

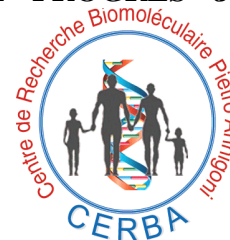
UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU



Unité de Formation et de Recherche
Sciences de la Vie et de la Terre
(UFR-SVT)

BURKINA FASO

UNITE - PROGRES - JUSTICE



Centre de Recherche Biomoléculaire
CERBA/LABIOGENE

MEMOIRE

Présenté par

ZEBA Tokéda Abdoul Moctar

Maître ès Microbiologie appliquée

Pour l'obtention du :

Diplôme d'Etudes Approfondies en Biochimie/ Biologie Moléculaire

SUR LE THÈME :

Coïnfection du virus de l'hépatite C (VHC) et du virus de l'immunodéficience humaine (VIH) chez les femmes enceintes au centre médical Saint-Camille de Ouagadougou.

Soutenu le 30/06/ 2009, devant le jury :

Président : Pr. Odile NACOULMA, Professeur Titulaire, Université de Ouagadougou

Membres : Pr. Jacques SIMPORE, Maître de Conférences, Université de Ouagadougou

Dr. Virginio PIETRA , centre médical Saint Camille de Ouagadougou

DEDICACES

A mon père Issa et à ma mère Salamata pour votre amour, la confiance que vous avez placée en moi depuis mon très jeune âge, votre soutien de tout ordre et pour vos encouragements.

A mes Frères, Sœur, Parents et Amis pour votre soutien moral, et pour vos encouragements tout au long de ces années.

A tous ceux, qui, d'une manière ou d'une autre, ont contribué à l'aboutissement de ce travail.

REMERCIEMENTS

Ce travail a été réalisé dans les laboratoires d'immunologie et de biologie moléculaire du centre médical Saint Camille et du Centre de Recherche Biomoléculaire Pietro Annigoni (CERBA/LABIOGENE).

Nous exprimons notre profonde gratitude :

Au Pr Odile Germaine NACOULMA, responsable de l'école Doctorale (Département de Biochimie/Microbiologie) pour avoir accepté de présider notre jury,

Au Pr Jacques SIMPORE, directeur du laboratoire du CMSC et du CERBA/LABIOGENE pour avoir accepté la direction de ce DEA, pour le choix pertinent de ce thème, pour le support économique de cette étude et pour son encadrement exceptionnel.

Au Dr. Virginio PIETRA, d'avoir accepté de juger ce travail.

Au Pr Jeanne MILOGO/RASOLODIMBY, pour sa disponibilité, ses conseils, ses encouragements, et son assistance morale,

Au Pr Boukaré ZEBBA, pour sa disponibilité, ses conseils et ses encouragements,

Au Dr. W.M. Christelle NADEMBEGA pour ses conseils et pour l'aide qu'elle a apporté dans la réalisation de ce travail,

Au Dr. Charlemagne GNOULA pour ses conseils et pour nous avoir aidés dans nos recherches bibliographiques,

A tous les enseignants-chercheurs du département de Biochimie/ Biologie Moléculaire Appliquée/ Substances Naturelles/ Plantes médicinales et Phytothérapie pour la qualité de la formation reçue,

A Mademoiselle Djénéba OUEMI notre aînée pour son aide et ses conseils,

A toute l'équipe du Laboratoire Saint Camille, en particulier mesdames Justine YARA, Angèle SANFO, Yolande TIENDREBEOGO et messieurs Emmanuel BOUDA, Robert BACAMBA pour leurs précieux conseils et leur assistance apportée lors des manipulations.

A la Conférence épiscopale italienne (CEI), pour leur soutien financier dans la réalisation de nos travaux de mémoire de DEA.

A tous les étudiants de notre promotion pour la bonne ambiance, les conseils et les encouragements

ABSTRACT

Human Immunodeficiency Virus (HIV) and Hepatitis C Virus (HCV) are two viral pathogens that cause chronic infections in their hosts. These viruses are responsible for serious public health problems on a pandemic scale.

According to the literature, the HCV seroprevalence rate among pregnant women is 1%. HCV can be transmitted from mother to child and this vertical transmission risk is higher in HIV infected women.

There are few informations on HCV and HIV coïnfektion among pregnant women in Burkina Faso, from which the accomplishment of the present study.

A cohort of 3642 pregnant women in antenatal visit at the Ouagadougou Saint Camille medical center, were screened for HIV antibodies as part of the program against mother to child transmission of HIV. After HIV serological tests, 200 of them (5, 49%) were positive; 196 women (98%) were infected with HIV 1. HIV 2 infects 3 women (1, 5 %) and a woman (0,5%) was coïnfected with HIV 1 and HIV 2. The HCV antibodies prevalence rate among pregnant women is 1,6 % in this present study. Real time PCR showed the presence of HCV RNA in 2 HIV infected women and in 2 HIV uninfected women.

Key words: HIV, HCV, HIV/HCV coïnfektion, pregnancy, vertical transmission, Ouagadougou, Burkina Faso

RESUME

Le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) et le Virus de l'Hépatite C (VHC), deux pathogènes viraux qui provoquent une infection chronique chez leur hôte, sont à l'origine de sérieux problèmes de santé publique. Selon la littérature, la prévalence du VHC chez les femmes enceintes est environ 1%. En outre le risque de transmission verticale du VHC existe et semble s'accroître par la coïnfection avec le VIH.

Peu de données sur la coïnfection par le VIH et le VHC chez les femmes enceintes existe au Burkina Faso, d'où la réalisation de la présente étude.

Une étude menée au centre médicale Saint Camille de Ouagadougou, a concerné 250 femmes enceintes vues en consultation prénatale dans le cadre du programme sur la prévention mère-enfant du VIH.

A l'issue des tests sérologiques du VIH chez 3642 femmes enceintes, 200 femmes (5,49%) ont été diagnostiquées séropositives : 196 femmes (98 %) sont infectées par le VIH 1 ; 3 femmes (1,5 %) sont infectées par le VIH 2 et une femme (0,5 %) est co-infectée par le VIH 1 et le VIH 2.

La séroprévalence des anticorps anti-VHC est de 1,6%. L'utilisation de la PCR en temps réel a révélé la présence de l'ARN du VHC chez toutes les femmes testées positives aux anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C. Les valeurs moyennes de charge virale du VHC détectées étaient de $3,1 \cdot 10^5$ copies/ml, $2,5 \cdot 10^4$ copies / ml, $1,2 \cdot 10^4$ copies/ml et 10^3 copies/ ml. Deux femmes sont co-infectées par le VIH et le VHC.

Mots clés : VIH, VHC, coïnfection VIH/VHC, grossesse, transmission verticale, Ouagadougou, Burkina Faso

LISTE DES ABREVIATIONS

Ac:	Anticorps
ADN:	Acide désoxyribonucléique
ADNc:	Acide désoxyribonucléique complémentaire
ARN:	Acide ribonucléique
CMSC :	Centre médical Saint Camille
dNTPS :	di-Nucléotides triphosphates
ELISA:	Enzyme linked immunosorbent assay
HDL:	High density liprotein
HVR:	Hyper variable region
Kda :	Kilodalton
Nef:	Negative factor
PCR :	Polymerase chain reaction
PKR :	Protein kinase R
Rev:	Regulator of viral expression
rLDL :	Receptor of Low density lipoproteine
SIDA :	Syndrome d'immunodéficience acquise
TAHA :	traitement antirétroviraux hautement actifs
Tat :	Transactivator of transcription
TGO :	Transaminase glutamino-oxaloacétique.
TGP :	Transaminase glutamyl-pyruvique
γ -GT :	Gamma glutamyl-transférase

Liste des figures

<u>FIGURE 1 : STRUCTURE DU VIRUS DE L'HEPATITE C</u>	4
<u>FIGURE 2 : REPRESENTATION SCHEMATIQUE DU GENOME DU VHC</u>	8
<u>FIGURE 3 : MODELE DU CYCLE DE REPLICATION DU VHC</u>	10
<u>FIGURE 4 : ANALYSE PHYLOGENETIQUE DES GENOTYPES DU VHC</u>	12
<u>FIGURE 5: REPARTITION GEOGRAPHIQUE DU VIRUS DE L'HEPATITE C</u>	13
<u>FIGURE 6 : CONSEQUENCES DE LA COÏNFECTION SUR LA TRANSMISSION MERE-ENFANT DU VHC</u>	14
<u>FIGURE 7 : COUPE SCHEMATIQUE DU VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE</u>	19
<u>FIGURE 8 : ORGANISATION GENOMIQUE DU VIH-1</u>	20
<u>FIGURE 9 : ANALYSE PHYLOGENETIQUE DES VIRUS DES GROUPES M ET O</u>	22
<u>FIGURE10: CYCLE REPLICATIF DU VIH 1</u>	23
<u>FIGURE 11 : ESTIMATION DE LA PREVALENCE (%) DU VIH CHEZ LES ADULTES</u>	24
<u>FIGURE 12 : PREVALENCE DU VIH CHEZ LES ADULTES AU BURKINA FASO</u>	25
<u>FIGURE 13 : POURCENTAGE DE FEMMES VIVANT AVEC LE VIH</u>	26
<u>FIGURE 14 : RESULTAT D'UN WESTERN BLOT</u>	29
<u>FIGURE 15 : CINETIQUE D'APPARITION DES ANTICORPS ANTI-VIH</u>	31
<u>FIGURE 16 : RESULTATS POSSIBLES DU TEST ABBOT DETERMINE™ HIV 1/2</u>	37
<u>FIGURE 17 : REPARTITION PAR TRANCHES D'AGES</u>	48
<u>FIGURE 18 : REPARTITION DES FEMMES VIH POSITIVES PAR TRANCHES D'AGES</u>	50
<u>FIGURE 19 : PROFIL DES INFECTIONS A VIH</u>	51
<u>FIGURE 20: PREVALENCE DES ANTICORPS ANTI VHC SELON LES DIFFERENTES TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC</u>	52

Liste des tableaux

<u>TABLEAU 1 : REPARTITION DES FEMMES PAR CLASSE D'AGES</u>	48
<u>TABLEAU 2 : STATUT SEROLOGIQUE POUR LE VIH PAR TRANCHES D'AGES</u>	49
<u>TABLEAU 3 : SEROLOGIE VIH DES FEMMES ENCEINTES</u>	50
<u>TABLEAU 4 : RESULTATS DU DIAGNOSTIC DU VH</u>	51
<u>TABLEAU 5 : CHARGES VIRALES DU VHC</u>	52
<u>TABLEAU 6 : VALEURS MOYENNES DE L'A-AMYLASE ET DE LA F-GT</u>	53
<u>TABLEAU 7 : VALEURS MOYENNES DE LA TGO</u>	53
<u>TABLEAU 8 : VALEURS MOYENNES DE LA TGP</u>	54

SOMMAIRE

DEDICACES	I
REMERCIEMENTS	II
ABSTRACT	IV
RESUME	V
LISTE DES ABREVIATIONS	VI
LISTE DES FIGURES	VII
LISTE DES TABLEAUX	VIII
INTRODUCTION	1
CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE I.LE VIRUS DE L’HEPATITE C (VHC)	3
I.LE VIRUS DE L’HEPATITE C (VHC)	4
I.1. STRUCTURE ET ORGANISATION GENOMIQUE	4
<i>I.1.1. Les régions non codantes</i>	5
<i>I.1.2. Les protéines structurales</i>	6
<i>I.1.3. Les protéines non structurales</i>	7
I.2. RECEPTEURS BIOLOGIQUES DU VHC	8
<i>I.2.1. Les récepteurs CD81</i>	9
<i>I.2.2. Les récepteurs des lipoprotéines de basse densité (rLDL)</i>	9
<i>I.2.3. Le récepteur scavenger type B classe 1 (SRB1/Cla-1)</i>	9
I.3. CYCLE CELLULAIRE DU VHC ET VARIABILITE GENETIQUE	10
<i>I.3.1. Les génotypes</i>	11
<i>I.3.2. Les quasi-espèces</i>	12
I.4. EPIDEMIOLOGIE, MODES DE TRANSMISSION ET ASPECTS CLINIQUES	13
I.5. REACTIONS IMMUNITAIRES ET MECANISMES D’ECHAPPEMENT DU VIRUS	15
I.6. TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC DU VHC	17
<i>I.6.1. Les tests indirects ou sérologiques</i>	17
<i>I.6.2. Les techniques de biologie moléculaire</i>	17
II. LE VIRUS DE L’IMMUNODEFICIENCE HUMAINE (VIH)	19
II.1. MORPHOLOGIE ET BIOLOGIE DU VIRUS	19
II.2. ORGANISATION GENOMIQUE	19
II.3. VARIABILITE GENETIQUE	21
II.3. CYCLE REPLICATIF DU VIH 1	22
II.4. EPIDEMIOLOGIE	23
II.5. MODES DE TRANSMISSION	26
<i>II.5.1. Transmission mère-enfant</i>	26
<i>II.5.2. Transmission sexuelle</i>	27
<i>II.5.3. Transmission sanguine</i>	27
II.6. TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC	27
<i>II.6.1. diagnostic sérologique du VIH</i>	27

II.6.1.1. Tests ELISA	28
II.6.2.2. Tests de confirmation	29
II.8.2. Diagnostic direct.....	30
CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES.....	32
I. CADRES ET POPULATION D'ETUDE.....	33
II. MATERIELS.....	33
II.1. MATERIEL POUR LA DETECTION DES ANTICORPS DIRIGES CONTRE LE VHC.....	33
II.2. MATERIEL POUR L'EXTRACTION, LA RETRO TRANSCRIPTION ET LA QUANTIFICATION DU GENOME DU VHC	34
II.3. MATERIEL POUR LA PCR EN TEMPS REEL.....	35
II. METHODES.....	35
II.1. ECHANTILLONNAGE.....	35
II.1.1. Population concernée par l'étude	35
II.1.2. Collecte du sang.....	36
II.2. TECHNIQUES D'ANALYSE.....	36
II.2.1. Recherche des anticorps dirigés contre le VIH	36
II.2.1.1. Abbot determine™ HIV 1/2.....	36
II.2.1.2. Le HIV tri-dot	37
II.2.2. Diagnostic du VHC	38
II.2.2.1. Le test ELISA rapide.....	39
II.2.2.2. Le test ELISA avec lecture sur spectrophotomètre.....	40
II.2.3. Quantification du génome du VHC	41
II.2.3.1. Extraction de l'ARN du VHC.....	41
II.2.3.2. Retro transcription de l'ARN en ADN.....	43
II.2.3.3. La PCR en temps réel.....	44
II.2.4. Dosage des enzymes sériques	45
II.3. ANALYSE DES DONNEES	46
CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION	47
I. RESULTATS	48
I.1. REPARTITION DES FEMMES PAR TRANCHE D'AGES	48
I.2. SEROLOGIE VIH DES FEMMES	49
I.3. DETECTION DES ANTICORPS DIRIGES CONTRE LE VHC	51
I.4. RECHERCHE ET QUANTIFICATION DE L'ARN DU VHC	52
I.5. DOSAGE DES ENZYMES.....	53
II. DISCUSSION	55
CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES. CONCLUSION GENERALE.....	58
I. CONCLUSION GENERALE.....	59
II. PERSPECTIVES	59
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	60
ANNEXES.....	I
ANNEXE I. RESULTATS DES TESTS SEROLOGIQUES DU VIH ET DU VHC.....	II
ANNEXE II. AGES DES FEMMES.....	VIII

INTRODUCTION

Le virus de l'hépatite C a été identifié en 1989 grâce aux techniques de biologie moléculaire comme étant l'agent responsable des hépatites dites « non A-non B » (CHOOQ et *al.*, 1989). Ce virus infecte 170 millions de personnes à travers le monde, soit 3% de la population mondiale (WHO, 1997). Il constitue de ce fait, un problème majeur de santé publique. Selon l'OMS, environ 85% des personnes infectées sont des porteuses chroniques. Cette chronicité peut mener à une cirrhose (dans 20% des cas) puis à un cancer du foie (dans 20% des cirrhoses) (MOHSEN et *al.*, 2002 ; MRUS et *al.*, 2006 ; WANG et *al.*, 2000).

Le virus de l'hépatite C (VHC) partage avec le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les mêmes voies de transmission, favorisant ainsi une possibilité de coïnfection. (ARENDS et *al.*, 2005 ; LAUER et *al.*, 2002 ; PLAMONDON et *al.*, 2007 ; WHO, 2005). La séroprévalence de l'infection par le VHC est estimée à 30% chez les personnes infectées par le VIH (ARENDS et *al.*, 2005 ; SCHOOLEY et *al.*, 2005 ; SULKOWSKI et *al.*, 2003) .Ce taux serait élevé chez les femmes enceintes séropositives au VIH, variant entre 30% à 50 %. En outre, la coïnfection avec le VIH est considérée comme un facteur de la transmission verticale du virus de l'hépatite C chez la femme enceinte. Cette transmission verticale pourrait constituer la principale source de contamination chez l'enfant (ROBERTS et YEUNG, 2002 ; SERME et *al.*, 2006).

Avant l'introduction des traitements antirétroviraux hautement actifs (TAHA), la majorité des patients infectés par le VIH décédait de complications du SIDA. A partir des années 1995-1996, l'apparition des TAHA a profondément modifié les données épidémiologiques, le SIDA n'étant plus la cause principale du décès de ces patients. En revanche, les hépatopathies chroniques, en particulier celles liées à une infection par le VHC, sont devenues une cause majeure de mortalité et de morbidité chez les patients coinfectés VIH-VHC.

Mais quelle est la situation épidémiologique VHC au Burkina Faso, notamment chez les personnes infectées par le VIH ?

Il existe peu de données sur la coïnfection des virus de l'immunodéficience humaine et de l'hépatite C chez les femmes enceintes au Burkina Faso.

- L'objectif général de cette étude est donc d'évaluer la séroprévalence du VHC chez les femmes enceintes.
- Les objectifs spécifiques sont :
 - ✓ déterminer la prévalence du VHC chez les femmes enceintes séronégatives au VIH ;
 - ✓ déterminer la prévalence de la coinfection VIH/VHC ;
 - ✓ déterminer la charge virale du VHC.

Pour traiter de ce sujet, le présent document est structuré de la façon suivante :

- une revue bibliographique sur le VHC et le VIH ;
- une description du matériel et des méthodes utilisés ;
- une présentation et une analyse des résultats obtenus ;
- une conclusion générale et des perspectives.

CHAPITRE I : REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LE VIRUS DE L'HEPATITE C (VHC)

I.1. Structure et organisation génomique

❖ Structure

Le VHC appartient à la famille des *Flaviviridae* et au genre hépacivirus. (BARTENSCHLAGER et LOHMANN, 2000). L'absence de systèmes cellulaires capable de répliquer efficacement le virus in vitro rend difficile, l'étude de ce virus. Sa structure a été déduite en grande partie de celle des flavi et pesti virus, autres virus de la famille des *Flaviviridae* et ses protéines ont été obtenues par des expériences de transcription, traduction et expression d'ADNc dans des cellules eucaryotes ou procaryotes (CHOOQ et *al.*, 1989). C'est un virus de 55 à 65 nm de diamètre avec un génome constitué d'une molécule d'ARN monocaténaire de polarité positive et logée dans une coque protéique icosasaédrale, la capsid. La nucléocapside est entourée d'une enveloppe de nature lipidique provenant des membranes du réticulum endoplasmique des cellules infectées et sur laquelle sont ancrées deux glycoprotéines virales, E1 et E2.

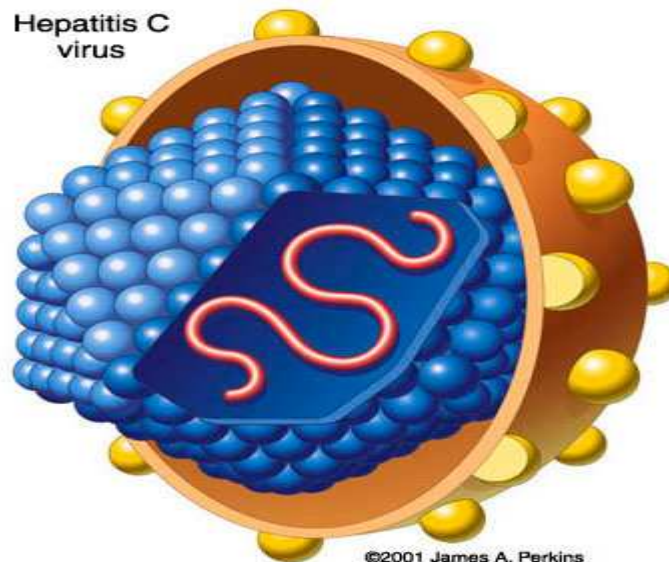


Figure 1 : structure du virus de l'hépatite C

http://images.google.fr/imgres?imgurl=http://dicos.ens-lyon.fr/vie/image/V05_2H1_Hepatite

❖ Organisation génomique

Le génome du virus de l'hépatite C est constitué d'un seul brin d'ARN positif d'environ 9400 nucléotides et possédant un seul cadre de lecture ouvert flanqué en 5' et 3' de régions non codantes (CHOOQ et *al.*, 1989). Ces régions jouent un rôle dans la réplication virale.

I.1.1. Les régions non codantes

▪ La région 5'NC

L'extrémité 5' non codante est constituée de 341 à 349 nucléotides selon les isolats. Elle renferme les régions les plus conservées du génome et est impliquée dans la synthèse des protéines virales. Elle a une conformation spatiale repliée en boucle. Son extrémité 5', dépourvue de coiffe méthylée, présente un repli en épingle à cheveux de 27 nucléotides qui jouerait un rôle dans la régulation négative de la traduction des protéines virales. L'extrémité 5' NC renferme également 4 à 5 petits cadres de lectures ouverts, non traduits dont le rôle est inconnu. Cette extrémité comporte également une structure en tige boucle de grande taille qui sert de site d'entrée interne du ribosome (IRES) et qui joue un rôle majeur dans la traduction des protéines virales. L' IRES recouvre les domaines III et IV et les 30 premiers nucléotides du gène codant pour la capsid (GRAKOUÏ et *al.*, 1993 ; PAWLOTSKY, 2002).

▪ La région 3'NC

L'extrémité 3' NC du génome renferme trois régions :

- une région de 40 nucléotides environ, dont la séquence varie d'une souche à l'autre ;
- une région polyuridile de 40 à 150 nucléotides ;
- une région très conservée de 98 nucléotides qui permettrait l'initiation de la synthèse du brin complémentaire d'ARN. Cette région jouerait également un rôle dans la stabilisation de l'ARN et dans l'activation de la traduction virale par interaction directe avec la région 5'NC.

I.1.2. Les protéines structurales

Le cadre de lecture de l'ARN code pour une polyprotéine d'environ 3000 acides aminés qui est secondairement clivée par les protéases cellulaires et virales pour générer sept protéines non structurales (p7, NS2, NS3, NS4A, NS4B, NS5A, NS5B) et trois protéines structurales (une protéine de capsid C et deux glycoprotéines d'enveloppe, E1 et E2). (CHOOQ et *al.*, 1991).

- La protéine de la capsid (protéine C)

La capsid est une phosphoprotéine de 191 acides aminés et de 21 Kda qui est retrouvée au niveau du réticulum endoplasmique des cellules infectées, auquel elle se lie par son extrémité –COOH. Les molécules de protéines C natives se lient à l'ARN viral ce qui déclenche leur polymérisation indispensable à la construction de la capsid. En plus de son rôle d'emballage des molécules d'ARN viral, la protéine C interagit avec de nombreux constituants cellulaires. Elle interfère avec les récepteurs du *TNF* impliqués dans les réponses immunes et dans l'apoptose. Elle est également capable de moduler l'expression de certains gènes du cycle cellulaire. En effet, elle active le c-myc et le c-fos et réprime le promoteur de la p.53 et de la p.21. Ce pouvoir oncogène de la capsid C pourrait contribuer à augmenter le risque d'hépatocarcinome dans les infections chroniques au virus de l'hépatite C.

- Les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2

Les glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2, d'un poids moléculaire respectivement de 30 et 70 Kda sont organisées en complexes hétérodimériques non covalents ancrés dans l'enveloppe virale par leur extrémité carboxy-terminale. Le domaine extracellulaire d'E1, et particulièrement d'E2, semblent jouer un rôle important dans l'interaction du virus avec ses récepteurs et son adsorption sur ses cellules cibles. La partie N terminale d'E2 renferme une région hypervariable appelée HVR₁ d'une trentaine d'acides aminés qui renfermerait au moins un des déterminants antigéniques capables d'induire les anticorps neutralisants. Le haut taux de mutation observé au niveau de HVR₁ résulterait de la pression de sélection exercée par le système immunitaire et serait à l'origine de variants d'échappement.

I.1.3. Les protéines non structurales

- La protéine p7

C'est un petit peptide de 63 acides aminés. La protéine p7 se situe au niveau de la membrane plasmique, ses extrémités N et C-terminales étant orientées vers l'extérieur de la cellule et un petit domaine hydrophile vers la face cytoplasmique. Sa fonction n'est pas encore définie.

- La protéine NS2

La protéine NS2 a un poids moléculaire de 23 Kda. Elle est ancrée dans la membrane du réticulum endoplasmique, ses extrémités NH₂ et COOH étant dans la lumière. Son rôle principal est de cliver la jonction NS2/NS3 en association avec NS3 lors des modifications post-traductionnelles de la polyprotéine. Ce clivage a lieu entre les nucléotides en position 898 et 1207 et implique un mécanisme zinc dépendant.

- La protéine NS3

La NS3 est une protéine de 70 Kda qui présente une triple activité enzymatique: une fonction sérine protéase, une fonction hélicase et une fonction ATPase, essentielles à la réplication virale (BARTENSCHLAGER et LOHMANN, 2000).

La fonction sérine protéase de la NS3 nécessite la formation d'un complexe stable avec l'extrémité N-terminale de NS4 qui permet le clivage de toutes les protéines non structurales situées en aval de NS3.

- La protéine NS4A

La NS4A est une petite protéine de 54 acides aminés. Elle est impliquée dans plusieurs fonctions. Elle permet l'activation et la stabilisation de la sérine protéinase NS3, l'ancrage de NS3, l'interaction avec la NS5A et la régulation de la phosphorylation de NS5A.

- La protéine NS4B

La NS4B est une protéine de 30 Kda, dont la fonction est encore inconnue. Elle serait un composant du complexe de réplication.

- La protéine NS5A

La NS5A est une phosphoprotéine de 56 Kda. Sa fonction dans la réplication virale n'est pas connue mais il semblerait qu'elle puisse intervenir dans la résistance du virus à IFN α . NS5A serait également un puissant inhibiteur de la PKR, protéine kinase à action antivirale induite par l'IFN α en présence d'ARN double brins. En dehors de son action antivirale, la protéine PKR a un rôle suppresseur de tumeur et son inhibition pourrait faciliter la survenue d'un cancer du foie.

- La protéine NS5B

La NS5B est une protéine de 68 Kda qui correspond à l'ARN polymérase ARN dépendante indispensable à la réplication de l'ARN viral.

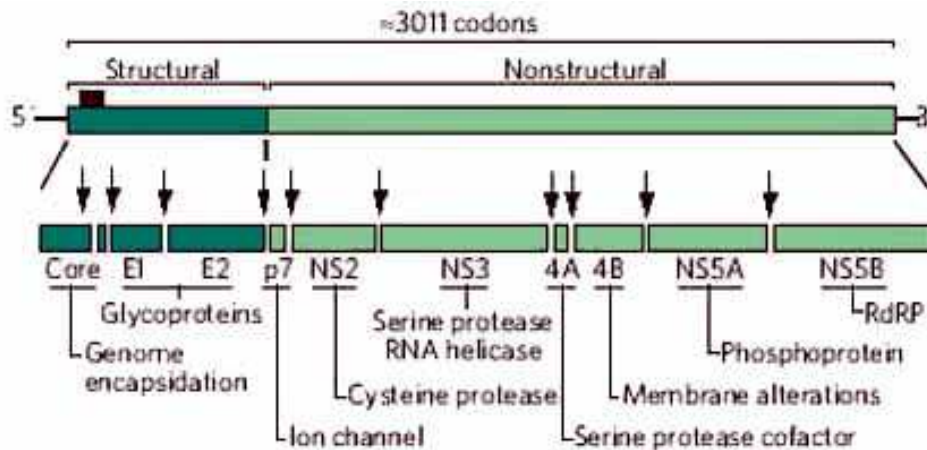


Figure 2 : Représentation schématique du génome du VHC
http://images.google.fr/imgres?imgurl=http://dicos.ens-lyon.fr/vie/image/V05_2H1_Hepatitis_7Repartition_HCV.jpg&imgrefurl=http://

I.2. Récepteurs biologiques du VHC

L'adsorption du virus sur les cellules cibles lui permet ensuite de pénétrer dans la cellule. Cet événement précoce initie l'infection en fixant le virus sur ses récepteurs

spécifiques. Cette étape initiale est déterminante pour le tropisme cellulaire et est aussi un point critique pour la pathogenèse virale.

Des récepteurs du VHC ont été identifiés : les molécules CD81 humaines, le récepteur des lipoprotéines de basse densité (rLDL) et le récepteur scavenger type B classe 1 (SRB1/Cla-1).

I.2.1. Les récepteurs CD81

Les molécules CD81 appartiennent à la famille des tétraspanines et sont exprimées à la surface des cellules de mammifères à l'exception des hématies et des plaquettes. Ces molécules sont impliquées dans de multiples fonctions cellulaires telles que l'adhésion et l'agrégation moléculaires. Elles interagissent avec la glycoprotéine d'enveloppe E2, responsable de la fixation du VHC aux cellules cibles. Elles interviendraient également dans la prolifération et la fonction immunitaire des cellules (GERMI et *al.*, 2001 ; PAWLOTSKY, 2002 ; WITTEVELDT et *al.*, 2002).

I.2.2. Les récepteurs des lipoprotéines de basse densité (rLDL)

Des études sur le VHC et les lipoprotéines ont montré que les virus contenus dans les plasmas ou sérums VHC positifs étaient fortement associés aux lipoprotéines de basse densité (LDL) ou aux lipoprotéines de très basse densité (VLDL). Ainsi, il a été proposé que ce complexe LDL-VHC puisse se fixer aux rLDL cellulaires par le biais de son ligand naturel, les LDL (GERMI et *al.*, 2001 ; PAWLOTSKY, 2002).

I.2.3. Le récepteur scavenger type B classe 1 (SRB1/Cla-1)

Le SR-B1 (Human Scavenger Receptor class B type 1) est une glycoprotéine de 82 Kda. C'est un récepteur physiologique des lipoprotéines de haute densité qui facilite les mouvements cellulaires de cholestérol (SCARSELLI et *al.*, 2002).

I.3. Cycle cellulaire du VHC et variabilité génétique

❖ Cycle cellulaire

Le cycle de vie du virus demeure mal connu, du fait de l'absence de systèmes de réplication efficaces (PAWLOTSKY, 2002). Les hypothèses relatives au cycle de vie du virus suggèrent que le VHC se lierait à un (des) récepteur(s) spécifique(s) à la surface de la cellule hôte pour y entrer par endocytose, comme le font les autres membres des Flaviviridae. Il y aurait ensuite décapsidation du virus et libération du génome viral. Ce dernier est traduit en une polyprotéine précurseur qui est maturée pour donner les protéines virales. L'ARN négatif est synthétisé par la réplicase NS3-5B codée par le virus et sert de matrice pour la production de quantités excessives d'ARN viral positif. L'ARN positif est alors encapsidé par le biais de l'interaction avec les protéines structurales. Les particules sont enveloppées en bourgeonnant dans la lumière du réticulum endoplasmique et sécrétées à l'extérieur de la cellule par le Golgi. (BARTENSCHLAGER et LOHMANN, 2000).

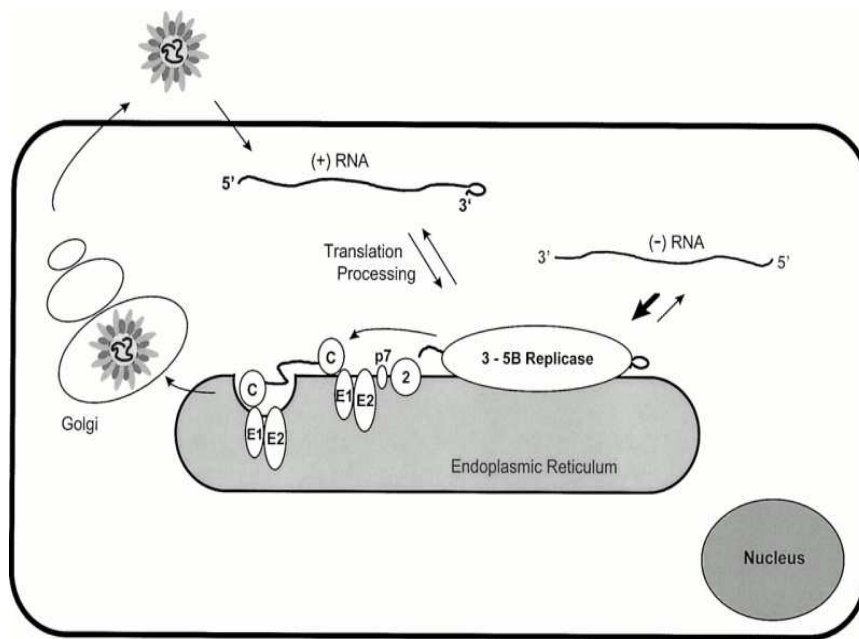


Figure 3 : modèle du cycle de réplication du VHC (BARTENSCHLAGER et LOHMANN, 2000)

❖ Variabilité génétique du VHC

Le VHC, comme tous les virus ARN, présente une grande variabilité génomique liée en grande partie aux erreurs de transcription de l'ARN polymérase (CHOOQ et *al.*, 1991 ; PAWLOTSKY, 2002). Ces erreurs sont à l'origine de mutations qui peuvent s'observer sur la totalité du génome. Toutefois, la région 5'NC est très conservée. L'accumulation des mutations au cours du temps, la sélection des mutants les mieux adaptés à l'environnement et leur transmission au sein des populations, ont conduit à l'émergence des principaux types de VHC. Par la suite le brassage des populations, et l'introduction d'autres modes de transmission (transfusion sanguine, toxicomanie) ont été à l'origine de la diffusion rapide du virus, et à la diversification des sous types.

I.3.1. Les génotypes (NOUSBAUM, 1997)

Le VHC est composé de 6 génotypes différents (1 à 6) auxquels sont associés plus de 100 sous-types, figurés en lettres minuscules. On définit en général deux génotypes différents lorsqu'ils ont moins de 65% d'homologie de séquences nucléotidiques et deux sous-types différents au sein d'un même génotype lorsqu'il y a entre 65 et 80% d'homologie. Plus de 80% d'homologie signifie une appartenance à un même sous-type. La répartition géographique des différents génotypes du VHC est à présent établie et reflète l'histoire épidémiologique du virus. Certains types sont présents dans l'ensemble des régions du monde: les types 1, 2 et 3 rendent compte de la majorité des infections par le virus C en Europe de l'Ouest et en Amérique du Nord. D'autres types, plus rares, sont plus localisés dans une région géographique précise. Le type 4 a été identifié avec une forte prévalence en Afrique Centrale, en Afrique du Nord et dans le Moyen Orient ; le type 5 est essentiellement limité aux populations d'Afrique du Sud, le type 6 au Sud-est asiatique. La répartition des sous-types est variable d'un continent à l'autre et même d'un pays à l'autre. Néanmoins, cette répartition peut être estimée schématiquement de la façon suivante :

- o En Asie, les génotypes 1b, 2a, 2b sont dominants ; le sous-type 1a est présent chez les sujets hémophiles; le génotype 3 est majoritaire en Thaïlande et sa fréquence est croissante à Singapour. En ce qui concerne le sous-continent indien, on ne dispose que de peu de données ; le génotype 3 a été identifié au Népal, avec des isolats

comparables à ceux observés à Singapour ; l'étude d'isolats provenant du nord de l'Inde a montré que le sous-type 1b était fortement représenté, ainsi que le sous-type 3a. Dans le sud de l'Inde, la majorité des souches séquencées correspondait au sous-type 1b, avec quelques sous-types 3a et 3b.

- Le sous-type 5a prédomine en Afrique du Sud, le type 4 en Afrique Centrale (Gabon, Zaïre, Burundi) et en Afrique du Nord, mais on ne connaît pas encore réellement l'épidémiologie des génotypes dans la plupart des pays africains.
- En Europe, le sous-type 1b est majoritaire en Europe du Nord comme du Sud, puis les génotypes 1a, 2a, 2b, 3a sont les plus fréquents avec une répartition variable selon les pays.
- En Amérique du Nord, les sous-types 1a et 1b sont les plus représentés.
- En Amérique du Sud, les génotypes 1a, 1b, mais aussi 3a (particulièrement au Brésil) ont été identifiés.

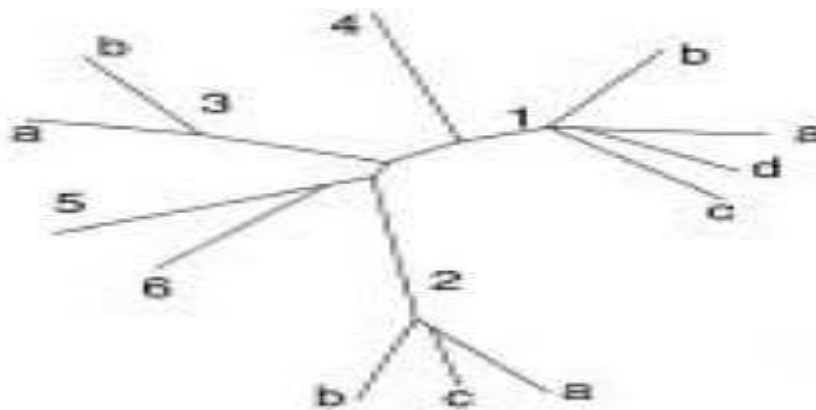


Figure 4 : Analyse phylogénétique des génotypes du VHC (NOUSBAUM, 1997)

I.3.2. Les quasi-espèces

C'est un ensemble de variants génétiquement proches (plus de 95% d'homologie de séquence) coexistant et persistant au sein d'un même organisme sous la forme d'un équilibre dynamique qui évolue au cours du temps. Le VHC se caractérise par un taux de production virale très important et, par conséquent, un taux de mutations très élevé (JOUVENCEL *et al.*, 2006 ; SENTANDREU *et al.*, 2008) .

I.4. Epidémiologie, modes de transmission et aspects cliniques

❖ Epidémiologie

L'épidémiologie du virus de l'hépatite C, découvert seulement il y a une dizaine d'années, est encore très peu documentée. Le VHC est un virus ubiquitaire ; mais sa prévalence varie d'une région à l'autre. Lorsque les données sont disponibles, les taux de prévalence des infections par le VHC dans certains pays d'Afrique (5,3 %), de Méditerranée orientale (4,6%), d'Asie du Sud-est (2,15 %) et du Pacifique occidental (3,9%) sont élevés par rapport aux pays de l'Amérique du Nord (1,7%) et de l'Europe (1,03%) (WHO, 1997). Cette prévalence est élevée chez les personnes séropositives au VIH, du fait des mêmes voies de contamination.

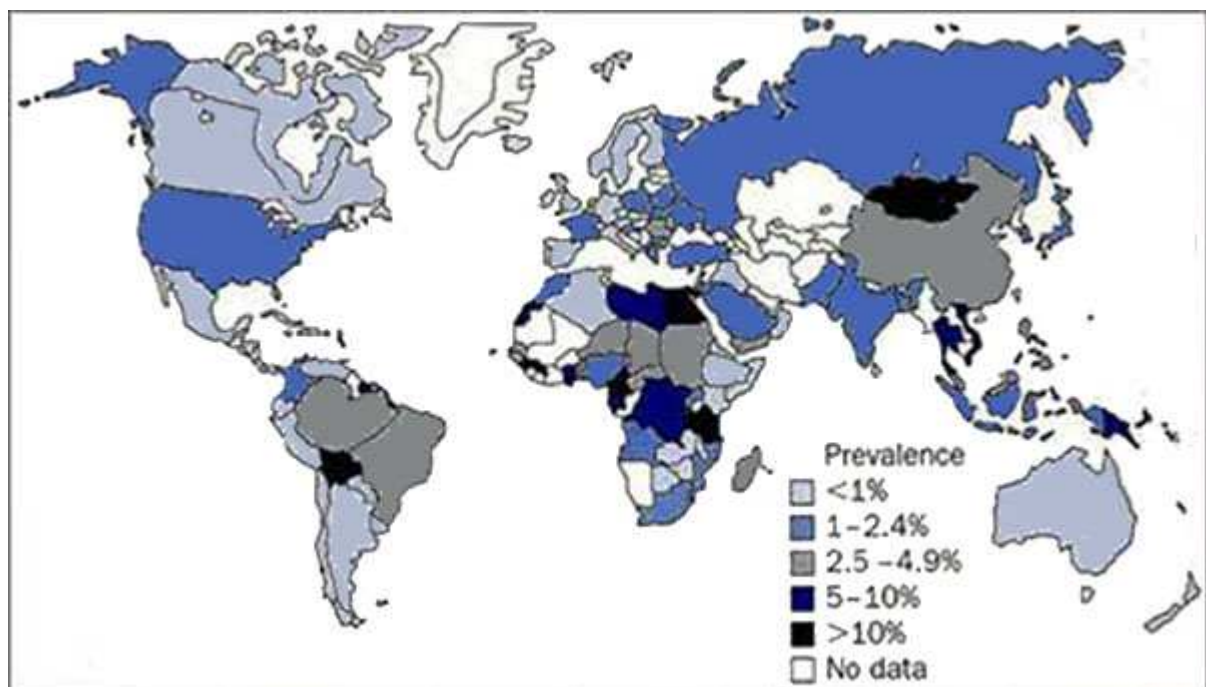


Figure 5: Répartition géographique du virus de l'hépatite C (NOUSBAUM et *al.*, 1997).

❖ Modes de transmission

Le virus de l'hépatite C est essentiellement transmissible par contact direct avec le sang humain. Il y a donc une prévalence considérable à l'échelle mondiale chez les personnes

transfusées avec du sang non testé, les hémophiles et les toxicomanes qui réutilisent les seringues souillées. La transmission par voie sexuelle est discutée et peu fréquente et serait de l'ordre de 4 à 10 % dans certains groupes à risques (prostituées, personnes à partenaires multiples).

La transmission materno-fœtale représente 3% des cas d'infections mais uniquement chez des mères virémiques. Cependant, certains facteurs de risques liés à la coïnfection VIH-VHC seraient à l'origine d'un taux de transmission élevé (MAST et *al.*, 2005).

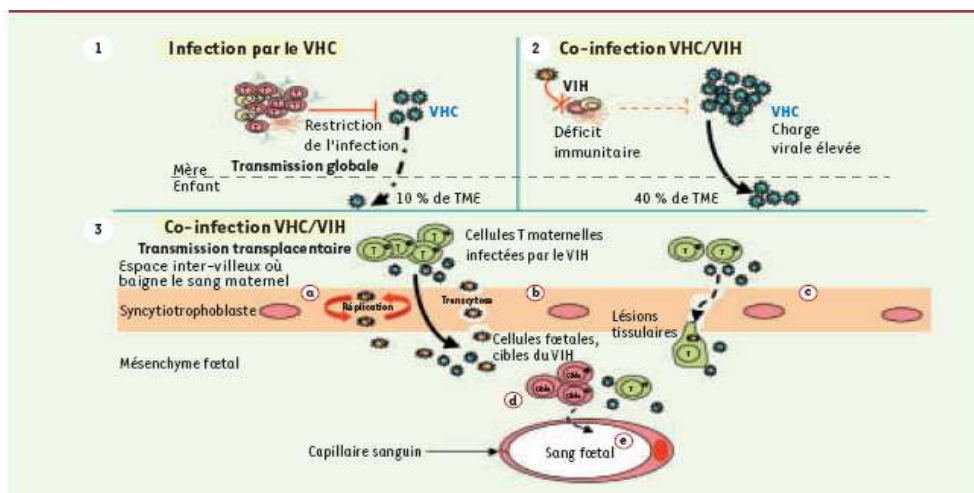


Figure 6 : Conséquences de la coïnfection sur la transmission mère-enfant du VHC (RANSY et *al.*, 2007).

❖ Aspects cliniques

Le VHC est responsable de lésions hépatiques. L'hépatite survient après une incubation moyenne de 6 semaines. La durée de l'incubation semble être influencée par le mode de contamination qui détermine la quantité de l'inoculum viral.

L'évolution d'une hépatite C virale se fait le plus souvent vers une infection chronique. L'hépatite C chronique est en générale asymptomatique et est caractérisée par la persistance d'une élévation des transaminases hépatiques et des lésions hépatiques à des degrés variables.

La cirrhose est une maladie chronique au cours de laquelle le foie se couvre de tissu fibreux, ce qui provoque la décomposition progressive du tissu hépatique qui se remplit de

tissu graisseux. Elle peut évoluer pour donner un hépatocarcinome, qui est un cancer primitif du foie.

- **Les transaminases**

Les transaminases sont des enzymes ayant une activité métabolique importante à l'intérieur des cellules. Leur augmentation reflète une lésion cellulaire, en particulier au niveau hépatique, cardiaque, rénal ou musculaire.

Les transaminases les plus abondantes dans le foie sont la TGO et la TGP. Quand les hépatocytes (cellules du foie) sont détruits, ils libèrent une partie de leur contenu dans le sang, ce qui provoque une augmentation des transaminases, proportionnelle à l'intensité de l'agression. L'élévation des transaminases est importante en cas d'hépatite aiguë (plus de 10 fois la norme) et plus modérée en cas d'épisode chronique (en général 2 à 5 fois la norme). La norme correspond à la destruction normale des hépatocytes qui meurent et sont renouvelés.

I.5. Réactions immunitaires et mécanismes d'échappement du virus

La réponse immunitaire non spécifique (réactions inflammatoires entre autres) est responsable des premières réactions immunes et implique les cellules NK (Natural Killer), les macrophages et les granulocytes. La réponse spécifique implique les lymphocytes T (CD4+ et CD8+), activés *via* les cellules présentatrices d'antigène (CPA) comme les macrophages ou les cellules dendritiques.

- ❖ La réponse cellulaire

Elle est assurée par les lymphocytes T4 (CD4+) ou T helper (Th) et les lymphocytes T8 (CD8+) ou cytotoxiques (CTL).

Les lymphocytes T4 sont stimulés de manière spécifique par des peptides viraux, présentés en association au complexe majeur d'histocompatibilité de type 2 (CMH II) par les CPA (cellules présentatrices d'antigènes). Ils ont essentiellement un rôle régulateur par la sécrétion de cytokines (IL2 et IFN pour la sous-population Th1 et IL4 et IL10 pour la sous-population Th2) qui permettent la stimulation et la prolifération des lymphocytes B (Th2) et des lymphocytes T8 (Th1). Dans le sang circulant, les lymphocytes CD4+ sont fortement stimulés lors de la phase aiguë de l'infection (plus d'un mois après l'apparition de la virémie) et dirigés contre un large spectre d'antigènes du VHC, mais répondent plus fortement aux

protéines non structurales (BRAITSTEIN et *al.*, 2005). Durant la phase chronique, la réponse s'affaiblit et semble être stimulée essentiellement par les protéines structurales. De manière générale, une forte stimulation de la sous-population Th1, multi-spécifique et persistante dans le temps entraîne l'éradication du virus de l'organisme.

Les lymphocytes CD8+ sont stimulés par la reconnaissance du peptide associé au CMH I *via* les CPA ou les cellules infectées (hépatocytes) et ont pour rôle de détruire ces dernières. De la même manière que pour les lymphocytes CD4+, la stimulation des CTL dans le sang circulant est très importante et multi-spécifique lors de la phase aiguë et s'estompe lorsque le virus persiste dans l'organisme. Le phénomène de compartimentation hépatique de la réplication virale au moment de la chronicité permet de mettre en évidence une stimulation active de la réponse cellulaire (Th1 et T8). Cette activité immunitaire serait à l'origine des lésions hépatiques de degrés divers, caractéristiques de la persistance virale (HENDERSON et *al.*, 2003).

❖ La réponse humorale

Les anticorps apparaissent en moyenne 14 à 18 semaines après l'infection et sont dirigés contre la plupart des protéines virales. La réponse est toujours forte et stable vis-à-vis de la capside et de NS3. Cette réponse persiste après l'élimination virale puis disparaît progressivement. La région HVR1 en position N-terminale de la glycoprotéine d'enveloppe E2 est l'antigène viral le plus apte à induire la synthèse d'anticorps neutralisants (HENDERSON et *al.*, 2003).

❖ Les mécanismes d'échappement du virus

Pour échapper à la pression immunitaire de l'hôte, le VHC utilise un certain nombre de stratégies comme la régulation de gènes cellulaires et viraux, l'interférence de diverses voies de signalisation ou encore l'utilisation de leurres antigéniques. Mais un des mécanismes les plus étudiés est sans doute l'échappement associé au polymorphisme viral.

Outre le fait que certains génotypes soient plus souvent impliqués dans les cas d'infections chroniques (génotype 1 à 95%) que d'autres, il a souvent été démontré que la répartition de la population virale en quasi-espèces au sein d'un organisme pouvait être le résultat d'une stratégie employée par le virus pour échapper aux anticorps neutralisants de l'hôte.

La région HVR1, définie comme l'antigène viral majeur impliqué dans la neutralisation, a déjà été proposée comme candidate à l'échappement immunitaire du fait de sa grande variabilité (PAWLOTSKY, 2002).

I.6. Techniques de diagnostic du VHC

Le diagnostic des infections par le VHC repose sur deux types de tests : les tests indirects, qui mettent en évidence les anticorps dirigés spécifiquement contre le virus, et les tests directs fondés sur les techniques de biologies moléculaires, qui mettent en évidence les constituants de la particule virale.

I.6.1. Les tests indirects ou sérologiques

Les tests sérologiques sont des tests immuno-enzymatiques de type ELISA (enzyme linked immunosorbent assay). Ils utilisent des protéines recombinantes ou des peptides synthétiques viraux, codés à la fois par les régions structurales (capside, enveloppe) et les régions non structurales (NS3, NS4 et NS5) du génome virale

I.6.2. Les techniques de biologie moléculaire

Les techniques de biologie moléculaire appliquées au diagnostic des infections par le VHC peuvent être classées en trois catégories : les méthodes de détection de l'ARN du VHC, les méthodes de quantification de l'ARN et les méthodes de génotypage.

❖ Détection qualitative de l'ARN du VHC

L'ARN du VHC est présent en quantités trop faibles dans le sérum et les tissus pour être détecté par les techniques d'hybridation classiques. Une étape d'amplification préalable est nécessaire. Les techniques dites d'amplification de la cible, permettent de fabriquer après transcription inverse de l'ARN viral en ADN complémentaire et grâce à une réaction enzymatique, un grand nombre de copies (ADN doubles-brins au cours de la *polymerase chain reaction* ou PCR, ARN simples-brins au cours de la *transcription mediated amplification* ou TMA.), qui deviennent visibles soit par électrophorèse et coloration spécifique de l'ADN, soit par hybridation spécifique sur microplaques. Les techniques de PCR qualitative sont aujourd'hui les plus sensibles pour la détection de l'ARN du VHC.

❖ Quantification de l'ARN du VHC

La quantification de l'ARN du VHC (ou mesure de la charge virale) mesure le niveau de réplication virale dans l'organisme. Elle repose sur deux types de techniques : les techniques d'amplification de la cible (PCR ou TMA) et les techniques d'amplification du signal.

La quantification par amplification de la cible se fait le plus souvent par une technique compétitive, où un standard interne en quantité connue est ajouté à l'échantillon, extrait et reverse transcrit en parallèle avec l'ARN viral, puis amplifié en compétition avec celui-ci. La comparaison des résultats de la cible (ARN viral) et du standard, permet la quantification. De nouvelles techniques fondées sur l'amplification en temps réel (real time PCR) sont en cours de développement. Ces techniques bénéficient d'une sensibilité, d'une spécificité et d'un intervalle de quantification linéaire accrus.

Les techniques d'amplification du signal ont pour objectif, après hybridation de l'ARN viral à un support solide, de fixer sur cet ARN, un grand nombre de molécules « signal » (enzymes). Ces enzymes catalysent la transformation d'un substrat en un composé détectable. La quantité de composé produite est comparée à une courbe étalon, tracée en parallèle avec des standards en quantités connues et permet la quantification. Les avantages de cette méthode sont sa spécificité et sa reproductibilité. Elle quantifie de façon équivalente les différents géotypes du VHC.

❖ Le géotypage

Le géotypage du VHC permet en particulier l'étude de sa variabilité génétique. Les techniques de géotypage sont fondées sur une amplification initiale par PCR. En routine, on peut utiliser les techniques d'analyse du polymorphisme de restriction des fragments amplifiés (*restriction fragments length polymorphism analysis* ou *RFLP*) ou des techniques standardisées d'hybridation inverse, fondées sur l'utilisation de sondes oligonucléotidiques spécifiques des différents géotypes et sous-type du VHC.

II. LE VIRUS DE L'IMMUNODEFICIENCE HUMAINE (VIH)

II.1. Morphologie et biologie du virus

Le VIH appartient à la famille des *Retroviridae* et à la sous famille des *Lentivirinae*. Ces virus sont définis par leur mode de réplication, qui passe par une étape de retro transcription de leur matériel génétique constitué de molécules identiques d'ARN monocaténares. Cette étape indispensable à la multiplication du virus, est possible grâce à une enzyme présente dans le virus, la transcriptase inverse. Le VIH se présente schématiquement sous la forme d'une particule sphérique de 90 à 120 nanomètres de diamètre hérissé de spicules. Il présente une très grande variabilité génomique à l'origine de nombreuses souches différentes. Selon leurs ressemblances génétiques, les souches du VIH sont classifiées en types, groupes et sous-types (en anglais *clades*). Il existe deux types majeurs de VIH : le VIH de type 1 (VIH-1) et de type 2 (VIH-2) qui ont 42% d'homologie génomique.

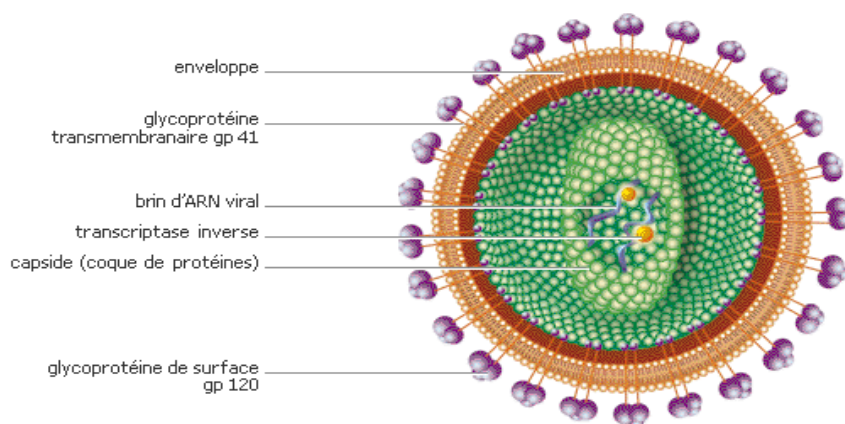


Figure 7 : Coupe schématique du virus de l'immunodéficience humaine.

<http://images.google.fr/imgres?imgurl=http://images.encarta.msn.com>

II.2. organisation génomique

Le génome rétroviral est constitué de deux molécules identiques d'ARN monocaténares de 9181 nucléotides et possède neuf cadres de lecture ouverts (*Open Reading*

Frames, ORFs). Trois de ces cadres de lecture codent pour les polyprotéines Gag, Gag-Pol et Env, qui sont par la suite clivées en protéines individuelles. D'abord, le précurseur Env (ou gp160) génère les deux protéines qui forment l'enveloppe virale: la protéine de surface SU (ou la gp120) et la protéine transmembranaire TM (ou la gp41). Ensuite, outre la protéine p6, le précurseur de 55 Kda, le Gag (Pr55^{Gag}), donne les protéines structurales de la matrice (MA ou p17), de la capsid (CA ou p24) et de la nucléocapsid (NC ou p7). Enfin, l'autocatalyse de la polyprotéine Gag-Pol (Pr160^{Gag-pol}) génère la protéase (PR), l'intégrase (IN) et la transcriptase inverse (Reverse *transcriptase*, RT), protéines qui assurent les fonctions enzymatiques du virus.

D'autre part, les six autres cadres de lecture produisent les protéines suivantes : Tat (*Transactivator of transcription*) et Rev (*Regulator of viral expression*) qui assurent des fonctions de régulation génique, Vpu (*Viral protein U*), responsable de l'assemblage viral, Vif (*Viral infectivity factor*), Vpr (*Viral protein R*) et Nef (*Negative factor*) qui possèdent diverses fonctions .

Les gènes *tat* et *rev* codent pour des protéines virales régulatrices qui sont essentielles à la réplication virale. Par contre, les gènes *nef*, *vif*, *vpr* et *vpu* codent pour des protéines accessoires puisque leur expression n'est généralement pas essentielle à la réplication du VIH-1 *in vitro*. Mais ces protéines auxiliaires demeurent requises pour la réplication virale et la pathogénèse *in vivo*. Notons que le VIH-2 ne possède pas le gène *vpu* mais le gène *vpx* (HASELTINE, 1991 ; WANG *et al.*, 2000).

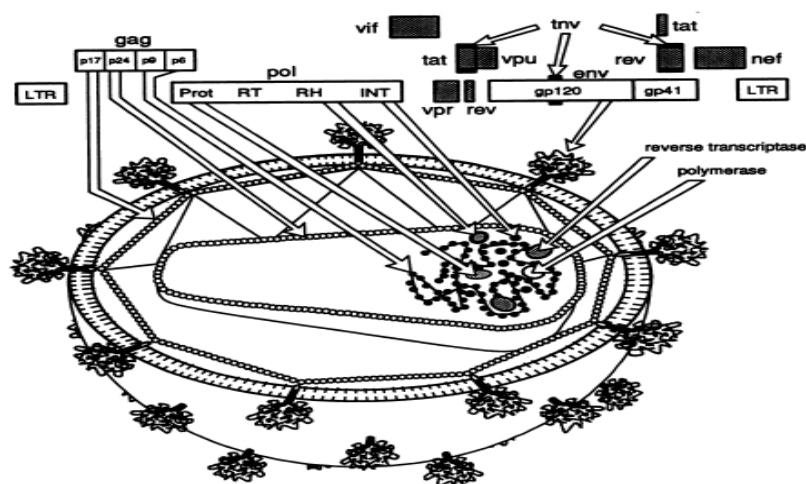


Figure 8 : Organisation génomique du VIH-1. (HASELTINE, 1991)

II.3. Variabilité génétique (VEZINET et al., 1999)

La variabilité des VIH est une des caractéristiques majeures de ces virus. Elle est liée aux erreurs d'incorporation de nucléotides qu'effectuent la reverse transcriptase, lors de la rétro transcription de l'ARN viral en ADN. Ce taux d'erreur est de 1 à 10 mutations par génome et par cycle. Par ailleurs, la dynamique de la réplication virale est très élevée, avec une production de l'ordre de 1 à 10 milliards de virus par jour. Ceci résulte en l'accumulation de nombreux variants viraux.

La variabilité intra-patient, à partir d'une population virale initiale, est appelée « quasi-espèces ». Cette variabilité confère au virus une grande capacité d'adaptation et lui permet entre autres d'échapper au système immunitaire de l'hôte. Les VIH-1 sont classés en trois groupes M, O et N. Les virus du groupe M représentent la très grande majorité des isolats de VIH-1 caractérisés. Les analyses phylogénétiques permettent de distinguer actuellement dix sous types de A à J. La différence des séquences nucléotidiques du gène *env* entre les sous-types est au moins de 20% (20 à 30% en général). À l'intérieur d'un même sous-type, les divergences sont de l'ordre de 5 à 20%. Des sous-groupes peuvent exister au sein des sous-types et correspondent à des isolats géographiquement liés. Ainsi, par exemple, on distingue à l'intérieur du sous-type E un ensemble de souches très proches, originaires de Thaïlande, formant un sous-groupe et différent des souches de sous-type E originaires d'Afrique, qui sont beaucoup plus divergentes entre elles.

Sur le continent africain, tous les sous-types du VIH-1 groupe M ont été retrouvés, avec une distribution très hétérogène et une grande variabilité à l'intérieur des sous-types (sous-type A). Cela souligne le caractère ancien de l'infection par le VIH en Afrique. En Afrique de l'Ouest, le sous-type A est prédominant mais tous les autres sous-types sont aussi présents. En Afrique de l'Est, dans la région des grands lacs, les sous-types A et D sont les plus fréquents. Le sous-type C est majoritaire en Ethiopie et en Afrique australe, (en même temps que le sous-type B). En Afrique centrale, même si le sous-type A prédomine, tous les autres sous-types ont été rapportés. Il faut sans doute souligner l'extrême diversité des souches de VIH-1 dans certains pays d'Afrique centrale comme le Cameroun où se trouve aussi la plus forte prévalence du VIH-1 groupe O et où ont été isolés les premiers VIH-1 groupe N.

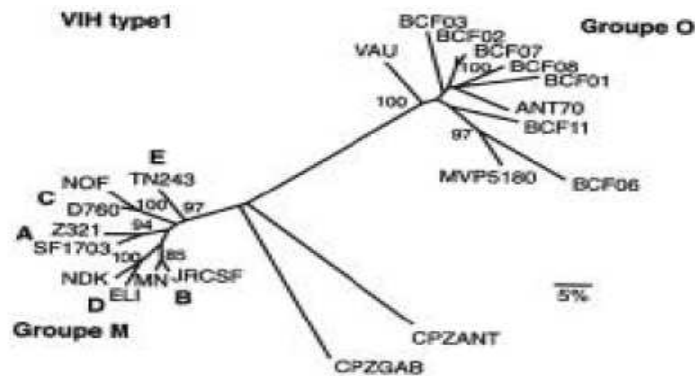


Figure 9 : Analyse phylogénétique des virus des groupes M et O (VEZINET et *al.*, 1999)

II.3. Cycle réplcatif du VIH 1 (HASELTINE, 1991 ; WANG et *al.*, 2000)

Les virus de l'immunodéficience humaine du type I ont un tropisme pour les lymphocytes T CD4+ et les cellules de la lignée monocytes/macrophages. L'entrée dans la cellule cible nécessite l'attachement du virion à la surface cellulaire par fixation de la gp120 sur le récepteur CD4. Cette fixation entraîne un changement conformationnel permettant l'accessibilité de la gp41 à un second récepteur, ou corécepteur, appartenant à la famille des récepteurs de chimiokines. Ce corécepteur est le CCR5 (présent physiologiquement à la surface des monocytes/macrophages) et le CXCR4 (présent à la surface des lymphocytes CD4 activés). D'autres corécepteurs ont été décrits. Après décapsidation dans le cytoplasme, la synthèse d'un ADN double brin est catalysée par la reverse transcriptase à partir de l'ARN génomique viral. Le provirus migre vers le noyau sous forme de complexe nucléoprotéique et s'intègre au génome cellulaire grâce à l'intégrase cellulaire. Le provirus intégré se comporte comme une unité de transcription indépendante avec son propre promoteur. L'ADN proviral est transcrit par l'ARN polymérase II de la cellule hôte. L'épissage alternatif de l'ARN précurseur, permet la génération des ARN codant pour chacune des protéines.

Transportés dans le cytoplasme, les ARNm sont traduits sous forme de précurseurs non clivés. Le précurseur gp160 codé par le gène *env* est clivé par une protéase cellulaire. L'assemblage de la particule virale est initié par la polymérisation du précurseur Pr55^{Gag} au niveau de la surface interne de la membrane plasmique. Cette protéine interagit d'une part avec les glycoprotéines d'enveloppe qui ont migrés et se sont insérées dans la membrane

plasmique, et d'autre part avec les molécules d'ARN viral génomique qui se trouvent encapsidées. Les particules immatures ainsi formées quittent la cellule par bourgeonnement. La maturation du virion, qui lui confère son caractère infectieux, a lieu après la libération, lorsque la protéase virale clive les différentes composantes.

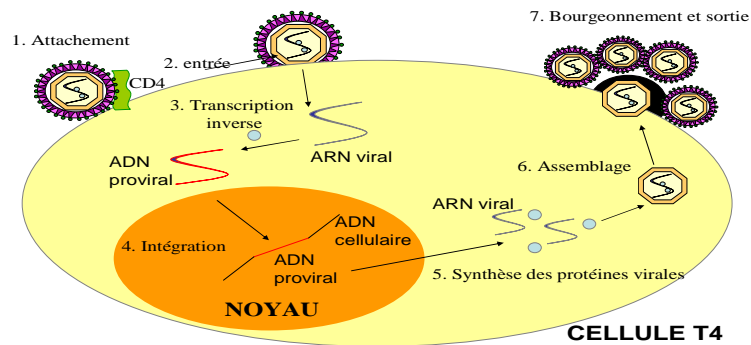


Figure10: cycle réplcatif du VIH1

<http://search.msn.fr/images/results.aspx?q=replication+du+VIH&simid>

II.4. Épidémiologie (ONUSIDA, 2008 ; SURVEILLANCE, 2008 ; UNAIDS, 2004)

❖ Statistiques mondiales

Le VIH reste un problème mondial de santé d'une portée sans précédent. Inconnu il y a 30 ans, le VIH a déjà provoqué quelques 25 millions de décès dans le monde et entraîné de profonds changements démographiques dans les pays les plus fortement touchés. A l'échelle mondiale on estime que 33 millions de personnes vivaient avec le VIH en 2007.

Le nombre annuel des nouvelles infections à VIH a baissé de 3,0 millions [2,6 millions-3,5 millions] en 2001 à 2,7 millions [2,2 millions-3,2 millions] en 2007. Bien que le pourcentage de personnes vivant avec le VIH se soit stabilisé depuis 2000, le nombre global de personnes vivant avec le VIH a régulièrement augmenté, car de nouvelles infections se produisent chaque année, les traitements du VIH prolongent la vie et les nouvelles infections continuent à surpasser le nombre de décès dus au sida.

L’Afrique subsaharienne reste de loin la région la plus touchée, avec près des deux tiers (64%) de toutes les personnes infectées. L’Afrique australe est la plus gravement touchée. En 2007, cette sous région comptait presque un tiers (32%) de toutes les nouvelles infections à VIH et de tous les décès dus au SIDA à l’échelle mondiale. La prévalence nationale du VIH chez l’adulte était supérieure à 15% dans huit pays en 2005 (Afrique du Sud, Botswana, Lesotho, Mozambique, Namibie, Swaziland, Zambie et Zimbabwe). En Afrique occidentale, la prévalence du VIH est globalement stable avec une baisse apparente dans un nombre croissant de pays (notamment en Côte d’Ivoire, au Mali et dans les zones urbaines du Burkina Faso).

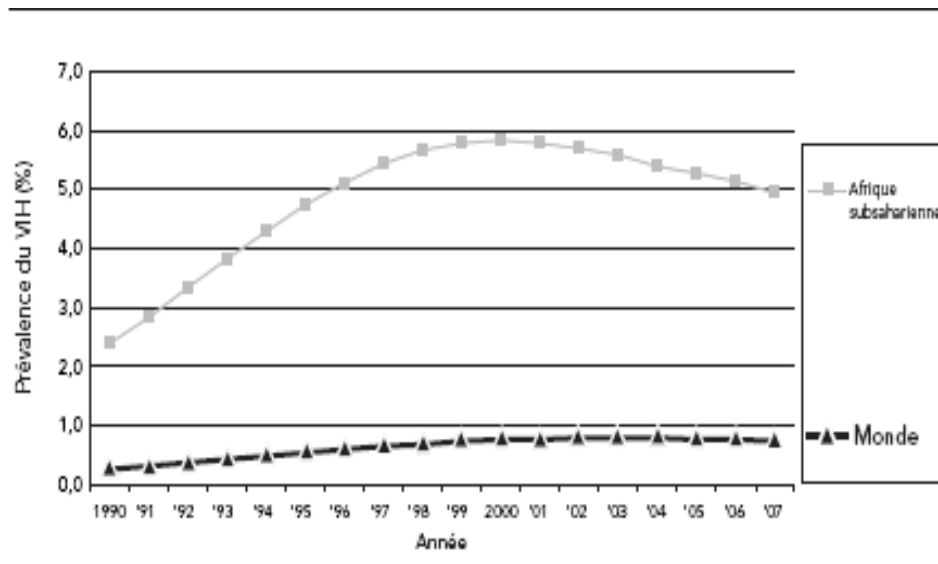


Figure 11 : Estimation de la prévalence (%) du VIH chez les adultes (15-49 ans) vivant avec le VIH dans le monde et en Afrique subsaharienne, 1990–2007 (ONUSIDA, 2008)].

❖ Au Burkina Faso

L’épidémie de VIH poursuit son déclin dans les zones urbaines du Burkina Faso. Environ 2% d’adultes vivaient avec le VIH en 2005. Toutefois, la prévalence est toujours élevée dans les villes de Bobo Dioulasso, Ouagadougou et Ouahigouya où respectivement 3,8%, 5,4% et 3,6% des femmes adultes (âgées de 15 à 49 ans) qui fréquentaient les consultations prénatales ont présenté un test VIH positif en 2005 (SIMPORE et al., 2007).

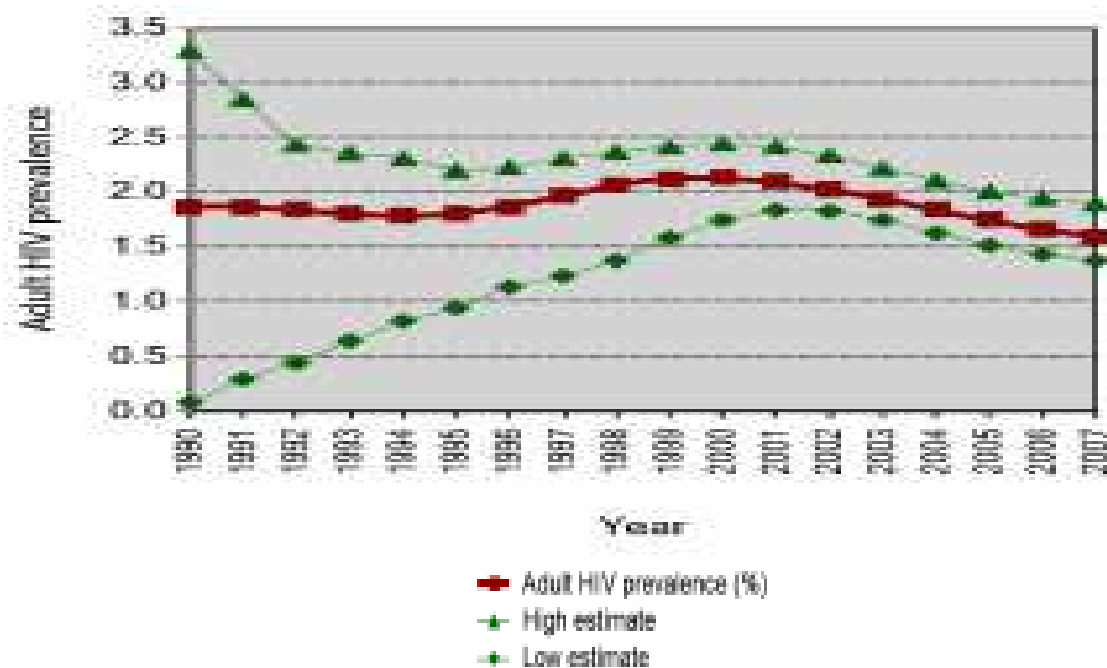


Figure 12 : Prévalence du VIH chez les adultes au Burkina Faso entre 1990 et 2007. (UNAIDS/WHO, 2008)

❖ Féminisation de l'épidémie du SIDA (UNAIDS, 2004)

Le VIH infecte un nombre croissant de femmes et de jeunes filles dans la plupart des régions du monde. En 1997, les femmes représentaient 41% des personnes vivant avec le VIH-1 ; mais en 2002, cette proportion avait atteint près de 50%. Cette tendance s'est particulièrement accrue en Afrique subsaharienne où 60% des adultes (15 ans et plus) atteints du VIH-1 sont de sexe féminin.

La dimension féminine du VIH est due au fait que lors des rapports hétérosexuels, et en l'absence de toute autre infection sexuellement transmissible, le virus a deux fois plus de chances d'être transmis de l'homme à la femme que de la femme à l'homme. Au plan physiologique, les femmes sont plus susceptibles à l'infection par le VIH-1 que les hommes. En effet, La fragilité de la muqueuse de l'appareil génital féminin surtout au niveau du vagin et du col de l'utérus facilite les microlésions qui constituent des portes d'entrées au virus.

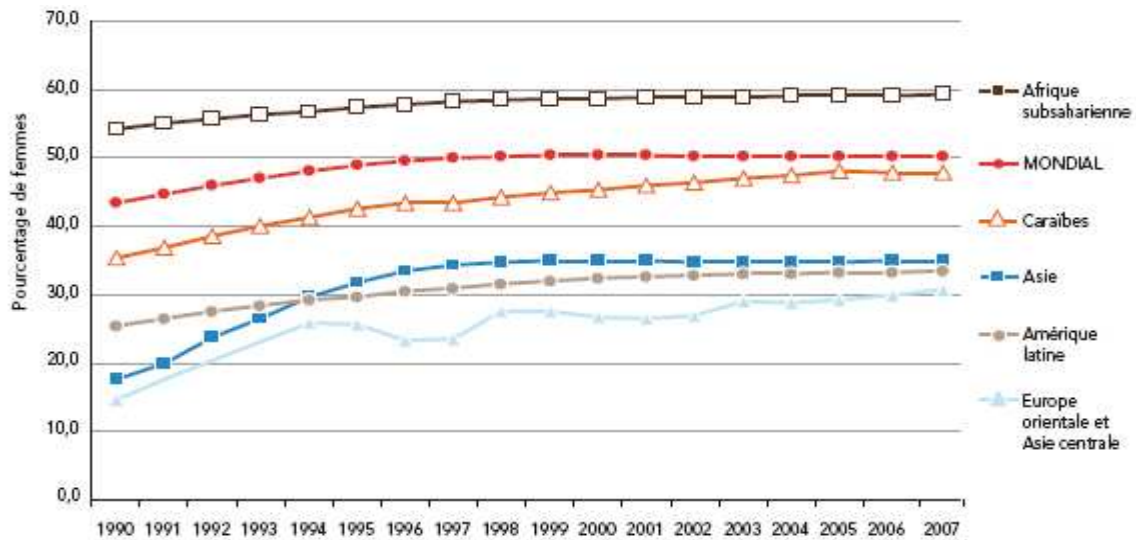


Figure 13 : Pourcentage de femmes vivant avec le VIH, entre 1990 et 2007 (ONUSIDA,2008)

II.5. Modes de transmission

Le VIH est présent dans la plupart des liquides biologiques (sang, salive, LCR, sperme, sécrétions vaginales, lait) mais il existe seulement trois modes de transmission : mère-enfant, sexuelle et verticale (CDC, 1999).

II.5.1. Transmission mère-enfant

La positivité au VIH pendant la grossesse expose au risque de transmission du virus à l'enfant. La prévalence du VIH chez les femmes enceintes varie considérablement d'une région à l'autre, particulièrement en Afrique. Dans presque tous les pays de l'Afrique australe plus d'une femme enceinte sur cinq sont infectées par le VIH, et dans quelques pays subsahariens, la prévalence médiane du VIH constatée dans les services de santé maternelle et infantile dépassait 10% en 2003. Au Burkina Faso, environ 2% des femmes enceintes sont infectées par le VIH (ONUSIDA, 2008).

La transmission du VIH de la mère à l'enfant peut se produire avant, pendant ou après l'accouchement, mais rarement au début de la grossesse. Le taux de transmission verticale en

dehors de toute prévention, est d'environ 15-20 % dans les pays industrialisés et 30-35 % en Afrique (RANSY et *al.*, 2007). Le risque de transmission du VIH de la mère à l'enfant est sous l'influence de plusieurs facteurs en rapport avec le virus, la mère et le nourrisson. La charge virale d'ARN dans le plasma maternel joue un rôle important. Les femmes ayant un taux de CD4 bas (moins de 200/mm³) peu avant l'accouchement et celles dont la maladie est cliniquement grave, présentent un risque de transmission plus élevé que celles qui sont moins atteintes. En outre la transmission du VIH par l'allaitement au sein a été largement prouvée (WHO, 2005).

II.5.2. Transmission sexuelle

Le VIH peut se transmettre à l'occasion de rapports sexuels (vaginaux ou anaux) non protégés et de contacts bucco-génitaux avec une personne infectée. En Afrique subsaharienne, plus de 90 % des infections à VIH chez les adultes se font par transmission hétérosexuelle.

II.5.3. Transmission sanguine

Le dépistage des anticorps anti VIH dans les dons de sang, ainsi que des dons d'organes, l'inactivation des produits dérivés du sang, puis la détection du génome viral, ont rendu ce mode de contamination exceptionnel. De nos jours, la transmission sanguine concerne les usagers de drogues par voie intraveineuse. Le risque de transmission chez les professionnels de santé est relativement faible (moins de 0,5%) et peut être prévenu par l'application des précautions universelles.

II.6. Techniques de diagnostic

II.6.1. diagnostic sérologique du VIH

Le diagnostic des infections à VIH repose, chez l'adulte, sur la détection des anticorps. La détection des anticorps anti-VIH est fondée sur la réalisation et la visualisation d'une réaction antigène – anticorps, entre les anticorps sériques du sujet infecté et les antigènes

viraux produits en laboratoire. Les méthodes de référence pour la visualisation de la réaction antigène - anticorps sont actuellement les méthodes immuno enzymatiques du type ELISA. Une bonne connaissance de la cinétique des anticorps et de l'antigène p24 est indispensable à l'interprétation des tests VIH.

Après la contamination, le virus est détectable, sous sa forme d'acide ribonucléique (ARN) dès les 10-12^e jours et sous sa forme d'antigène p24 représentant une fraction du virus, vers les 12-14^e jours. Les premiers anticorps sont détectables vers le 21^e jour. Cette cinétique peut varier en fonction de chaque patient et aussi de la souche virale. La positivité des tests de dépistage dépend donc de l'apparition des anticorps. Une fois produits par la réponse immune, les anticorps anti-VIH persisteront toute la vie du patient.

II.6.1.1. Tests ELISA

Ce sont des dosages immunoenzymatiques permettant la détection des anticorps sériques dans le sérum du sujet infecté. Les antigènes utilisés pour ces tests sont des protéines recombinantes produites par génie génétique ou des peptides synthétiques. Ces antigènes doivent être les plus représentatifs possibles de l'ensemble des virus en circulation.

Deux types de tests ELISA sont utilisés pour le dépistage :

- le Test « sandwich » : la révélation de la réaction entre antigènes de la trousse et les anticorps anti VIH du patient, se fait par un antigène marqué se fixant sur les anticorps restés libres. Ce test est sensible et la spécificité est excellente.
- le Test « ELISA » indirect : la fixation des anticorps du patient sur les antigènes de la trousse est révélée par une anti-globuline humaine anti-IgG marquée par une enzyme. Ce test manque de sensibilité lors d'une primo-infection.

➤ Tests rapides

Ce sont des tests ELISA à lecture visuelle. Ils font appel à une agglutination ou à une adsorption du complexe antigène-anticorps sur une membrane, suivie d'une coloration visible à l'œil nu. Ils peuvent être faits en moins de 30 minutes sans appareillage sophistiqué et sont capables de dépister les anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2. Cependant ils n'offrent pas la même sensibilité que les tests ELISA mais constituent un excellent recours en cas d'urgence.

II.6.2.2. Tests de confirmation

La spécificité des tests ELISA est élevée, de l'ordre de 99,2 à 99,8% mais peuvent donner des réactions faussement positives. Cependant, un test de confirmation est nécessaire, permettant d'identifier les différents anticorps et de poser un diagnostic définitif de l'infection ou de l'exclure. La technique de référence pour un test de confirmation est le western blot.

Principe du western blot :

Les protéines dénaturées du VIH1 et du VIH2 sont séparées par électrophorèse en fonction de leur poids moléculaire, puis transférées sur une bandelette de nitrocellulose. La présence d'anticorps dirigés contre l'une ou plusieurs de ces protéines est révélée par une réaction immunoenzymatique, sous la forme d'une bande colorée.

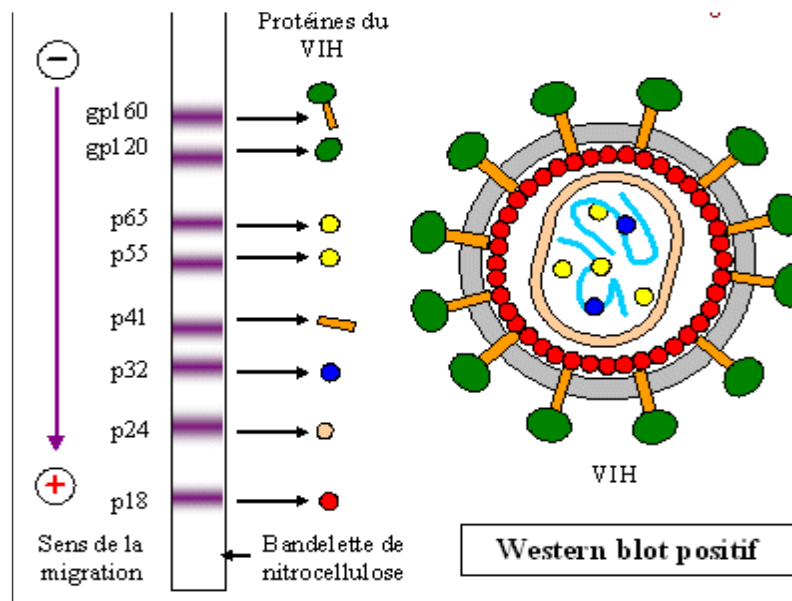


Figure 14 : résultat d'un western blot

http://georges.dolisi.free.fr/Schemas/western_blot4.gif&imgrefurl

II.8.2.Diagnostic direct

❖ Détection de l'antigène p24.

L'antigène p24 est un marqueur direct de l'infection à VIH1. Il correspond à la présence de particules virales et de protéines virales libres. L'intérêt de ce test réside dans le diagnostic d'une primo-infection durant la période où les anticorps sont encore indétectables.

❖ Quantification de l'ARN viral plasmatique.

La présence d'ARN viral dans le plasma témoigne d'une réplication virale constante dans l'organisme. Trois trousse commerciales sont actuellement disponibles mais aucune ne permet la quantification du VIH2 :

- la trousse Amplicor HIV Monitor (Roche Diagnostic System) associe une retrotranscription de l'ADN en ARN à une amplification par polymérisation en chaîne dans le gène *gag*. Le seuil de la technique est de 400 copies/ml.
- le test NASBA QR system de la maison Organon Teknica repose sur une amplification cyclique de l'ARN. Le seuil est de 80 copies/ml.
- la trousse Quantiplex HIV RNA de la maison Bayer utilise une technique d'hybridation du gène *pol* sans amplification génique, fondée sur l'utilisation de sondes ramifiées permettant une amplification du signal d'hybridation. Le seuil de cette technique est de 50 copies/ml.

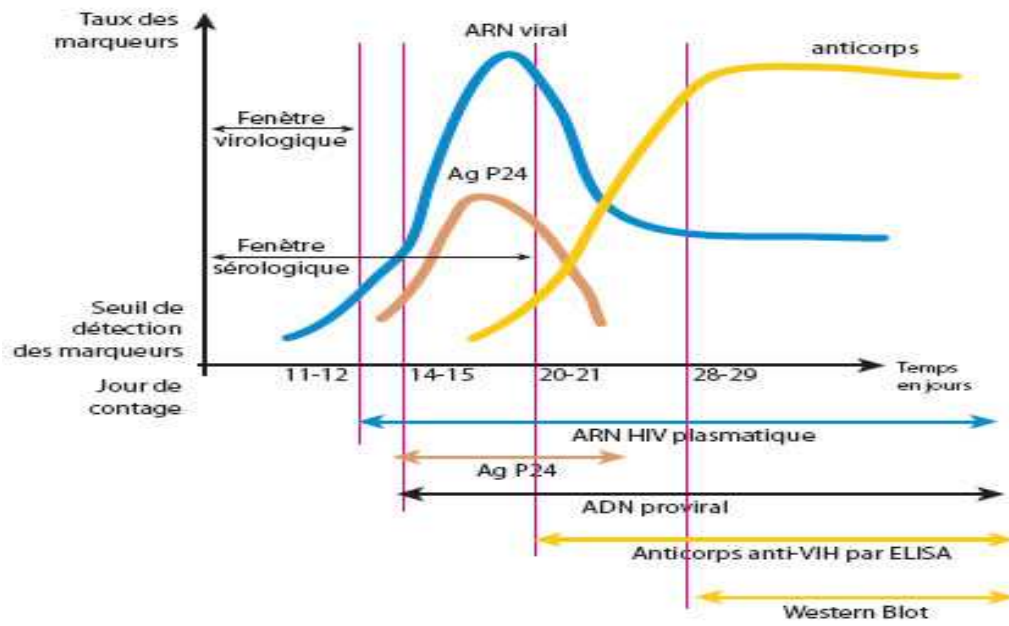


Figure 15 : cinétique d'apparition des anticorps anti-VIH

<http://images.google.fr/imgres?imgurl=http://www.ccr.fr/sites/vih/fr/images>

CHAPITRE II : MATERIELS ET METHODES

I. Cadres et population d'étude

L'étude s'est déroulée dans les laboratoires d'immunologie et de biologie moléculaire du centre médical Saint Camille de Ouagadougou et du centre de recherche biomoléculaire (CERBA), de Septembre 2008 à Avril 2009.

❖ Centre médical Saint-Camille

Le centre médical Saint Camille est une formation sanitaire de la congrégation des Pères camilliens située dans une agglomération périphérique de la capitale, Ouagadougou. C'est un site de surveillance épidémiologique qui est également considéré par le ministère de la santé du Burkina Faso comme un centre de référence en matière de santé publique et plus spécifiquement de santé maternelle et infantile.

❖ Centre de Recherche Biomoléculaire (CERBA)

Le CERBA abrite le laboratoire de biologie et de génétique (LABIOGENE) de l'Université de Ouagadougou. C'est également un centre de recherche qui a comme objectif principal, de promouvoir le développement de la santé au Burkina Faso et en Afrique par la formation de jeunes médecins, pharmaciens et biologistes. Il possède un plateau technique moderne pour les recherches fondamentales, pharmacologiques et de biologie moléculaire.

II. Matériels

II.1. Matériel pour la détection des anticorps dirigés contre le VHC

Les consommables

- Gants à usage unique
- Embouts
- Papier adsorbant
- Eprouvettes graduées de 25ml à 1000ml

Les équipements

- Micropipettes réglables de 0 à 200 µl
- Mélangeur vortex
- Chronomètre

- incubateur
- Laveur automatique de microplaques LP35 de Sanofi Pasteur
- Spectrophotomètre lecteur de microplaques LP400 de Sanofi Pasteur équipés de filtres
- Autoclave

Les solutions et réactifs

- Eau de javel
- Eau distillée
- Kit HCV rapid test IHC-401
- Trousse de réactifs HCV ab REF KHC3IWA RADIM

II.2. Matériel pour l'extraction, la retro transcription et la quantification du génome du VHC

Les consommables

- Tubes d'extraction de 1,5 ml
- Tubes d'élution
- Filtres muni de tubes collecteurs
- Gants à usage unique
- Embouts
- Papier adsorbant

Les équipements

- Micropipettes réglables de 0 à 1000µl
- Mélangeur vortex
- Centrifugeuse
- Chronomètre
- Micropipettes de 0 à 50 µl
- Bain marie

Les solutions et réactifs

- Eau de javel
- Glace
- kit d'extraction d'ARN Analytikjena
- kit de transcription inverse PrimerDesign Precision.

II.3. Matériel pour la PCR en temps réel

- Mastermix
- Plateforme pour PCR couplé à un micro-ordinateur
- Micropipette et embouts
- Vortex
- Centrifugeuse
- Tubes pour PCR de 1,5 ml
- Kit d'amplification PrimerDesign

II. METHODES

II.1. Echantillonnage

II.1.1. Population concernée par l'étude

L'étude a concerné 250 femmes enceintes, âgées de 18 à 44 ans et vues en consultation prénatale au CMSC, dans le cadre du programme sur la prévention de la transmission mère-enfant du VIH (PTME). Après avoir donné leur consentement éclairé, les femmes participent d'abord à un entretien pré-test individuel au VIH avec les sages femmes du CMSC. A l'issue de cet entretien, elles sont orientées vers le laboratoire pour le diagnostic du VIH.

II.1.2. Collecte du sang

Pour chaque femme enceinte, du sang veineux a été prélevé dans des tubes stériles contenant de l'EDTA tripotassique. Après le dépistage rapide des anticorps anti-VIH avec le sang total, les tubes sont centrifugés à 3000 rpm pendant 5 minutes. Les plasmas sont ensuite séparés et conservés à -80°C pour le diagnostic ultérieur du VHC et les analyses biochimiques.

II.2. Techniques d'analyse

Les kits préalablement conservés à 4°C sont exposés à la température ambiante du laboratoire avant la réalisation de chaque test.

II.2.1. Recherche des anticorps dirigés contre le VIH

L'algorithme de diagnostic prévoit l'utilisation de 2 tests rapides dont le second est effectué pour confirmation et discrimination des VIH, si le résultat du premier test est positif. La sensibilité et la spécificité de ces deux tests rapides sont confrontées à la méthode ELISA sur spectrophotomètre, dans le cas où ces deux tests rapides fournissent des résultats discordants.

II.2.1.1. Abbot determineTM HIV 1/2

Determine HIV 1/2 est un test immunochromatographique rapide et à lecture visuelle pour la détection qualitative des anticorps anti VIH 1 et anti VIH 2.

➤ Principe du test

L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt ; celui-ci migre jusqu'à la zone de dépôt du conjugué. Il se reconstitue et se mélange avec le conjugué colloïde de sélénium-antigène. Le mélange poursuit sa migration sur la phase solide jusqu'aux antigènes recombinants immobilisés et aux peptides synthétiques au niveau de la fenêtre « patient ».

Si les anticorps anti VIH 1 et /ou anti VIH 2 sont présents, ils se lient à l'antigène du conjugué antigène-colloïde de sélénium et à l'antigène de la fenêtre patient en formant une ligne rouge.

Si les anticorps anti VIH 1 et /ou anti VIH 2 son absents, le conjugué antigène-colloïde de sélénium traverse la fenêtré « patient » sans former de ligne rouge.

➤ **Mode opératoire**

- Enlever la protection plastique de chaque test.
- Distribuer 50 µl d'échantillon dans la zone de dépôt de l'échantillon.
- Attendre une minute, puis distribuer une goutte de tampon de fixation dans la zone de dépôt de l'échantillon.
- Attendre au moins 15 minutes puis lire les résultats.

➤ **Interprétation des résultats**

- Le test est dit positif lorsque deux barres rouges apparaissent sur la bandelette dans les fenêtrés « patient » et « contrôle ».
- Il est négatif lorsqu'aucune barre n'apparaît sur la bandelette dans la fenêtré « patient » ; la barre rouge de la fenêtré « contrôle » reste présente.
- Le test est non valide si aucune barre rouge n'apparaît dans la fenêtré « contrôle »

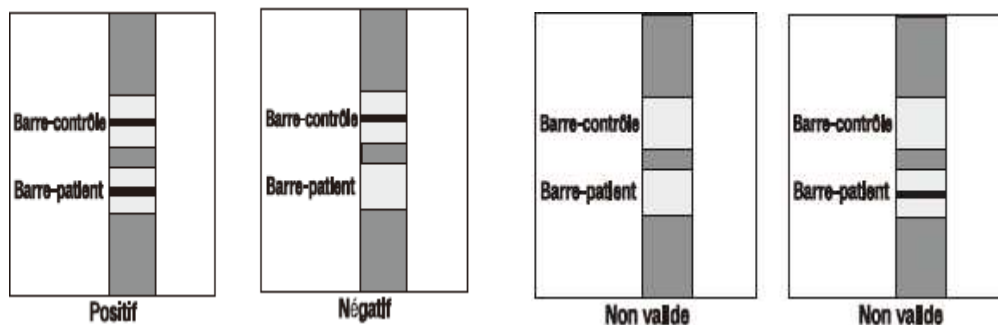


Figure 16 : résultats possibles du test Abbot determine™ HIV 1/2

II.2.1.2. Le HIV tri-dot

C'est un test immunoenzymatique rapide et visuel de type ELISA pour la détection et la différenciation des anticorps dirigés contre le VIH 1 et le VIH 2.

➤ **Principe**

Les antigènes des VIH, c'est-à-dire la gp 41 et la région c-terminale la gp 120 pour le VIH 1 et la gp 36 pour le VIH 2 sont fixés sur une membrane poreuse d'immunofiltration. L'échantillon à tester du patient traverse la membrane. Si les anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2 sont présents, ils se lient aux antigènes fixés. Le conjugué se lie à la partie Fc des anticorps pour donner un point rosacé.

➤ **Mode opératoire**

- Distribuer 3 gouttes de solution de lavage au centre du dispositif
- Déposer une goutte de l'échantillon du patient à tester
- Distribuer 3 gouttes de solution de lavage
- Ajouter 2 gouttes de liquide de conjugué
- Distribuer à nouveau 5 gouttes de solution de lavage
- Lire les résultats

➤ **Interprétation des résultats**

- Lorsqu'un seul spot rosacé apparaît, l'échantillon testé n'est pas réactif pour les anticorps anti VIH 1 et anti VIH 2.
- Un spot supérieur et un spot médian droit indiquent la présence d'anticorps anti VIH 1.
- Un spot supérieur et un spot médian gauche indiquent la présence d'anticorps anti VIH 2.
- L'apparition simultanée des trois spots précédents, signifie la présence des anticorps anti VIH 1 et anti VIH 2 dans l'échantillon correspondant.

II.2.2. Diagnostic du VHC

Après une décongélation des plasmas à la température ambiante du laboratoire, les anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C ont été recherchés dans tous les plasmas, par l'utilisation dans un premier temps, d'un test rapide. Les plasmas positifs par ce premier test,

ont été par la suite soumis à un deuxième test de confirmation par la technique EIA (enzyme immuno assay).

L'ARN du VHC a été recherché dans les échantillons confirmés positifs aux anticorps anti-VHC par la technique PCR (*Polymerase chain reaction*).

II.2.2.1. Le test ELISA rapide

La bandelette de test ELISA rapide du VHC est une membrane de dosage immunochromatographique, utilisée pour la détection qualitative des anticorps dirigés contre le VHC dans le sang total, le plasma et le sérum.

➤ Principe

Les antigènes recombinants du VHC, combinés à des particules de protéines A, sont fixés sur la zone de réaction de la bandelette. Au cours du test, le dépôt de sang total ou de plasma ou de sérum, migre par capillarité vers le haut de la bandelette. Lorsque les anticorps recherchés sont présents, ils réagissent avec les antigènes fixés sur la membrane pour donner une coloration visible à l'œil nu.

➤ Mode opératoire

- Retirer la bandelette de test de son emballage en aluminium.
- Décoller le ruban de la carte de test.
- Coller la bandelette au milieu de la carte avec les flèches orientées vers le bas.
- Déposer 100 µl de plasma dans la zone de dépôt.
- Déclencher le chronomètre puis interpréter 10 minutes après.

➤ Interprétation des résultats

La présence des anticorps se traduit par l'apparition de deux traits distincts rouges : un trait dans la zone de contrôle C et un autre trait dans la zone de test T. L'intensité de la coloration dans la zone de test varie en fonction de la concentration d'anticorps dans l'échantillon testé. Par conséquent un test avec une faible coloration est considéré positif.

L'absence d'anticorps est signifiée par l'apparition d'un seul trait rouge dans la zone de contrôle C et aucun trait dans la zone de test T.

Les résultats sont invalides si le trait du contrôle n'apparaît pas. Cela peut être dû à l'insuffisance de la quantité d'échantillon à déposer ou au non respect des procédures de manipulation.

II.2.2.2. Le test ELISA avec lecture sur spectrophotomètre

C'est une technique immuno-enzymatique indirecte de troisième génération pour la détection des anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C, dans le plasma ou le sérum humain.

➤ Principe

Elle repose sur l'utilisation d'antigènes recombinants. Les échantillons de plasma sont introduits dans les puits enduits d'antigènes spécifiques du VHC. Les anticorps anti-VHC présents dans l'échantillon, forment des complexes immuns avec les antigènes du VHC recouvrant les puits. Les puits des microplaques sont lavés et de l'immunoglobuline antihumaine couplée à la peroxydase est ajoutée.

Si le complexe antigène /anticorps est présent, le conjugué de peroxydase s'y lie et reste dans les puits. Après un second lavage, un substrat d'enzyme est ajouté. Pendant l'incubation, une couleur bleue se forme et est fonction de la concentration d'anticorps anti-VHC fixés dans les puits. Une solution d'arrêt est ajoutée dans chaque puits et l'absorbance est lue à 450 nm sur un spectrophotomètre lecteur de microplaques.

➤ Mode opératoire

- Placer le nombre requis de micropuits sur le support et laisser le premier puits libre pour le « blanc » ;
- Distribuer dans les puits appropriés :
 - 3x200 µl de contrôle négatif
 - 2x200 µl de calibrateur
 - 200 µl de contrôle positif
- Ajouter 200 µl de diluant d'échantillon dans tous les puits d'échantillons puis distribuer 10 µl d'échantillon dans chaque puits soigneusement identifié ;
- Agiter doucement et précautionneusement la microplaque ;

- Distribuer 50 µl de diluant de dosage dans tous les puits de contrôle, de calibrateur et d'échantillons ;
- Vérifier que la couleur des échantillons a viré au bleu sombre ;
- Incuber la microplaque à 37°C pendant 45 minutes ;
- Laver la microplaque 4 à 5 fois avec un laveur automatique de microplaque ;
- Pipeter 100 µl de conjugué d'enzyme dans tous les puits excepté le « blanc » ;
- Couvrir la microplaque avec du plastic adhésif ;
- Incuber la microplaque à 37°C pendant 45 minutes ;
- Laver 4 à 5 fois les puits ;
- Pipeter 100 µl du mélange chromogène-substrat dans tous les puits y compris le « blanc » ;
- Incuber la microplaque à l'abri de la lumière et à une température de 18-24 °C pendant 15 minutes ;
- Pipeter 100 µl d'acide sulfurique dans tous les puits en respectant l'ordre de pipetage dans l'étape précédente pour arrêter la réaction enzymatique ;
- Mesurer l'intensité de la coloration dans chaque puits à 450 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

➤ **Interprétation des résultats**

La présence ou l'absence des anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C se détermine en comparant pour chaque échantillon, l'absorbance enregistrée par rapport à celle de la valeur seuil.

Les échantillons dont les absorbances sont inférieures à la valeur seuil, sont considérés comme négatifs.

Si les absorbances des échantillons sont supérieures à la valeur seuil, alors ces échantillons sont positifs.

II.2.3. Quantification du génome du VHC

Le génome du VHC étant constitué d'ARN, une étape préalable d'extraction et de retro transcription de l'ARN en ADNc s'impose, avant la phase d'amplification

II.2.3.1. Extraction de l'ARN du VHC

L'extraction de l'ARN comporte quatre étapes : la lyse des leucocytes, la séparation des acides nucléiques, la purification de l'ARN et l'élution de l'ARN.

➤ **Mode opératoire**

✓ **Lyse des leucocytes**

- Pipeter 450 µl de solution de lyse et 150 µl de plasma dans un tube d'extraction de 1,5ml ;
- Bien mélanger au vortex ;
- Incuber 15 minutes à la température ambiante ;
- Mélanger toutes les 4 minutes pendant l'incubation ;
- Centrifuger pendant 5 minutes ;

✓ **Séparation des acides nucléiques**

- Ajouter 600µl de Binding Solution RBS à l'échantillon lysé ;
- Bien mélanger au vortex ;
- Transférer 650µl de l'échantillon dans le filtre muni d'un tube collecteur ;
- Centrifuger pendant une minute à 12000rpm ;
- Ecarter le tube collecteur
- Insérer le filtre dans un nouveau tube collecteur ;
- Transférer le volume restant (550µl) du lysa dans le même filtre ;
- Centrifuger 12000rpm pendant une minute ;

✓ **Purification des acides nucléiques**

- Insérer le filtre dans un nouveau tube collecteur ;
- Ajouter 500µl de solution de lavage HS dans le filtre ;
- Centrifuger pendant une minute à 12000rpm ;
- Ecarter le tube collecteur ;
- Insérer le filtre dans un nouveau tube collecteur ;
- Ajouter 650µl de solution de lavage LS ;
- Centrifuger pendant une minute à 12000rpm ;
- Changer de tube collecteur ;
- Centrifuger 2mn à la vitesse maximale 14000rpm ;

- Ecarter le tube collecteur ;

✓ **Elution de l'ARN**

- Transférer le filtre dans un tube d'élution de 1,5ml ;
- Ajouter 60µl de RNase free ;
- Incuber pendant 2 minutes à la température ambiante ;
- Centrifuger pendant une minute à 8000rpm.
- Conserver le tube d'élution contenant l'ARN élué à -20°C ;

II.2.3.2. Retro transcription de l'ARN en ADN

➤ **Mode opératoire**

- Pour chaque échantillon d'ARN purifié, préparer un mix de réaction selon le tableau ci-dessous :

ARN purifié	5µl
Primer mix	1µl
dNTP mix 10mM de chaque	1µl
Eau	3µl
Volume final	10µl

- Porter les échantillons à 65°C pendant 5 minutes dans un bain marie ;
- Refroidir immédiatement les tubes dans bain d'eau glacée ;
- Pour chaque échantillon d'ARN, préparer un mix de réaction selon :

MMLV 5X buffer	4 µl
eau	5.2 µl
Enzyme MMLV	0.8 µl
Volume final	10 µl

- Ajouter 10 µl de ce mix à chacun des échantillons en refroidissement ;
- Fermer les tubes et les vortexer brièvement ;
- Incuber les tubes à 42°C pendant 60 minutes ;

- Conserver les échantillons d'ADNc obtenues à 20 °C jusqu'à la PCR ;

II.2.3.3. La PCR en temps réel.

La PCR en temps réel utilise le principe général de la PCR classique avec pour différence, une amplification mesurée tout au long de la réaction.

➤ Principe

Une sonde oligonucléotidique non extensible par l'ADN polymérase, est ajoutée en même temps que les deux amorces nécessaires à l'amplification du produit. Cet oligonucléotide est complémentaire d'une séquence interne du fragment d'ADN à amplifier, située entre les deux amorces. A son extrémité 5' se trouve un fluorochrome, la FAM et à son extrémité 3', une molécule « quencher ». Lorsque le fluorochrome et le « quencher » sont proches, la fluorescence est absorbée par le « quencher ».

Durant l'étape d'élongation de la PCR, il y aura séparation du fluorochrome de la sonde, suite à l'activité 5'-3'exonucléasique de la polymérase thermostable. Il en résultera alors une émission de la fluorescence car le fluorochrome s'éloignera du « quencher ». L'intensité de la fluorescence est directement proportionnelle à la quantité d'ADN amplifiée au cours de la réaction de PCR. On peut ainsi suivre l'amplification de la séquence cible après chaque cycle.

➤ Mode opératoire.

- Préparer un mix de réaction selon le tableau ci-dessous:

Mastermix	10 µl
Mix sonde/amorce du virus	1 µl
Mix de contrôle	1 µl
Eau	3 µl
Volume final	15µl

- Pipeter 15µl de ce mix dans chaque puits selon le plan de la plaque de PCR ;
- Diluer les échantillons d'ADNc obtenus par retro transcription dans l'eau au 1/100e ;
- Pipeter 5µl de solution d'ADNc dans chaque puits, selon le plan de plaque. Le volume final dans chaque puits est 20µl ;

- Préparer la courbe standard de dilutions en série en :
 - pipetant 900µl d'eau dans 7 tubes numérotés de 2 à 8.
 - pipetant 100µl de contrôle positif dans le tube 2.
 - changer d'embout et pipeter 100µl du tube 2 dans le tube 3.
 - compléter les séries de dilution.
- Pipeter 5 µl de standard dans chaque puits selon le plan de plaque. Le volume final dans chaque puits est 20µl ;
- Recouvrir la plaque avec un couvercle chauffant à 105°C pour éviter toute évaporation ;
- Insérer la plaque dans la plate forme pour PCR Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System ;
- Analyser les résultats à la fin de la réaction avec le logiciel PCR Applied Biosystems 7500/7500 Fast Real-Time PCR System ;

II.2.4. Dosage des enzymes sériques

La transaminase glutamino-oxaloacétique (TGO), la transaminase glutamique pyruvique (TGP), la gamma-glutamyl-transférase (γ GT) et l' α -amylase ont été dosées à 37°C chez toutes les femmes.

Tous les dosages ont été effectués a l'aide d'un spectrophotomètre de marque Mina plus RAC 040 Aind. C. les réactifs utilisés sont :

- GOT U.V Kinetic test code HBE06 IFCC;
- GPT U.V Kinetic test code HBE07 IFCC;
- γ -GT Kinetic test code HBE05 IFCC;
- α -amylase Kinetic test code HBE03 IFCC.

Les valeurs normales ont été:

- TGO et TGP \leq 31
- γ -GT entre 11 et 50

- α -amylase < 90 U/l

II.3. Analyse des données

Les données recueillies ont été analysées avec les logiciels Epi-info version 6 et SPSS version 12. La différence entre les valeurs moyennes a été définie par le test-t, et une valeur de $p \leq 0,05$ a été considérée comme significative.

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

I.RESULTATS

I.1. Répartition des femmes par tranche d'âges

Les femmes sont âgées de 18 à 44 ans avec un âge moyen de $29,88 \pm 5,6$ ans. La classe d'âges de 32 à 37 ans est la plus représentée (31,6 %), suivie de celle d'âges inférieurs à 26 ans (30%). Les femmes âgées entre 26 et 31 ans représentent 29,6 % et celles d'un âge supérieur à 37 ans, 8,8 %.

Tableau 1 : Répartition des femmes par classe d'âges

Classe d'âges (en années)	effectifs	pourcentages	Agés moyen
< 26	75	30%	$23,19 \pm 2,25$
[26; 31]	74	29,6%	$29,12 \pm 1,44$
[32 ; 37]	79	31,6%	$34,19 \pm 1,69$
>37	22	8,8%	$39,77 \pm 1,57$
total	250	100%	$29,88 \pm 5,6$

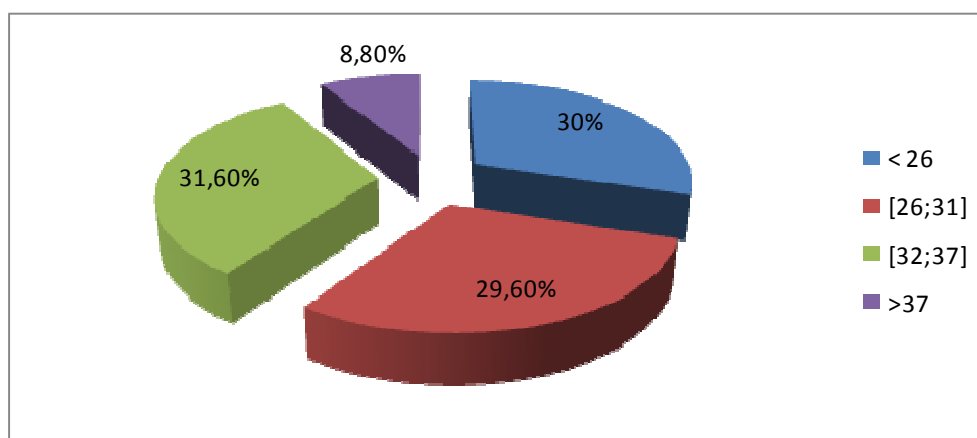


Figure 17 : répartition par tranches d'âges

I.2. Sérologie VIH des femmes

Deux cent femmes sont séropositives aux anticorps dirigés contre le VIH avec un âge moyen de $30,16 \pm 5,4$ ans. Les classes d'âges les plus touchées par le VIH sont celles de 32 à 37 ans et de 26 à 31 ans, avec respectivement 67 et 60 femmes infectées. Aucune différence significative n'a été observée entre ces deux classes d'âges ($P=0,452$).

Le VIH impliqué dans la majorité des infections est le type 1 avec 98% des infections. Le VIH 2 infecte 1,5% des femmes enceintes et 0,5 % des femmes enceintes sont infectées par le VIH 1 et le VIH 2.

Cinquante femmes, soit 20% de notre échantillon, ne possèdent pas d'anticorps dirigés contre le VIH.

Tableau 2 : statut sérologique pour le VIH par tranches d'âges

	VIH-	VIH+	effectifs
<26 (I)	19	56 (28%)	75
[26 ; 31] (II)	14	60(30%)	74
[32 ; 37] (III)	12	67(33,5%)	79
>37(IV)	5	17(8,5%)	22
total	50	200	250

Le test t statistique donne :

Relation	probabilité	interprétation
I→II	P=0,659	NS
I→III	P=0,233	NS
I→IV	P<0,001	S
II→III	P=0,452	NS
II→IV	P<0,001	S
III→IV	P<0,001	S

NS : non significatif

S : significatif

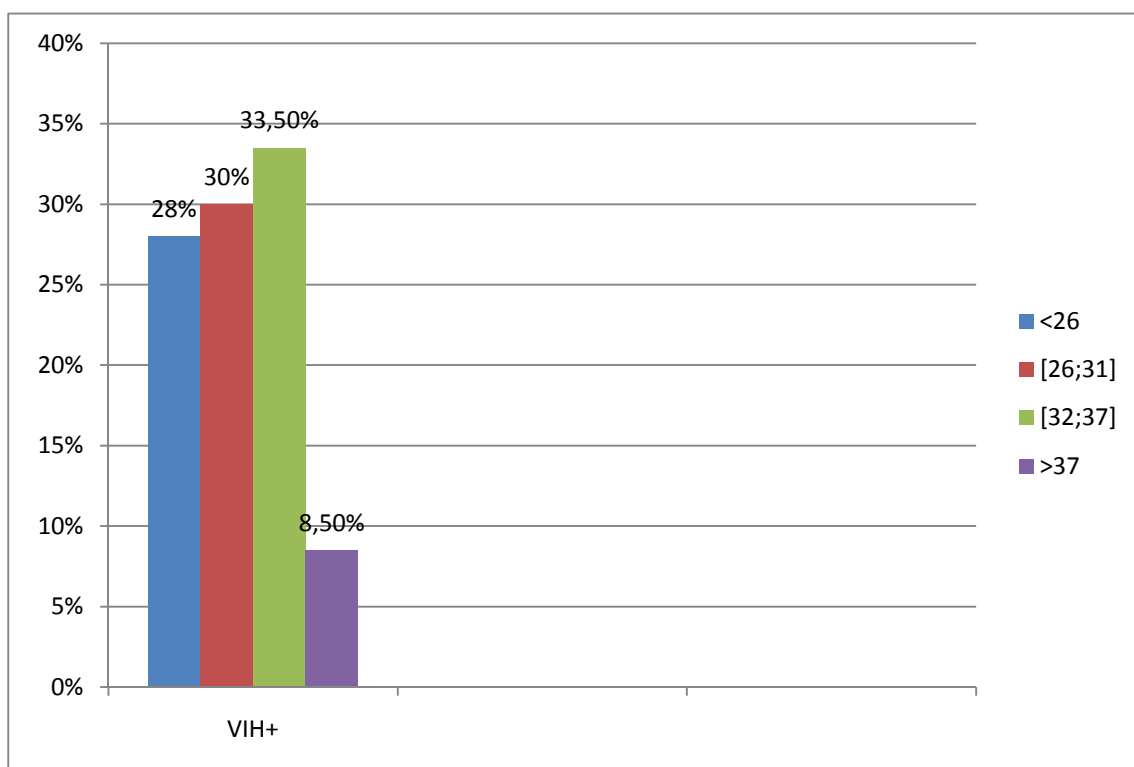


Figure 18 : répartition des femmes VIH positives par tranches d'âges

Tableau 3 : sérologie VIH des femmes enceintes

	Test VIH		Types de VIH		
	HIV-	HIV+	HIV 1	HIV2	HIV1/2
nombre	50	200	196	3	1
pourcentage	20%	80%	98%	1.5%	0,5%

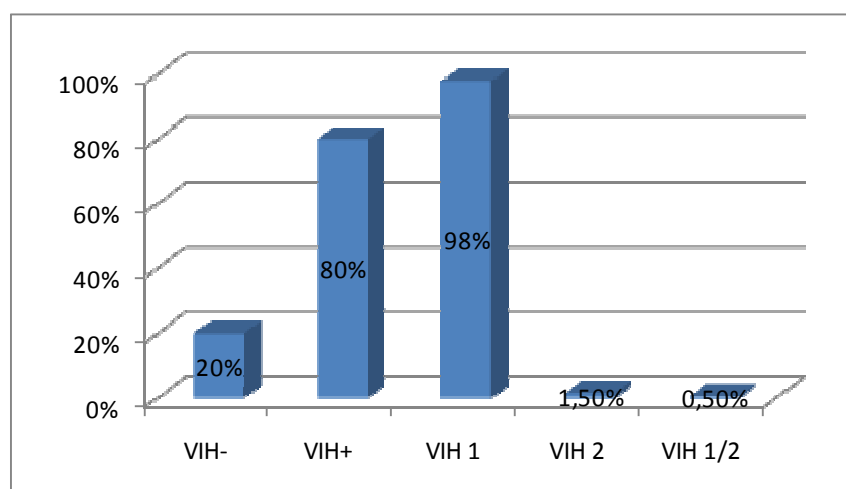


Figure 19 : profil des infections à VIH

I.3. détection des anticorps dirigés contre le VHC

Les anticorps anti VHC sont présents chez 4 femmes d'un âge moyen de $32,5 \pm 5,45$ ans. Deux de ces femmes sont également infectées par le VIH. Cette présence des anticorps a été confirmée par la méthode ELISA avec lecture sur spectrophotomètre.

Le test rapide a donné des résultats faussement positifs chez quatorze femmes enceintes. Les résultats des différentes techniques de diagnostic du VHC sont mentionnés dans le tableau 3.

Tableau 4 : résultats du diagnostic du VH

	Techniques de diagnostic du VHC					
	Test rapide		ELISA		PCR	
	Ac VHC+	Ac VHC-	Ac VHC+	Ac VHC-	+	-
VIH+	6	244	2	4	2	0
VIH-	8	42	2	7	1	0
Taux de positivité	5,6%		1,6%		1,6%	

La figure 20 montre le taux de positivité des différentes méthodes, utilisées pour le diagnostic du VHC.

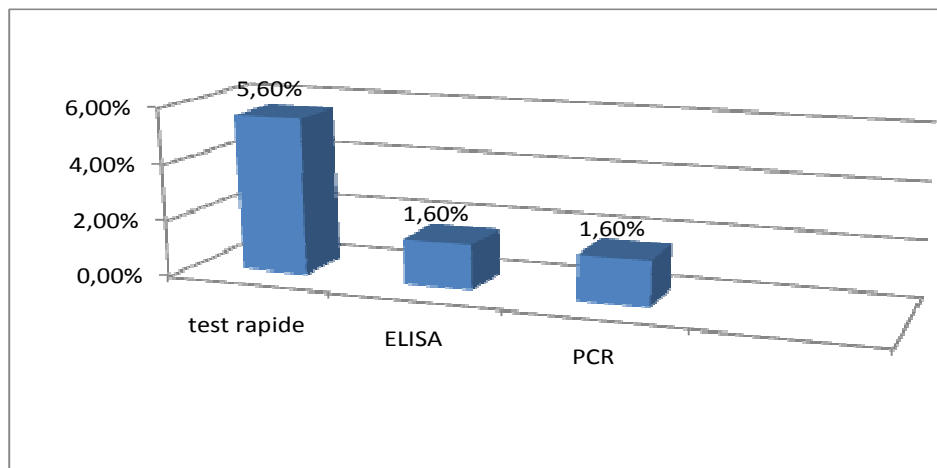


Figure 20 : prévalence des anticorps anti VHC selon les différentes techniques de diagnostic

I.4. Recherche et quantification de l'ARN du VHC

La recherche de l'ARN du VHC par PCR a été positive chez les 4 femmes possédant les anticorps anti-VHC. La quantification de la charge virale a charges virales sont respectivement de $3,1 \cdot 10^5$ copies/ml, $2,5 \cdot 10^4$ copies / ml, $1,2 \cdot 10^4$ copies/ml et 10^3 copies/ ml.

Tableau 5 : charges virales du VHC

numéros	Charges virales
1	$3,1 \cdot 10^5$ copies/ml
2	$2,5 \cdot 10^4$ copies/ml
3	$1,2 \cdot 10^4$ copies/ml
4	10^3 copies/ml

I.5. dosage des enzymes

Les concentrations sont exprimées en unités par litre d'échantillon (U/l).

- α -amylase et γ -glutamyl-transférase (γ -GT)

Les valeurs de ces enzymes étaient comparables aux valeurs de référence chez toutes les femmes.

Tableau 6 : valeurs moyennes de l' α -amylase et de la γ -GT

	VIH POSITIF		VIH NEGATIF		VHC POSITIF	
	α -amyl	γ -GT	α -amyl	γ -GT	α -amyl	γ -GT
Effectif	198	198	48	48	4	4
Moyennes (U/l)	87,5±14,15	14,5±7,04	56,5±11,5	5,75±4,5	65,75±14	17±6,78

- Transaminase glutamino-oxaloacétique (TGO)

Les niveaux moyens de la TGO étaient de 33±9,59 U/l chez les femmes infectées par le VHC et 20±14,15 U/l chez les femmes infectées par le VIH. On note une différence significative avec P=0,004.

Chez les femmes VIH négatives, la TGO avait une valeur moyenne de 23,75±2,061 U/l.

Tableau 7 : valeurs moyennes de la TGO

	VIH POSITIF (I)	VIH NEGATIF (II)	VHC POSITIF (III)
Effectifs	198	48	4
Moyennes (U/l)	20±8,83	23,75±2,06	33±9,59

Le test t a donné comme résultats :

I→II	P=0,003
I→III	P=0,004
II→III	P=0,26

- Transaminase glutamique pyruvique (TGP)

Les valeurs moyennes de la TGP étaient de 31,5±22,88 U/l chez les femmes infectées par le VHC, 7,2±4,26 U/l chez les femmes infectées par le VIH et 18,25±12,99 U/l chez celles qui ne sont pas infectées par ces deux virus.

Tableau 8 : valeurs moyennes de la TGP

	VIH POSITIF (a)	VIH NEGATIF (b)	VHC POSITIF (c)
effectifs	198	48	4
Moyennes (U/l)	7,25±4,26	18,25±12,99	31,5±22,88

L'application du test t donne :

a→b	P<0,001
a→c	P=0,242
b→c	P=0,012

II. DISCUSSION

Au cours de la présente étude qui s'est déroulée de Septembre 2008 à Avril 2009, sur 3642 femmes enceintes ayant subi un dépistage pour le VIH, 200 femmes ont été testées positives aux anticorps dirigés contre le VIH. De ce fait la prévalence du VIH établie est de 5,49%. Cette prévalence diffère de celle d'une précédente étude où ILBOUDO *et al.* (2000) avaient montré que 7,9% des femmes enceintes étaient infectées par le VIH. Cette prévalence est également inférieure à celles des études de SIMPORE *et al.* (2004 ; 2006), où des taux proches de 10,6 % avaient été annoncés. Selon l'ONUSIDA (2008), l'épidémie de VIH serait en déclin dans les zones urbaines du Burkina Faso et la prévalence serait de 2% parmi les femmes enceintes.

Les femmes les plus touchées par le VIH dans notre étude sont celles âgées de 26 à 37 ans, avec un niveau d'instruction très faible, des connaissances limitées sur le VIH et issues pour la plupart, de couches sociales pauvres. Cette classe d'âges est sexuellement très active et est par conséquent très vulnérable au VIH.

La prévalence des anticorps dirigés contre le virus de l'hépatite C est de 1,6% dans notre étude. Ce taux est superposable à la prévalence des anticorps anti-VHC dans la population générale des Etats-Unis selon l'étude d'ARMSTRONG *et al.* (2006), qui était aussi de 1,6 %. Ce taux est également en accord avec les données de la méta-analyse de ROBERTS et YEUNG (2002), où la prévalence du VHC chez les femmes enceintes variait entre 0,1% et 2,4%. Des prévalences comparables de 1% à 2,6%, avaient été rapportées dans certains pays d'Afrique de l'Ouest, comme la Guinée et la Côte-d'Ivoire par RUGGIERI *et al.* (1996) et ROUET *et al.* (2004). Mais cette prévalence est largement inférieure à celles des études de ILBOUDO *et al.* (2000) et de SERME *et al.* (2005), où des valeurs de 5,8% et de 8,5 % ont été évoquées. Lors de précédentes études menées au Ghana par CANDOTTI *et al.* (2003), au Gabon par NDONG *et al.* (2008), et en Thaïlande par JAMIESON *et al.* (2008), les prévalences du VHC chez les femmes enceintes, étaient respectivement de 1,3%, 2,1% et 3,6%.

Aucun facteur favorisant la transmission du VHC chez les femmes enceintes n'a été recherché dans la présente étude. Mais des pratiques à haut risque de contamination par le VHC telles que, l'excision, le tatouage des gencives, les scarifications ethniques et le tatouage cutané, sont courantes dans nos sociétés. Dans l'étude de SERME *et al.* (2005), 76 % des femmes testées positives aux anticorps anti- VHC, étaient excisées.

La prévalence du VHC avait été précédemment annoncée comme étant très élevée chez les personnes VIH positives, notamment chez les femmes enceintes. En effet, selon les données de l'étude de SCHOOLEY (2005), parmi les personnes vivant avec le VIH, 30 % étaient également infectées par le VHC aux Etats-Unis contre 50% en Thaïlande et 33% en Europe de l'Ouest. Mais dans notre étude, 2 sur 250 femmes sont coïnfectées par le VIH et le VHC, soit un taux de coïnfection par ces deux virus de 0,8 %.

La progression de l'hépatite C vers la cirrhose et l'hépatocarcinome est très lente, pendant des décennies chez les personnes mono infectées par le VHC (BLACKARD *et al.*, 2008). Mais certains auteurs estiment qu'en cas de coïnfection par le VIH et le VHC, le VIH pourrait être considéré comme un facteur de mauvais pronostic et accélérerait l'histoire naturelle de l'infection par le VHC. En effet, selon PINEDA et MACIAS (2005), le VIH accélère la progression vers la fibrose hépatique, le mécanisme de cette progression rapide demeurant encore inconnu. Aussi, DARBY *et al.* en 1997, avaient rapporté que le taux de mortalité due à un carcinome hépatique était plus élevé chez les hémophiles infectés par le VIH que chez ceux non infectés par le VIH. Dans cette même lancée, MOHSEN *et al.* (2002) et CARMO *et al.* (2008) avaient également démontré l'impact du VIH sur le VHC. Selon ces deux études, le VIH en détruisant les lymphocytes CD4, qui sont également impliqués dans la réaction immunitaire contre le VHC, contribuerait à la persistance du VHC dans le sang du sujet infecté.

Nous avons détecté l'ARN du virus de l'hépatite C chez les 4 femmes possédant les anticorps dirigés contre ce virus. Les charges virales étaient de $3,1 \cdot 10^5$ copies/ml, $2,5 \cdot 10^4$ copies / ml, $1,2 \cdot 10^4$ copies/ml et 10^3 copies/ ml. Selon MANZIN *et al.* (2000), une virémie élevée de la mère serait un facteur de risque de transmission du VHC au fœtus. Ainsi, OKAMOTO *et al.* (2000), avaient estimé dans leur étude, qu'à partir d'une charge virale maternelle seuil de $2,5 \cdot 10^6$ copies/ml, la transmission verticale du VHC était possible. Mais ZANETTI *et al.* (1995) n'avaient trouvé aucune corrélation entre la charge virale de la mère et une éventuelle transmission du VHC à l'enfant.

La fréquence de transmission du VHC n'a pas été évaluée, car nous ne disposions pas de données sur les enfants, qui n'étaient pas encore nés. Néanmoins, cette fréquence était de 0,5 % dans l'étude de SERME *et al.* (2005), et de 5% dans celle de RESTI *et al.* (1998). THOMAS *et al.* (1998) ont suggéré que le VIH augmente ce taux de transmission d'un facteur de 2. Selon MOK *et al.* (2005), le mode d'accouchement jouerait un rôle dans la

transmission mère-enfant du VHC. Cette hypothèse avait été également confirmée par PAPPALARDO (2003), dans sa méta-analyse sur l'influence du VIH sur la transmission verticale du VHC. Mais NJOUOM *et al.* en 2005, n'avaient détecté aucun cas de transmission verticale du VHC chez des nouveaux nés, dont les mères avaient pourtant des charges virales élevées lors de l'accouchement.

Cependant, les géotypes du VHC en cause dans les infections n'ont pas été déterminés dans notre étude. Toutefois, dans l'étude de SERME *et al.* (2005), le géotype 2a était impliqué dans la majorité des infections. Au Gabon, les formes circulantes du VHC appartiennent au géotype 4 (NDONG *et al.* ; 2008).

Nous avons noté une légère augmentation des transaminases (TGO et TGP) chez les femmes infectées par le VHC, avec des valeurs moyennes de $33 \pm 9,59$ U/l pour la TGO et $31,5 \pm 22,88$ U/l pour la TGP. Mais YOUNG (1997), suggéra qu'une augmentation des transaminases pourrait avoir une autre cause non virale, telle que l'absorption d'alcool et de certains produits pharmaceutiques. Par contre, GERVAIS *et al.* (2000) dans leur étude, avaient mentionné une diminution des transaminases chez les femmes enceintes. Aucune augmentation de la TGO et de la TGP, n'a été observée dans l'étude de SIMPORE *et al.* (2004).

Conclusion générale et perspectives

I.CONCLUSION GENERALE

Le virus de l'hépatite C infecte 1,6 % des femmes enceintes. Il constitue aussi un problème de santé publique, du fait des complications potentielles à long terme chez la femme et éventuellement chez l'enfant infecté. Le risque de transmission du VHC de la mère à l'enfant existe et varie selon les études. Aussi, la coïnfection avec le VIH augmente ce risque de transmission verticale. Il n'existe pas actuellement, d'immunoprophylaxie permettant de prévenir une éventuelle transmission du VHC. Par conséquent, des règles d'hygiène doivent être observées, comme le non partage d'instruments pouvant mettre en contact avec le sang du sujet infecté.

Compte tenu des contre-indications des traitements antiviraux de l'hépatite C chez la femme enceinte, il serait utile de proposer un dépistage de l'hépatite C chez la femme qui envisage une grossesse, car son diagnostic pourrait lui permettre de décider d'un traitement antiviral avec, en cas de guérison, une absence de risque de transmission verticale.

II.PERSPECTIVES

Les résultats fournis par la présente étude permettent d'envisager les perspectives suivantes:

- L'élargissement de l'étude à une plus large population représentative du Burkina Faso ;
- L'étude de la variabilité génétique du VHC au Burkina Faso par le génotypage et le séquençage ;
- L'étude de la recombinaison génétique entre les variants du VHC ;
- Le diagnostic du VHC chez les enfants nés de mères coïnfectées par le VIH et le VHC.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ARENDS J.E., BOUCHER C.A.B. and HOEPELMAN A.I.M., 2005. Hepatitis C virus and human immunodeficiency virus coinfection: where do we stand? *J. Med.*, 63(5):156-163.

ARMSTRONG G.L., WASLEY A., SIMARD E. P. and al., 2006. The Prevalence of Hepatitis C Virus Infection in the United States, 1999 through 2002. *Ann Intern Med.*,144:705-714.

AUGENBRAUN M., GOEDERT J. J., THOMAS D., and al., 2003.Incident hepatitis C virus in women with human immunodeficiency virus infection. *Clin Infec Dis.*,37:1357 -63.

BARTENSCHLAGER R. and LOHMANN V., 2000. Replication of hepatitis C virus. *J. Gen.Virol.* ,81:131–1648.

BLACKARD J.T., SHATA M. T, SHIRE N.J., and SHERMAN K.E., 2008. Acute hepatitis C virus infection: a Chronic problem. *Hepatology*, 47(1):321–331.

BRAITSTEIN P., YIP B., MONTESSORI V., and al., 2005. Effect of serostatus for hepatitis C virus on mortality among antiretrovirally naive HIV-positive patients. *CMAJ.* 173(2):160-4

CANDOTTI D., TEMPLE J., SARKODIE F., and al., .2003.Frequent recovery and broad genotype 2 diversity characterize hepatitis C virus infection in Ghana, west africa *J. Virol.*, 77(14) :7914–7923.

CARMO R. A., GUIMARAES M. D., MOURA A. S., and al., 2008. The Influence of HCV coinfection on clinical, immunological and virological responses to HAART in HIV-patients. *Braz. J. Infect. Dis.*, 12(3):173-179.

CDC, July 1999. HIV and its transmission.[en ligne].Disponible sur <http://www.cdc.gov/nchhstp/od/nchhstp.html>.

CHEN S. L. and MORGAN T. R.,2006. The natural history of hepatitis C virus (HCV) infection. *Int. J. Med. Sci.*, 3(2): 47-52.

CHENG D. M., NUNES D., LIBMAN H.,and al.,2007. Impact of hepatitis C on HIV progression in adults with alcohol problems .*Alcohol Clin Exp Res.*, 31(5): 829–836.

CHOO Q.L., KUO G., WEINER A. J., and al., 1989. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne Non-A, Non-B viral hepatitis genome. *Science*, 244(4902):359-62.

CHOO Q.L., RICHMAN K. H., HAN J. H., and al.,1991. Genetic organization and diversity of the hepatitis C virus. *Biochemistry*, 88:2451-2455.

GERMI R., CRANCE J.M., GARIN D., and al., 2001. Les récepteurs du virus de l'hépatite C : données actuelles. *Gastroenterol. Clin .Biol.*, 25:1011-1015.

GERVAIS A., BACQ Y., BERNUAU J., and al.,2000. Decrease in serum ALT and increase in serum HCV RNA during pregnancy in women with chronic hepatitis C. *J Hepatol* 32: 293–299.

GRAKOUI A., McCOURT D. W., WYCHOWSKI C.,and al.,1993. Characterization of the hepatitis C virus-encoded serine proteinase: determination of proteinase-dependent polyprotein cleavage sites. *J. Virol.*, 67(5):2832-2843.

HASELTINE W., 1991 . Molecular biology of the human immunodeficiency virus type 1. *FASEB J.*, 5:2349-236.

HENDERSON D. K., 2003. Managing occupational risks for hepatitis C transmission in the health care setting. *Clin. Microbiol. Rev.*, 16 (3):546–568.

ILBOUDO D.,SAWADOGO A. ,and SIMPORE J.,2000.Coinfection hépatite C et VIH chez les femmes enceintes à Ouagadougou (Burkina Faso). *Med. Ma.l Infect.*, 33 :276–279.

JAMIESON D. J., SKUNODOM N., CHAOWANACHAN T., and al., 2008. Infection with hepatitis C virus among HIV-infected pregnant women in Thailand., *Infect Dis Obstet Gynecol.*, 2008:7 pages.

JOUVENCEL A.C., NEAU D.,2 FAURE M.,and al.,2006. Plasma and liver hepatitis C virus variability in patients coinfecting with human immunodeficiency virus *J. Clin. Microbiol.* 44(5):1877–1880.

LAUER G. M. , NGUYEN T.N., DAY C.L, and al., 2002. Human immunodeficiency virus type 1-hepatitis C virus coinfection:intraindividual comparison of cellular immune responses against two persistent viruses. *J. Virol.*, 76(6) :2817–2826.

MANZIN A., SOLFOROSI L., DEBIAGGI M., and al., 2000. Dominant role of host selective pressure in driving hepatitis C virus evolution in perinatal infection. *J. Virol.*,74(9) :4327–4334.

MAST E. E., HWANG L.Y., . SETO D. S. Y., and al., 2005. Risk factors for perinatal transmission of hepatitis C Virus (HCV) and the natural history of HCV infection acquired in infancy. *J. Infect. Dis.*, 192:1880–9.

MOK J., PEMBREY J. M., TOVO P.A., and NEWELL M. L., 2005.When does mother to child transmission of hepatitis C virus occur?. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed* 90:156–160.

MOHSEN A. H., EASTERBROOK P., 2002. Hepatitis C and HIV-1 coinfection. *Gut*, 51:601–608

MRUS J. M., SHERMAN K. E., LEONARD A. C., and al., 2006. Health values of patients coinfecting with HIV/hepatitis C: are two viruses worse than one? *Med Care.*,44(2):158–166.

NDONG-ATOME G.R., MAKUWA M., and NJOUOM R., 2008. Hepatitis C virus prevalence and genetic diversity among pregnant women in Gabon, central africa. *BMC Infect. Dis.*,8 :82

NOUSBAUM J. B., 1997. Les sous-types génomiques du virus de l'hépatite C :épidémiologie, diagnostic et conséquences cliniques.Communication MR1996/059.

OKAMOTO M., NAGATA I., MURAKAMI J., and al., 2000. Prospective reevaluation of risk factors in mother-to-child transmission of hepatitis C virus: high virus load, vaginal delivery, and negative anti-NS4 antibody. *J Infect*, 182:1511-1514.

ONUSIDA, 2008. Rapport sur l'épidémie mondiale de sida 2008.[**en ligne**].Disponible sur : <http://www.unaids@unaids.org>.

PAPPALARDO B. L., 2003. Influence of maternal human immunodeficiency virus (HIV) coinfection on vertical transmission of hepatitis C virus (HCV): a meta-analysis. *Int J Epidemiol.*,32:727-734.

PAWLOTSKY J.M., 2002. Le virus de l'hépatite C. *Med. Sci.*, 18:303-14.

PINEDA A. and MACIAS J., 2005. Progression of liver fibrosis in patients coinfecting with hepatitis C virus and human immunodeficiency virus undergoing antiretroviral therapy. *J. Antimicrob. Chemother.*, 55:417–419.

PLAMONDON M., LABBE A.C., FROST E., and al., 2007. Hepatitis C virus infection in Guinea-Bissau: a sexually transmitted genotype 2 with parenteral amplification?.[**en ligne**].Disponible sur : <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.html>

RANSY D.G., AKOUAMBA B. S., SAMSON J., and al., 2007. Immunité maternelle et transmission mère-enfant du VIH et du VHC : Progrès récents et nouveaux défis. . *Med Sci*, 23:991-6.

RESTI M., AZZARI C., MANNELLI F., and al., 1998. Mother to child transmission of hepatitis C virus :prospective study of risk factors and timing of infection in children born to women seronegative for HIV-1. *BMJ*,317:437–41

ROBERTS E. A. and YEUNG L., 2002. Maternal-infant transmission of hepatitis infection C Virus. *J. Gen. Virol.*, 81:1631–1648.

ROUET F., CHAIX M., INWOLEY A., and al., 2004. HBV and HCV prevalence and viraemia in HIV-positive and HIV-negative pregnant women in Abidjan, Cote d'Ivoire: the ANRS 1236 study. *J Med Virol* 74: 34–40.

RUGGIERI A., ARGENTINI C., KOURUMA F., and al., 1996. Heterogeneity of hepatitis C virus genotype 2 variants in West Central Africa (Guinea Conakry). *J Gen Virol* 77: 2073–2076.

SCARSELLI E., ANSUINI H., CERINO R., and al., 2002. The human scavenger receptor class B type I is a novel candidate receptor for the hepatitis C virus. *EMBO J.*,21(19) :5017-5025.

SCHOOLEY R. T., 2005. HIV and Hepatitis C Virus Coïnfection: Bad bedfellows. *Top HIV Med.*,13(4):112-116.

SENTANDREU V., HERNANDEZ N., PUENTE M.T., Evidence of recombination in inpatient populations of hepatitis C virus. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.html>

SERME A.K. , ILBOUDO P. D., SAMANDOULGOU A., and al.,2006. Portage du virus de l'hépatite C chez les femmes enceintes et transmission mère-enfant à Ouagadougou, Burkina Faso. *Bull Soc Pathol Exot*, 99(2):108-109.

SIMPORE J., ILBOUDO D., SAMANDOULOUGOU A., 2004. HCV and HIV coïnfection in pregnant women attending St. Camille medical centre in Ouagadougou (Burkina Faso). *J. Med. Virol.*,75(2):209-12.

SIMPORE J., PIETRA V., SAVADOGO A., and al., 2006. Reduction of mother-to-child transmission of HIV at Saint Camille medical centre in Burkina Faso. *J. Med. Virol.*,Vol., 78:148–152 .

SIMPORE J., PIETRA V., PIGNATELLI S., and al., 2007. Effective program against mother-to-child transmission of HIV at Saint Camille medical centre in Burkina Faso. *J. Med. Virol.*,79:873–879.

SULKOWSKI M. S., THOMAS D. L., CHAISSON R. E. and al., 2000. Hepatotoxicity Associated With Antiretroviral Therapy in Adults Infected With Human Immunodeficiency Virus and the role of hepatitis or B infection. *JAMA*, 283(1):74-80.

SULKOWSKI M. S., and THOMAS D. L., 2003. Hepatitis C in the HIV-infected person. *Ann. Intern. Med.*, 138:197-207.

SURVEILLANCE, 2008. Epidemiological fact sheet on HIV and AIDS: core data on epidemiology and response. Burkina Faso . [en ligne]. Disponible sur : <http://www.unaids@unaids.org>.

THOMAS S.L., NEWELL M.L., PECKHAM C.S., and al., 1998. A review of hepatitis C virus (HCV) vertical transmission: risks of transmission to infants born to mothers with and without HCV viraemia or human immunodeficiency virus infection. *Int J Epidemiol* 27:108-117.

UNAIDS 2004, posting date, 2004. Report on the global AIDS epidemic. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.unaids@unaids.org>.

VEZINET F.B., DAMOND F., and SIMON F., 1999. Variabilité des virus de l'immunodéficience humaine de type 1. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.pathexo.fr/documents/articles-bull/1999/1999n4/T92-4-GMI-7.pdf>

WANG W.K., CHEN M.Y., CHUANG C.Y., and al., 2000. Molecular biology of human immunodeficiency virus type 1. *J. microbiol. immunol. infect.*,33:131-141.

WITTEVELDT J., EVANS M. J., BITZEGEIO J., and al., 2002. CD81 is dispensable for hepatitis C virus cell-to-cell transmission in hepatoma cells. *EMBO J.*, 21(19):5017-5025.

WHO, 1997. Hepatitis C: Global update. *Wkly. Epidemiol. Rec.*, 72:341–4.

WHO, 2005. La transmission du VIH par allaitement au sein : bilan des connaissances actuelles. [en ligne]. Disponible sur : http://www.who.int/reproductive-health/docs/hiv_infantfeeding/decisionmakers_fr.pdf

ZANETTI A.R., TANZI E., PACCAGNINI S., and al., 1995. Mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Lancet* 345:289-91.

ANNEXES

Annexe I. Résultats des tests sérologiques du VIH et du VHC

Numéros	Determine VIH 1/2	Tridot	Test rapide VHC	Test ELISA
1	+	VIH 1	-	-
2	+	VIH 1	-	-
3	+	VIH 1	-	-
4	+	VIH 1	-	-
5	+	VIH 1	-	-
6	+	VIH 1	-	-
7	+	VIH 1	+	-
8	+	VIH 1	-	-
9	+	VIH 1	-	-
10	+	VIH 1	-	-
11	+	VIH 1	-	-
12	+	VIH 1	-	-
13	+	VIH 1	-	-
14	+	VIH 1	-	-
15	+	VIH 1	-	-
16	+	VIH 1	-	-
17	+	VIH 1	-	-
18	+	VIH 1	-	-
19	+	VIH 1	+	+
20	+	VIH 1	-	-
21	+	VIH 1	-	-
22	+	VIH 1	+	-
23	+	VIH 1	-	-
24	+	VIH 1	-	-
25	+	VIH 1	-	-
26	+	VIH 2	+	-
27	+	VIH 1	-	-
28	+	VIH 1	-	-
29	+	VIH 1	-	-
30	+	VIH 1	-	-
31	+	VIH 1	-	-
32	+	VIH 1	-	-
33	+	VIH 1	-	-
34	+	VIH 1	-	-
35	+	VIH 1	-	-
36	+	VIH 1	-	-
37	+	VIH 1	-	-
38	+	VIH 1	-	-
39	+	VIH 1	-	-
40	+	VIH 1	-	-
41	+	VIH 1	-	-
42	+	VIH 1	-	-
43	+	VIH 1	-	-

Numéros	Determine VIH 1/2	Tridot	Test rapide VHC	Test ELISA
44	+	VIH 1	-	-
45	+	VIH 1	-	-
46	+	VIH 1	-	-
47	+	VIH 1	-	-
48	+	VIH 1	-	-
49	+	VIH 1	-	-
50	+	VIH 1	-	-
51	+	VIH 1	-	-
52	+	VIH 1	-	-
53	+	VIH 1	-	-
54	+	VIH 1	-	-
55	+	VIH 1	-	-
56	+	VIH 1	-	-
57	+	VIH 1	-	-
58	+	VIH 1	-	-
59	+	VIH 1	-	-
60	+	VIH 1	-	-
61	+	VIH 1	-	-
62	+	VIH 1	+	+
63	+	VIH 1	-	-
64	+	VIH 1	-	-
65	+	VIH 1	-	-
66	+	VIH 1	-	-
67	+	VIH 1	-	-
68	+	VIH 1	-	-
69	+	VIH 2	-	-
70	+	VIH 1	-	-
71	+	VIH 1	-	-
72	+	VIH 1	-	-
73	+	VIH 1	-	-
74	+	VIH 1	-	-
75	+	VIH 1	-	-
76	+	VIH 1	-	-
77	+	VIH 1	-	-
78	+	VIH 1	-	-
79	+	VIH 1	-	-
80	+	VIH 1	-	-
81	+	VIH 1	-	-
82	+	VIH 1	-	-
83	+	VIH 1	-	-
84	+	VIH 1	-	-
85	+	VIH 1	-	-
86	+	VIH 1	-	-
87	+	VIH 1	-	-
88	+	VIH 1	-	-
89	+	VIH 2	-	-

Numéros	Determine VIH 1/2	Tridot	Test rapide VHC	Test ELISA
90	+	VIH 1	-	-
91	+	VIH 1	-	-
92	+	VIH 1	-	-
93	+	VIH 1	-	-
94	+	VIH 1	-	-
95	+	VIH 1	-	-
96	+	VIH 1	-	-
97	+	VIH 1	-	-
98	+	VIH 1	-	-
99	+	VIH 1	-	-
100	+	VIH 1	-	-
101	+	VIH 1	-	-
102	+	VIH 1	-	-
103	+	VIH 1	-	-
104	+	VIH 1	-	-
105	+	VIH 1	-	-
106	+	VIH 2	-	-
107	+	VIH 1	-	-
108	+	VIH 1	-	-
109	+	VIH 1	-	-
110	+	VIH 1	-	-
111	+	VIH 1	-	-
112	+	VIH 1	-	-
113	+	VIH 1	-	-
114	+	VIH 1	-	-
115	+	VIH 1	-	-
116	+	VIH 1	-	-
117	+	VIH 1	-	-
118	+	VIH 1	-	-
119	+	VIH 1	-	-
120	+	VIH 1	-	-
121	+	VIH 1	-	-
122	+	VIH 1	-	-
123	+	VIH 2	-	-
124	+	VIH 1	-	-
125	+	VIH 1	-	-
126	+	VIH 1	-	-
127	+	VIH 1	-	-
128	+	VIH 1	-	-
129	+	VIH 1	-	-
130	+	VIH 1	-	-
131	+	VIH 1	-	-
132	+	VIH 1	-	-
133	+	VIH 1	-	-
132	+	VIH 1	-	-
134	+	VIH 1	-	-

Numéros	Determine VIH 1/2	Tridot	Test rapide VHC	Test ELISA
135	+	VIH 1	-	-
136	+	VIH 1	-	-
137	+	VIH 1	-	-
138	+	VIH 1	-	-
139	+	VIH 1	-	-
140	+	VIH 1	-	-
141	+	VIH 1	-	-
142	+	VIH 1	-	-
143	+	VIH 1	-	-
144	+	VIH 1	-	-
145	+	VIH 1	-	-
146	+	VIH 1	-	-
147	+	VIH 1	-	-
148	+	VIH 1	-	-
149	+	VIH 1	-	-
150	+	VIH 1	-	-
151	+	VIH 1	-	-
152	+	VIH 1	-	-
153	+	VIH 1	-	-
154	+	VIH 1	-	-
155	+	VIH 1	-	-
156	+	VIH 1	-	-
157	+	VIH 1	-	-
158	+	VIH 1	-	-
159	+	VIH 1	-	-
160	+	VIH 1	-	-
161	+	VIH 1	-	-
162	+	VIH 1	-	-
163	+	VIH 1	-	-
164	+	VIH 1	-	-
165	+	VIH 1	-	-
166	+	VIH 1	-	-
167	+	VIH 1	-	-
168	+	VIH 1	-	-
169	+	VIH 1	-	-
170	+	VIH 1	-	-
171	+	VIH 1	-	-
172	+	VIH 1	-	-
173	+	VIH 1	-	-
174	+	VIH 1	-	-
175	+	VIH 1	-	-
176	+	VIH 1	-	-
177	+	VIH 1	-	-
178	+	VIH 1	-	-
179	+	VIH 1	-	-
180	+	VIH 1	-	-

Numéros	Determine VIH 1/2	Tridot	Test rapide VHC	Test ELISA
181	+	VIH 1	-	-
182	+	VIH 1	-	-
183	+	VIH 1	-	-
184	+	VIH 1	-	-
185	+	VIH 1	-	-
186	+	VIH 1	-	-
187	+	VIH 1	-	-
188	+	VIH 1	-	-
189	+	VIH 1	-	-
190	+	VIH 1	-	-
191	+	VIH 1	-	-
192	+	VIH 1	-	-
193	+	VIH 1	-	-
194	+	VIH 1	-	-
195	+	VIH 1	-	-
196	+	VIH 1	-	-
197	+	VIH 1	-	-
198	+	VIH 1	-	-
199	+	VIH 1	-	-
200	+	VIH 1	-	-
201	-		-	-
202	-		-	-
203	-		+	-
204	-		-	-
205	-		-	-
206	-		-	-
207	-		+	-
208	-		-	-
209	-		-	-
210	-		+	-
211	-		-	-
212	-		-	-
213	-		-	-
214	-		-	-
215	-		-	-
216	-		-	-
217	-		-	-
218	-		-	-
219	-		-	-
220	-		+	+
221	-		-	-
222	-		-	-
223	-		-	-
224	-		-	-
225	-		-	-
226	-		-	-

Numéros	Determine VIH 1/2	Tridot	Test rapide VHC	Test ELISA
227	-		-	-
228	-		-	-
229	-		-	-
230	-		-	-
231	-		-	-
232	-		-	-
233	-		-	-
234	-		-	-
235	-		-	-
236	-		-	-
237	-		-	-
238	-		-	-
239	-		-	-
240	-		-	-
241	-		+	+
242	-		-	-
243	-		-	-
245	-		-	-
246	-		-	-
247	-		-	-
248	-		-	-
249	-		-	-
250	-		-	-

Annexe II. Ages des femmes

Numéros	Ages (années)
1	18
2	18
3	20
4	20
5	20
6	20
7	21
8	21
9	21
10	21
11	21
12	21
13	21
14	22
15	22
16	22
17	22
18	22
19	23
20	23
21	23
22	23
23	23
24	23
25	24
26	24
27	24
28	24
29	24
30	24
31	24
32	25
33	25
34	25
35	25
36	25
37	25
38	25
39	25
40	25
41	25
42	25
43	25
44	25

Numéros	Âges (années)
45	25
46	25
47	26
48	26
49	26
50	26
51	26
52	26
53	26
54	26
55	26
56	27
57	27
58	27
59	27
60	27
61	27
62	27
63	27
64	27
65	27
66	27
67	28
68	28
69	28
70	28
71	28
72	28
73	28
74	28
75	29
76	29
77	29
78	29
79	29
80	26
81	29
82	29
83	29
84	29
85	30
86	30
87	30
88	30
89	30
90	30

Numéros	Âges (années)
91	30
92	30
93	30
94	30
95	30
96	30
97	30
98	30
99	30
100	30
101	30
102	30
103	31
104	31
105	31
106	31
107	31
108	31
109	31
110	31
111	31
112	31
113	31
114	31
115	31
116	31
117	32
118	32
119	32
120	32
121	32
122	32
123	32
124	32
125	32
126	32
127	32
128	32
129	33
130	33
131	33
132	33
133	33
134	33
135	33
136	33

Numéros	Âges (années)
137	33
138	33
139	33
140	33
141	33
142	33
143	33
144	33
145	33
146	33
147	34
148	34
149	34
150	34
151	34
152	34
153	34
154	34
155	34
156	34
157	34
158	34
159	34
160	35
161	35
162	35
163	35
164	35
165	35
166	35
167	35
168	36
169	36
170	36
171	36
172	36
173	36
174	36
175	36
176	37
177	37
178	37
179	37
180	37
181	37
182	37

Numéros	Âges (années)
183	37
184	38
185	38
186	38
187	38
188	39
189	39
190	39
191	39
192	39
193	40
194	40
195	40
196	41
197	42
198	42
199	42
200	44
201	19
202	19
203	20
204	20
205	20
206	20
207	21
208	22
209	22
210	23
211	23
212	23
213	23
214	24
215	24
216	25
217	25
218	26
219	26
220	27
221	27
222	27
223	27
224	28
225	28
226	28
227	28
228	29

Numéros	Âges (années)
229	29
230	30
231	30
232	30
233	31
234	32
235	32
236	33
237	33
238	34
239	35
240	35
241	36
242	36
243	37
244	37
245	37
246	39
247	39
248	39
249	40
250	40