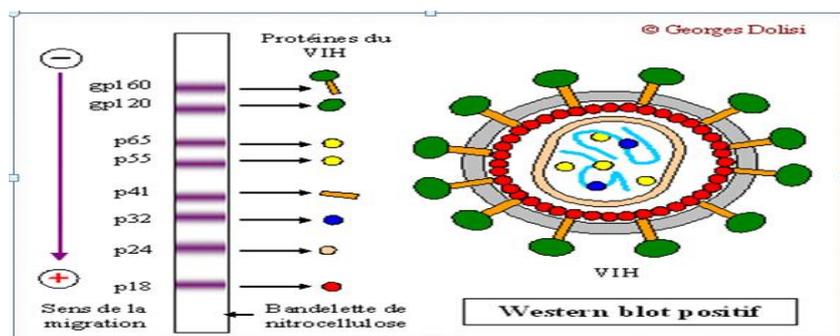


Fig 7. Western -blot

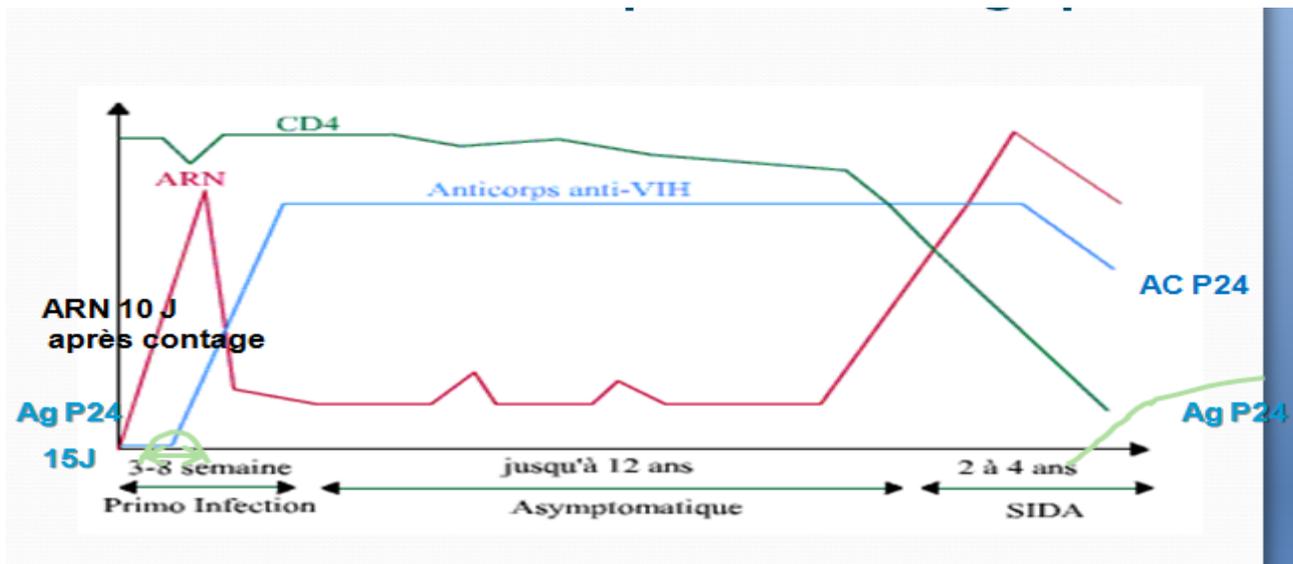


Fig8. Evolution des marqueurs biologiques

IX.3. Diagnostic direct :

IX.3.1. Ag P24 :

- Marqueur direct de la multiplication virale active.
- Recherché par des techniques immunoenzymatiques.
- Apparaît 15 j après le contage (persiste pendant 2 semaines uniquement !)
- Peut réapparaître au stade final avec disparition des AC anti-P 24.

Indications :

- Diagnostic de la primo-infection.
- Diagnostic du nouveau-né de mère séropositive.

IX.3.2. Mise en évidence du génome viral :

- RT-PCR (technique de biologie moléculaire).
- Mesure la quantité d'ARN viral présent dans le plasma du patient VIH+.
- Test positif : 10 j après le contage.

Indications :

- Diagnostic de la primo- infection.
- Diagnostic du nouveau-né de mère séropositive.
- Diagnostic de l'infection à VIH chez l'adulte et l'enfant > 18 mois.
- Suivi virologique des patients (charge virale).

IX.4 Bases du diagnostic virologique

Le diagnostic biologique des infections par le VIH est basé **sur la combinaison de plusieurs tests entre eux : au moins deux tests.**

Cette combinaison aboutit à établir un **algorithme de diagnostic** qui doit prendre en considération plusieurs critères afin d'obtenir la meilleure valeur prédictive au moindre coût.

IX.5. Suivi biologique :

La surveillance biologique et thérapeutique des personnes infectés par le VIH se fait par

- ❖ Le contrôle du statut immunitaire : numération CD4.
- ❖ La mesure de la charge virale (CV) par **RT-PCR en temps réel** (résultats en copies/ml).
- ❖ La détection des résistances aux antirétroviraux par génotypage et séquençage des gènes ciblés par les traitements : recherche de mutations sélectionnées par les traitements.

X. TRAITEMENT :

❑ **Les enjeux du traitement antirétroviral sont de** contrôler la réplication virale, d'obtenir une restauration immunitaire (LT CD4+). Le traitement à vie nécessite une bonne observance. **Les associations de molécules** sont indispensables (permettent de contourner le risque d'apparition de résistances) du fait d'un taux de réplication du HIV très important, d'une transcriptase inverse peu fidèle et d'une infection de longue durée.

❑ **Les antirétroviraux classés selon mode d'action :**

1- Inhibiteurs de la transcriptase inverse : sont virostatiques, empêchent la synthèse de l'ADN viral : inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI) et inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)

2- Les inhibiteurs de fusion : bloquent l'entrée du virus dans les CD4 (Fuzeon).

3- Les inhibiteurs d'intégrase

4- Les anti-protéases (IP) : agissent au niveau du processus d'assemblage des protéines virales nouvellement synthétisées en inhibant l'action de la protéase ⇒ virus immatures libérés non infectants. Sont laissés en dernier en cas d'échec thérapeutique ou de déficit immunitaire profond.

❑ **Trithérapie :**

2INTI + 1 molécule à choisir au cas par cas (1 INNTI ou IP) soit 3 INTI. En Algérie en première intention : association 2 INTI + 1 INNTI = traitement simple et le mieux toléré.

En cas d'échec d'une trithérapie de première intention, il faudra : documenter les résistances observées et choisir : 1 IP actif (darunavir) + 2 autres molécules

❑ **Suivi du TRT** : Le but du traitement est d'obtenir une CV indétectable à 6 mois. Le suivi virologique est réalisé par détermination de la CV plasmatique, une bonne évolution sous traitement correspond à une CV = 2 log copies /ml à 3 - 4 semaines

CV < 400 copies/ml à 3 mois et CV < 50 copies/ml à 6 mois.

XI. PREVENTION :

❖ **Prévention de la transmission sexuelle par :**

- Utilisation de préservatifs
- Fidélité du couple.
- Dépistage du VIH et autres MST

- Campagnes de prévention
- ❖ **Prophylaxie post-exposition (dans les 36h).**
- ❖ **Prévention de la transmission mère-enfant :** prophylaxie par AZT durant l'accouchement.
- ❖ **Prévention en milieu de soins :** Respect des règles d'hygiènes universelles
- ❖ **Prévention de la transmission sanguine :**
 - Par transfusion sanguine : contrôle des dons de sang.
 - Par injection de drogue : utilisation de seringues a usage unique pour les toxicomanes

XII.CONCLUSION :

Les nombreux tests diagnostiques développés ces dernières années ont permis d'optimiser le diagnostic ainsi que le suivi des personnes vivant avec le VIH. Les tests de détection des résistances aux antirétroviraux ainsi que la mesure de la charge virale devraient être largement disponibles dans nos laboratoires. Le dépistage du HIV est un moment fort dans ce chapitre de l'infection à HIV.