

VIH-SIDA

1° Découverte des virus de l'immunodéficience humaine :

1.1. Le VIH-1 :

En juin 1981, le CDC d'Atlanta annonce que des médecins ont signalé l'accroissement récent du nombre de cas de pneumonies à *Pneumocystis carinii* et de sarcomes de Kaposi, les deux affections étant parfois associées.

La pneumonie à *Pneumocystis carinii* (affection rarissime) était jusqu'alors connue comme une infection opportuniste touchant presque exclusivement les sujets en état d'immunodépression profonde.

Le sarcome de Kaposi, quant à lui, est très rare, ne touchant que les hommes âgés ou des sujets transplantés qui reçoivent une thérapeutique immunosuppressive. Or, tous les cas recensés par les médecins sont des hommes jeunes, précédemment en bonne santé et tous homosexuels. Puis, dans les mois qui suivent, d'autres groupes vont se joindre au groupe des homosexuels : les toxicomanes par injections intraveineuses d'héroïne, les Haïtiens et enfin les hémophiles...

Les examens de laboratoire révèlent chez tous les malades un effondrement de l'immunité cellulaire, d'où le nom donné au syndrome (syndrome d'immunodéficience acquise ou Sida).

On incrimine tout d'abord divers virus connus comme agents potentiels du Sida (le cytomégalovirus, le virus d'Epstein-Barr, le virus de l'hépatite B). Mais tous ces virus sont en fait responsables d'infections opportunistes qui sont la conséquence et non la cause de l'immunodéficience.

La découverte du virus du SIDA a donné lieu à de nombreuses polémiques et la découverte a été attribuée à l'équipe du Pr Montagnier en 1983.

Le VIH-1 a une diffusion mondiale.

1.2. Le VIH-2 :

Le VIH-2 a été isolé par Montagnier en 1985 (antigéniquement distinct de VIH-1, le VIH-2 est également moins pathogène).

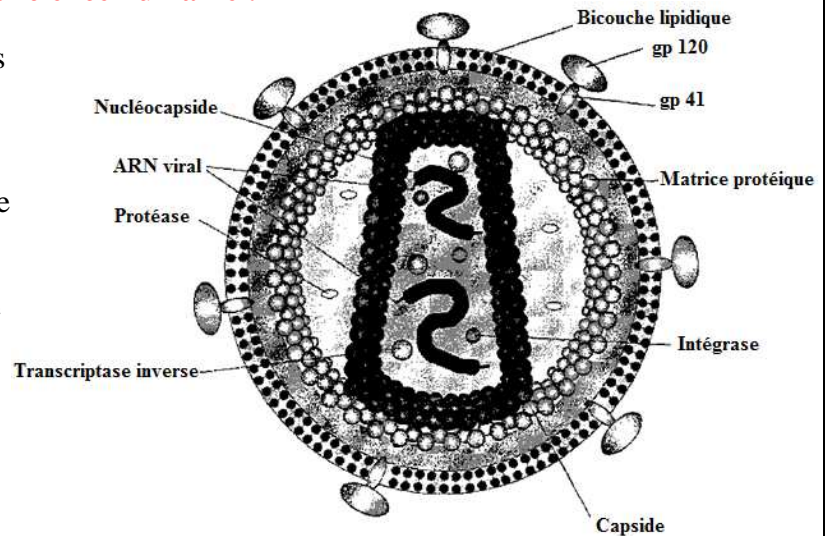
Le VIH-2 a une diffusion actuellement restreinte à l'Afrique de l'Ouest.

2° Structure des virus de l'immunodéficience humaine :

La structure et la morphologie des virus VIH-1 et VIH-2 sont sensiblement identiques.

Le gp 120 se fixe au récepteur cellulaire

Le gp 41 est lié au gp 120, qui est responsable de la fusion de l'enveloppe avec la membrane cellulaire.



3° Multiplication :

3.1. Le cycle de multiplication :

3.1.1. Du virus (ARN) au provirus (ADN) :

• Fixation par le gp 120 :

Le gp 120 se fixe au récepteur viral qui est la molécule CD4.

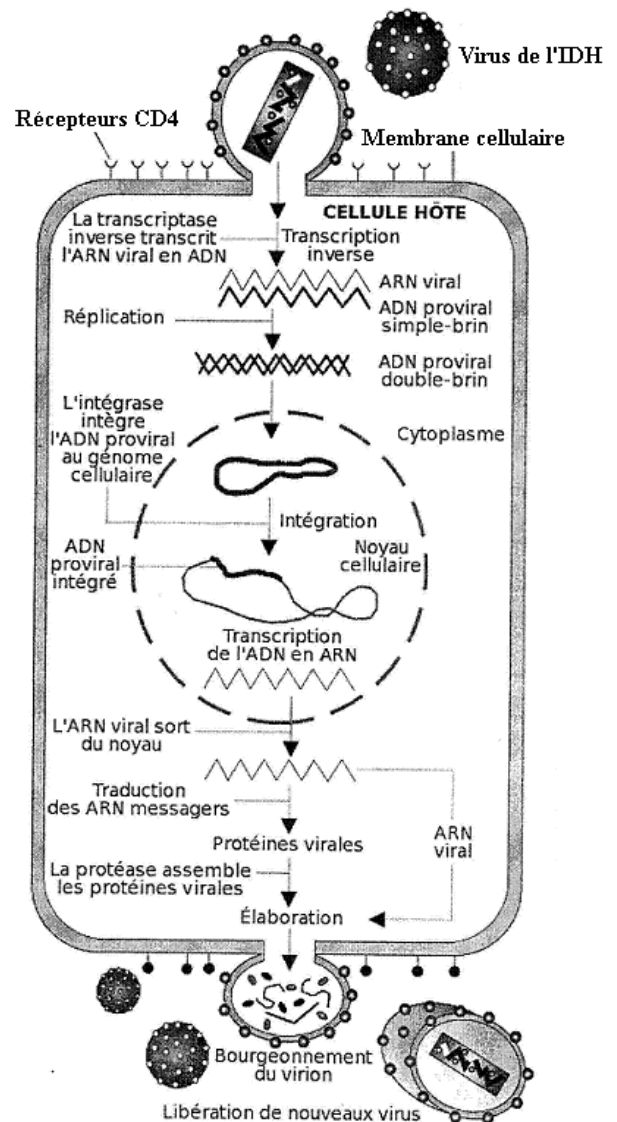
- La molécule CD4 caractérise les lymphocytes T-auxiliaires.
- Elle est également présente sur les macrophages, les cellules dendritiques des ganglions, de la rate et de l'épiderme.

• Pénétration par fusion :

Après s'être fixée à CD4, gp 120 doit trouver un second récepteur cellulaire (un co-récepteur). Il se forme alors un complexe trimérique (CD4-gp 120-Co-récepteur) indispensable pour permettre à la glycoprotéine gp 41 d'exercer son activité fusionnante.

• Décapsidation :

Dans le cytoplasme, la capsid se désagrège et libère le génome.



- **Réplication :**

Dans le cytoplasme de la cellule hôte, la reverse-transcriptase virale :

- Copie l'ARN en ADN simple brin.
- Hydrolyse le brin d'ARN.
- Copie l'ADN simple brin pour former un ADN bicaténaire.

La réplication suit un mécanisme très complexe.

- **Circularisation :**

L'ADN viral est transporté dans le noyau avec l'intégrase virale. Il se circularise

- **Intégration :**

L'intégrase coupe les deux brins de l'ADN cellulaire pour l'introduire l'ADN viral.

L'intégration semble pouvoir se faire dans de multiples sites de l'ADN cellulaire.

L'intégration dépend aussi de l'activation des cellules infectées. La rétrotranscription est lente et incomplète dans les cellules au repos (il se forme un ADN incomplet qui pourra être éventuellement complété si l'activation de la cellule ne survient pas trop tardivement. Sinon, l'infection avortera.

3.1.2. Du provirus aux nouveaux virions :

- **Transcription et réplication :**

Le provirus dépend de l'ARN polymérase cellulaire pour sa transcription en ARN-messagers et en ARN génomiques. La régulation de l'expression des gènes dépend à la fois de l'activité des protéines régulatrices virales et de la coopération de facteurs cellulaires.

Au début de l'expression du provirus, les gènes de régulations seuls s'expriment puis, les protéines régulatrices et des facteurs cellulaires orientent l'activité de l'ARN-polymérase vers la transcription des gènes codant les protéines de structure et les enzymes, au détriment de protéines de régulation.

L'unique transcrit primaire d'ARN qui se forme peut servir :

- D'ARN-m.
- D'ARN génomique.

- **Encapsidation, morphogénèse et libération :**

Sous la membrane de la cellule, remaniée par l'insertion des glycoprotéines virales, toutes les protéines de structure s'accumulent. Les deux molécules d'ARN s'en recouvrent. L'ARN-t cellulaire est fixé sur le site convenable grâce à la protéine p15.

Les nouveaux virions bourgeonnent. Ces particules virales sont encore immatures : la maturation des précurseurs s'achève grâce à l'activité de la protéase virale.

3.2. Les cellules-cibles du virus :

Les cellules-cibles sont essentiellement celles qui expriment à leur surface la protéine CD4 qui est le récepteur du virus. Ce sont surtout des cellules du système immunitaire (les lymphocytes T-auxiliaires et les macrophages).

Toutes ces cellules sont principalement concentrées dans les organes lymphoïdes, en particulier les ganglions. C'est donc dans ces organes que le VIH se multiplie. Le sang périphérique ne contient que 2 % des lymphocytes totaux.

3.3. Caractéristiques de la multiplication des VIH :

Il existe des erreurs qui surviennent lors de la réplication du génome.

Dans le cas du VIH, la rétrotranscriptase ne « relit » aucune des copies qu'elle exécute. Elle commet en moyenne une erreur sur 10^4 nucléotides qu'elle assemble. Le génome du VIH comprenant environ 10.000 nucléotides, il existe en moyenne une différence entre deux virus frères.

La sélection ne conserve que les mutations favorables :

- Une mutation défavorable supprime par exemple l'activité d'une enzyme nécessaire à la multiplication du virus (le mutant qui la porte disparaît, n'ayant pas la possibilité de se reproduire).
- Une mutation favorable est, par exemple, celle qui donnera au virus une glycoprotéine d'enveloppe différente puisque le mutant qui la porte peut ainsi échapper aux produits élaborés par le système immunitaire (anticorps et lymphocytes T cytotoxiques).

Toutefois, dans le cas de virus comme le VIH où le taux d'erreurs est très élevé, la force de la sélection est insuffisante pour maintenir l'identité de la population. La population reste hétérogène. Cette population est appelée quasi-espèce.

3.4. L'épuisement du système immunitaire :

On a longtemps cru que le VIH entrait en latence peu après l'infection, ce qui expliquait la phase de latence clinique de très longue durée, mais ce qui ne permettait pas de comprendre la disparition inexorable des lymphocytes Th dans le sang. En fait, le VIH engendre une infection chronique, il ne cesse de se reproduire.

Dès la primo-infection, une multiplication intense du virus a lieu chaque jour, un individu infecté produit cent millions à un milliard de virus tandis qu'en même temps plusieurs centaines de millions de lymphocytes Th sont détruits et remplacés. Puis, dans les semaines qui suivent la primo-infection, on observe une diminution progressive, mais incomplète, du nombre de virus dans le sang, liée aux effets de la réponse immunitaire :

- Les lymphocytes T CD8 cytotoxiques détruisent les lymphocytes Th infectés avant qu'ils ne libèrent des virus.
- Les anticorps neutralisants empêchent l'infection des lymphocytes Th par les virions libérés.

Mais bien qu'il paraisse "absent" dans le sang, le virus se réplique activement dans les tissus lymphoïdes (ganglions et rate). Les cellules dendritiques de ces tissus se comportent comme un réservoir de virus, et sont capables d'infecter en permanence les lymphocytes Th qui y séjournent.

Tout au long de la latence clinique, des variants apparaissent (l'un des variants échappe à la réponse immunitaire initiale et prolifère) :

- Le système immunitaire reconnaît cette nouvelle souche et réagit spécifiquement contre elle par de nouveaux lymphocytes Tc et de nouveaux anticorps.
- Mais d'autres variants vont à nouveau apparaître et parmi eux certains vont échapper à la nouvelle réponse immunitaire.
- Le système immunitaire doit à nouveau les reconnaître puis les éliminer. Le cycle se répète. Le VIH entraîne une infection chronique (l'éradication du virus est impossible).

Chaque nouveau variant entraîne la destruction des lymphocytes Th, qui se raréfient progressivement. Au bout de plusieurs années, les variations incessantes du VIH finissent par épuiser le système immunitaire. Il s'en suit une répllication incontrôlée du virus et la disparition complète des lymphocytes Th.

La longue période de latence clinique masque la lutte permanente entre le VIH et le système immunitaire. L'apparition du Sida est la conséquence de la destruction du système immunitaire par le VIH.

3.5. La transmission du virus :

Le virus peut être isolé de la plupart des liquides biologiques (sang, sperme, sécrétions vaginales, lait maternel, salive, larmes, LCR, urine). Mais le VIH est un virus fragile qui ne peut donc se transmettre qu'à l'occasion de contacts rapprochés.

Les voies de transmission des virus sont pour cette raison :

- **Sexuelle :**

La transmission sexuelle est le mode de contamination le plus fréquent. La porte d'entrée est la muqueuse génitale ou rectale. Les sécrétions génitales sont infectantes par les virus libres mais surtout par les cellules infectées (lymphocytes T CD4 et macrophages).

- **Veineuse :**

- Toxicomanie par voie IV.
- Transfusions sanguines.
- Accidents professionnels.

- **Materno-fœtale :**

Le taux de transmission du virus de la mère infectée à l'enfant est globalement évalué à 20%. Il dépend avant tout du nombre de virus présents dans le sang maternel (plus ce nombre est élevé, plus le risque de transmission est grand).

Cette transmission peut se faire in utero dans les deux derniers mois de la grossesse, mais surtout au moment de l'accouchement. La contamination par l'allaitement maternel est possible.

4° La maladie :

4.1. La phase de primo-infection :

Elle est symptomatique ou asymptomatique.

Quand la primo-infection est symptomatique, elle se manifeste par des signes généraux peu spécifiques qui ressemblent à ceux qu'on observe au cours de diverses affections virales aiguës (comme la MNI), la primo-infection risque souvent de passer inaperçue.

L'évolution vers le SIDA est plus rapide après une primo-infection symptomatique.

Le système immunitaire réagit à l'infection et, en quelques semaines, des anticorps apparaissent dans le sérum, dirigés contre l'ensemble des protéines du VIH, c'est la séroconversion (le sujet infecté devient séropositif).

4.2. La phase asymptomatique :

La deuxième phase est asymptomatique et peut être très prolongée. Le virus se réplique continuellement dans les gîtes lymphoïdes (les lymphocytes T CD4 vont entement, mais inexorablement, diminuer).

4.3. La phase clinique :

La phase clinique correspond au SIDA proprement dit lorsque le nombre de lymphocytes T CD4 devient inférieur à $200/m^3$, le syndrome d'immunodéficience apparaît.

Les manifestations les plus fréquentes sont les infections opportunistes.

L'immunodépression est également responsable de l'apparition de cancers.

- **Les non-progresseurs à long terme :**

Dans la majorité des cas, les signes cliniques de déficit immunitaire apparaissent pendant les dix années suivant la séroconversion.

Néanmoins, un nombre restreint de sujets demeurent cliniquement sains et immunologiquement normaux au-delà d'une décennie, ce sont les sujets dits "non-progresseurs à long terme".

Les critères retenus pour les non-progresseurs à long terme sont :

- Une séropositivité depuis au moins huit ans.
- Un état clinique asymptomatique.
- Un taux de CD4 stables $> 500/mm^3$.
- Pas de traitement antirétroviral.

Chez ces sujets, la charge virale plasmatique est basse, voire indétectable, mais elle persiste. Ce groupe des sujets dits "non-progresseurs" est en fait hétérogène. Certains sont véritablement "non-progresseurs au long cours" tandis que d'autres subissent une détérioration beaucoup plus lente de leur système immunitaire.

- **La résistance à l'infection :**

On a remarqué dans des groupes de sujets à haut risque que quelques sujets n'étaient pas cliniquement atteints du Sida. Ces sujets sont homozygotes pour une mutation portant sur le gène codant le co-récepteur CCR5 (la protéine mutée a perdu le domaine transmembranaire).

Elle est absente de la membrane et ne peut donc plus jouer le rôle de co-récepteur pour l'entrée du VIH. Cette anomalie atteindrait environ 1 % de la population de race blanche.

5° Diagnostic :

5.1. Diagnostic sérologique :

L'infection par le VIH entraîne une réponse immunitaire qui fait apparaître des anticorps dirigés contre toutes les protéines virales.

5.1.1. Le test de dépistage :

Un certain temps s'écoule entre la contamination par le virus et l'apparition des anticorps. Pendant cette période, le sujet contaminé est infectieux mais la sérologie est négative.

Cette période est appelée « fenêtre sérologique ». Plus les techniques de détection s'améliorent, plus la fenêtre sérologique diminue. Actuellement elle est de 22 jours.

La recherche des anticorps anti-VIH se fait à l'aide d'une technique ELISA. On pratique en même temps une réaction avec des sérums témoins positifs et négatifs.

Deux tests différents sont pratiqués sur le même sérum dont l'un doit permettre le dépistage des anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2 :

- Si la recherche est négative, on en reste là.
- Si la recherche est positive, on effectue un test de confirmation.

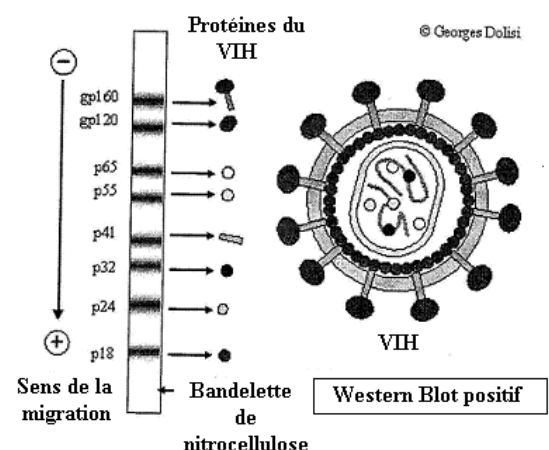
5.1.2. Le test de confirmation (Western-Blot) :

Le test de confirmation vérifie que les anticorps détectés par le test de dépistage sont bien spécifiques du VIH. En effet, un test de dépistage peut révéler des anticorps non spécifiques et ce test est donc faussement positif.

- Il n'est pas pratiqué si le test de dépistage est négatif.
- Tout dépistage positif, douteux ou discordant doit être confirmé.
- Il est recommandé d'effectuer le test de confirmation sur un prélèvement différent de celui du test de dépistage.

Le test de confirmation s'effectue par une technique Western-Blot.

- Après fragmentation d'une culture de virus, les protéines virales sont séparées par électrophorèse en gel d'agarose dans lequel elles vont migrer en fonction de leur poids moléculaire (les grosses molécules migrant moins facilement que les petites).
- On transfère les protéines séparées en « buvardant » le gel avec une feuille de nitrocellulose. Cette feuille est découpée en bandelettes.
- On immerge une bandelette dans un petit bac contenant le sérum à contrôler (si ce sérum contient des anticorps spécifiques du VIH, ils se fixent aux antigènes).



- La fixation des anticorps est révélée par une technique ELISA identique à celle utilisée pour le test de dépistage. On ajoute un anticorps anti-Ig humaines marqué par une enzyme puis, le substrat de cette enzyme.

5.2. Autres tests pour le diagnostic biologique :

5.2.1. Recherche de l'antigène P 24 :

La protéine P 24 est la protéine majeure de la capside du VIH.

Dans le cas d'une personne présentant un syndrome de primo-infection symptomatique, la détection de l'antigène P 24 peut être intéressante car elle est positive pendant la phase sérologiquement muette.

L'antigénémie se négative dès la séroconversion, les anticorps anti-P 24 se fixent à l'antigène pour former des complexes immuns qui sont éliminés.

L'antigène P 24 réapparaît au stade du Sida avéré, mais cet examen, autrefois considéré comme un marqueur de la réplication virale, est devenu à ce stade, inutile et déconseillé.

5.2.2. Isolement du virus en culture :

L'isolement du virus est une technique longue et difficile, qui n'est pas utilisée en routine. Elle est réservée au diagnostic de l'infection chez le nouveau-né de mère infectée.

En effet, tous les nouveau-nés de mère séropositive sont séropositifs car les anticorps maternels ont franchi la barrière placentaire. Leur présence empêche le diagnostic sérologique de l'infection d'un nouveau-né. La culture de cellules sanguines (virémie cellulaire) est principalement utilisée dans les semaines qui suivent la naissance pour prédire si un enfant né de mère VIH positif est infecté.

5.2.3. Détection du matériel génétique viral :

On peut rechercher et doser l'ARN viral plasmatique ou l'ADN proviral cellulaire. Cette technique peut remplacer la culture du virus dans le diagnostic d'une infection à VIH chez le nouveau-né de mère infectée.

5.3. Examens de laboratoire accompagnant le Sida :

L'infection à VIH est une infection chronique dont les manifestations cliniques n'apparaissent qu'après une période plus ou moins prolongée, généralement plusieurs années.

Pour évaluer le pronostic de l'infection, on fait appel à l'interprétation de deux marqueurs biologiques.

5.3.1. Atteinte du système immunitaire, les lymphocytes CD4 :

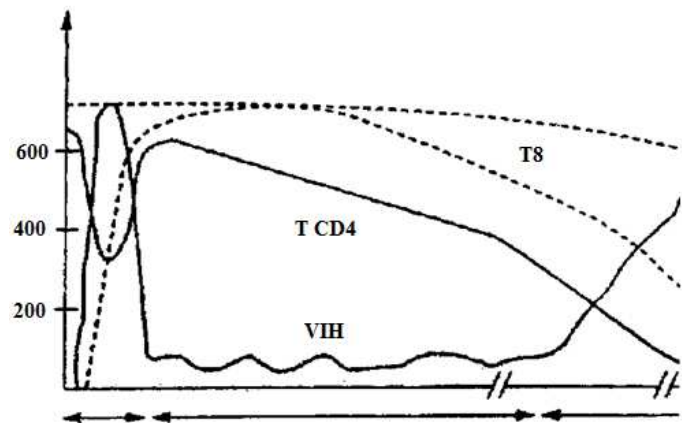
Le seul paramètre immunologique utile pour surveiller et prendre en charge les patients infectés par le VIH est le nombre absolu de lymphocytes CD4 circulants dans le sang.

Pour les distinguer des autres lymphocytes, on pratique un immuno-marquage avec des fluorescents et on compte les cellules marquées par cytométrie de flux (technique de numération automatique).

Les valeurs normales des T CD4 se situent entre 600 et 1200/mm³.

Il y a normalement 1500 à 4000 lymphocytes / mm³ dont 70 % de lymphocytes T (dont 60 % de T CD4 et 40 % de T CD8). Ainsi, le taux de T CD4 est normalement supérieur à 600 / mm³.

Le taux de lymphocytes T CD4 peut varier d'une mesure à l'autre en raison de la variabilité du nombre de lymphocytes circulants.



5.3.2. Evaluer la réplication virale, la charge virale :

La mesure de la concentration plasmatique de l'ARN du VIH évalue l'intensité de la réplication du virus dans l'organisme qui se situe dans les organes lymphoïdes.

Le niveau de réplication du virus, évalué par la charge virale, est le paramètre plus précis et le plus précoce pour déterminer une contamination dans la fenêtre immunologique et pour évaluer l'évolution clinique ultérieure.