

Intérêt de la Numération des Lymphocytes T CD4+ chez les Patients**Infectés par le VIH et suivis dans le district sanitaire de Ségou (Mali).****Interest of the T Lymphocytes CD4 + count in Patients Infected with HIV****and followed in the health district of Ségou (Mali).**

Maïga AI^{1,2,3}, Sangare SA¹, Fofana DB², Fiogbe A⁴, Dao S⁵, Haidara I⁶, Oumar AA⁵

Sogodogo I³, Salou M⁴, Maïga I⁵, Carcelin G⁷, Akonde A⁸, Katlama C⁸, Murphy R⁸ et Autran B⁷

¹Laboratoire d'Analyses Médicales, CHU Gabriel Toure, Bamako, Mali ;

²Unité d'Epidémiologie Moléculaire de la Résistance du VIH aux ARV, SEREFO, Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako, USTTB, Bamako, Mali

³Laboratoire de Biologie, Hôpital Nianankoro Fomba, Ségou, Mali

⁴Faculté des Sciences de la Santé, Université de Lomé, Lomé, Togo

⁵Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie, USTTB, Bamako, Mali

⁶Service de Médecine Interne, Hôpital Nianankoro Fomba, Ségou, Mali

⁷Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, Paris, France

⁸Solthis (Solidarité Thérapeutique et Initiative contre le Sida), Paris, France

Auteur correspondant : Dr Almoustapha Issiaka MAIGA, Unité d'épidémiologie Moléculaire de la Résistance du VIH aux ARV – SEREFO – Faculté de Pharmacie, Université des Sciences Techniques et des Technologies de Bamako. BP : 1805, Tel : +223 2022 6786 Fax : +223 2022 7513 Email : almoustapha@gmail.com; amaiga@icermali.org

Résumé

But du travail : Le but de notre étude était de suivre l'évolution du taux de lymphocytes T CD4+ chez les patients infectés par le VIH à Ségou (Mali).

Matériel et Méthodes : Nous avons recruté 270 patients infectés par le VIH. La numération des lymphocytes T CD4+ a été faite à l'aide d'un cytomètre de flux FACSCount. La numération des lymphocytes T CD4+ a été effectuée au début puis aux 6^{ème}, 12^{ème} et 18^{ème} mois du traitement antirétroviral.

Résultats : Sur 270 patients, 193 (71,4 %) sont âgés de 25 à 44 ans, 190 (70 %) sont du sexe féminin. Le VIH-1 prédomine à Ségou. Aux 6^{ème}, 12^{ème} et 18^{ème} mois du traitement antirétroviral le taux des lymphocytes T CD4+ était compris entre 200 et 350 chez 54,3 %, 74,5 % et 77,4 % de nos patients respectivement. Au 18^{ème} mois, il y avait une différence significative entre les moyennes du taux des lymphocytes T CD4+ chez les patients dont le taux est compris entre 200 - 350 à M0 et M18 ($p < 0,01$).

Conclusion : Le traitement antirétroviral a amélioré l'état immunitaire chez nos patients avec une augmentation considérable du taux des lymphocytes T CD4+. Nous recommandons l'utilisation du FASCount dans le suivi en zone décentralisée pour les patients infectés par le VIH.

Mos clés: VIH, Lymphocytes T CD4+, traitement antirétroviral, Ségou, Mali

Abstract

Purpose of work: The aim of our study was to monitor the rate of T lymphocytes CD4+ in patients infected with HIV in Ségou (Mali).

Material and Methods: We recruited 270 patients infected with HIV. The T lymphocytes CD4+ is made by using a flow cytometer FACSCount. The T lymphocytes CD4+ count was made at the beginning then the 6th, 12th and 18th months of antiretroviral treatment.

Results: Among 270 patients 193 (71.4%) were 25 to 44 years old. Of 270 patients, 190 (70%) are female. HIV-1 predominates in Ségou. At the 6th, 12th and 18th months of antiretroviral treatment our patients had, respectively, T lymphocytes CD4+ count between 200 and 350/ μ L at 54.3%, 74.5% and 77.4%.

At 18 months, there was a significant difference between the mean rate of T lymphocytes CD4 + in patients with a rate between 200 - 350 at M0 and M18 ($p < 0.01$).

Conclusion: Antiretroviral treatment has improved the immune deficiency in our patients with an increase in the rate of the T lymphocytes CD4+. We recommend the use of FACSCount for the immunological monitoring in HIV infected patient in decentralized area.

Key words: HIV, CD4+ T lymphocytes, Antiretroviral, Ségou, Mali

Introduction

L'infection à virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un problème majeur de santé publique dans le monde et particulièrement dans les pays à ressources limitées, notamment en Afrique au sud du Sahara. Les estimations de l'ONUSIDA en 2012 donnaient 35,3 (32,2 – 38,8) millions de personnes vivaient avec le VIH et le sida dans le monde. On constate une augmentation par rapport aux années précédentes due à l'augmentation du nombre de personnes sous thérapie antirétrovirale. A l'échelle mondiale, 2,3 (1,9 – 3,7) millions de nouvelles infections

a VIH ont été signalées, soit un recul de 33% par rapport aux 3,4 (3,1 – 3,7) millions en 2001. Les décès liés au sida enregistrent également une baisse passant de 2,3 (2,1 – 2,6) millions à 1,6 (1,4 – 1,9) millions en 2012. L'Afrique de l'Ouest est la région la moins touchée d'Afrique subsaharienne avec des prévalences moyennes variant de 0,7 et 8 % [2]. Bien que l'Afrique ne compte que 10 % de la population mondiale, c'est dans cette région du monde que naissent 90 % des bébés infectés par le VIH, sous l'effet combiné d'une prévalence élevée de l'infection, d'un fort taux de natalité et

aussi de l'absence de dépistage et de prise en charge correcte des mères [1]. Au Mali, selon l'Enquête Démographique et de Santé (EDSM V) menée en 2012, la prévalence globale du VIH était estimée à environ 1,1 %. [3]. Sans traitement antirétroviral (ARV) les personnes infectées par le VIH subissent un déclin progressif du taux de lymphocytes T CD4+, ce qui conduit à un déficit profond de l'immunité.[4,5]. La numération des lymphocytes T CD4+ joue un rôle très important dans le diagnostic immunopathologique et le suivi immunologique [6]. En 2003, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a lancé son programme dénommé « 3 by 5 » dont l'objectif d'était de traiter trois millions de personnes vivant avec le VIH en cinq ans. Cet objectif n'a pas été atteint mais des progrès considérables ont été accomplis quant à l'accès aux traitements antirétroviraux (ARV) [7]. La numération des lymphocytes T CD4+ étant un marqueur immunologique de référence

pour le suivi de l'infection VIH tant sur le plan pronostique que thérapeutique, il est pressant que la mesure des lymphocytes T CD4+ devienne plus largement disponible dans les pays à ressources limitées à défaut de la mesure de la charge virale. C'est ainsi que l'association Solidarité Thérapeutique et Initiatives contre le Sida (SOLTHIS) est venue en appui aux structures déjà existantes au Mali, en l'occurrence le programme national de lutte contre le sida (PNLS) appelé aujourd'hui Cellule sectorielle de lutte contre le sida (CSLS) et l'initiative malienne d'accès aux antirétroviraux (IMAARV), en vue de décentraliser dans la capitale régionale de Ségou, l'accès non seulement aux examens biologiques pour le suivi biologique mais aussi à la prise en charge thérapeutique. L'objectif de cette étude était de montrer l'intérêt de la numération des lymphocytes T CD4+ à l'aide d'un cytomètre de flux FACSCount chez les patients infectés par le VIH et sous traitement antirétroviral dans le site décentralisé de Ségou et de

suivre l'évolution immunitaire et virologique des patients.

Matériel et Méthodes

Type d'étude : L'étude transversale et prospective a été réalisée de novembre 2003 à avril 2005 à l'hôpital Nianankoro Fomba de Ségou. Le recueil des données biologiques a été fait grâce au registre du laboratoire pour la numération des lymphocytes T CD4+, CD8+, et CD3+.

Echantillons biologiques : Il s'agit de prélèvements veineux effectué sur tubes EDTA. La numération des sous-populations lymphocytaires sur sang total a été effectuée à l'aide d'un cytomètre de flux FACSCount. Nous avons pratiqué deux doubles marquages CD3/CD4 et CD3/CD8. Pour cela, nous avons utilisé deux tubes contenant chacun les anticorps monoclonaux conjugués aux fluochromes spécifiques afin de marquer soit des lymphocytes T CD4+ soit des lymphocytes T CD8+. Après la numération des lymphocytes T CD4, les tubes EDTA sont centrifugés et le plasma est aliquoté pour

des études supplémentaires (charge virale ou tests de résistance aux antirétroviraux). Les charges virales (CV) plasmatique ont été réalisées sur du plasma congelé au laboratoire de Ségou et envoyer a Paris au Laboratoire de Virologie de la Pitié-Salpêtrière. Les CV ont été réalisées sur un appareil de type TaqMan (Roche®). Tous les patients ont été mis sous traitements antirétroviraux et suivi avec les recommandations de l'OMS (Organisation mondiale de la Santé) version 2002.

Résultats

Caractéristiques des patients

Nous avons inclus dans cette étude deux cent soixante dix (270) patients infectés par le VIH et sous traitement antirétroviral (ARV). L'âge médian a été de 32,5 ans et les malades âgés de 24 à 35 ans ont été les plus touchés. Le sex- ratio a été de 2,3 en faveur des femmes. Le VIH-1 représentait 93,3% des patients, suivi du VIH-2 (5,2%). Les co-infections VIH-1 et VIH-2 étaient de 1,5%. Les traitements ARV étaient de : 216 (80%) patients sous la combinaison

Triomune® (d4T/3TC/NVP) suivi de l'AZT/3TC/NVP 24 (9%). Les autres combinaisons de traitement ARV sont décrites dans le tableau I. 42 (15,5%) patients ont bénéficié de la charge virale plasmatique. Parmi ces patients 35 (83%) avaient des charges virales indétectables à 6 mois et 32 (76%) à 18 mois. Les patients dont les charges virales étaient détectables avaient une médiane de charge virale 31 788 copies/mL (Tableau I).

Evolution immunitaire sous chimiothérapie antirétrovirale

L'évolution du statut immunologique a été évaluée de façon globale à chaque six mois où s'effectue la numération des lymphocytes T CD4+ conformément au protocole de traitement et de suivi biologique au Mali. A l'initiation du traitement antirétroviral le taux médian des lymphocytes T CD4+ était de 110 cellules/mm³, 240 cellules/mm³ à six mois de traitement ARV, 322 cellules/mm³ à douze mois et 390 cellules/mm³ à dix-huit mois (figure 1).

Discussion

La médiane d'âge est 32,5 ans avec des extrêmes de 18 et 74 ans. Les patients âgés de 25 à 34 ans étaient les plus nombreux, soit 44,3 % ; cela s'explique par le fait que cette tranche d'âge représente la période d'une activité sexuelle intense chez les jeunes. Ces résultats confirment ceux de KONATE et KASSOGUE et al. qui ont eu respectivement 67% et 71% mais ils ont classé leurs patients entre 20 et 40 ans [6, 7]. Parmi nos patients il y a plus de femmes que d'hommes. KONATE et al et SANOGO et al ont rapporté que la prévalence de l'infection par le VIH est plus élevée chez les femmes que chez les hommes au Mali (6, 8). Ces résultats laissent suggérer que l'épidémie du VIH a tendance à se féminiser au Mali (3).

Sur 270 patients, 216 (80 %) étaient sous traitement antirétroviral de première ligne stavudine + lamivudine + névirapine, 24 (9 %) sous lamivudine + stavudine + indinavir, 22 (8 %) sous zidovudine +

lamivudine + efavirenz et 8 (3 %) sous zidovudine + lamivudine + névirapine. La plupart de nos patients n'ont pas changé de traitement dans les six premiers mois de traitement et seulement 5,7% des patients ont eu un relais de traitement par Triomune® pour des problèmes de tolérance clinique. A l'initiation les lymphocytes T CD4+ chez les 270 patients, 68,6 % d'entre eux ont eu un taux de lymphocytes T CD4+ < 200 cellules/mm³ et 31,4 % ont eu un taux compris entre 200 – 350 cellules/mm³. Le taux minimum de lymphocytes T CD4+ était de 1 et le maximum était de 420 cellules/mm³. La médiane du taux des lymphocytes T CD4+ était de 110/mm³. Nos résultats sont proches de ceux de SISSOKO(6) et KASSOGUE(7) à Bamako qui ont trouvé respectivement des taux de lymphocytes T CD4+ < 200 soit 60,22% et 72,2% ; cela n'est que la confirmation du profil immunitaire de nos patients dont la majorité est symptomatique [7, 9]. Au 6^{ième} mois du traitement antirétroviral 54,3 % de

nos patients ont un taux de lymphocytes T CD4+ compris entre 200 - 350/mm³; 32,9 % ont un taux de lymphocytes T CD4+ ≥ 350 cellules/mm³. Le taux minimum de lymphocytes T CD4+ était de 10 et le maximum à 460. La médiane du taux des lymphocytes T CD4+ était de 240 cellules/mm³. La médiane des CD4 qui était de 110 cellules/mm³ à la première numération est montée à 240 cellules/mm³ ; cela est dû à l'efficacité des traitements antirétroviraux. Ces résultats sont proches de ceux de KASSOGUE (7). Au 12^{ième} mois du traitement antirétroviral seulement 224 patients ont eu une numération des lymphocytes T CD4+ : parmi eux 74,5% ont leur taux de lymphocytes T CD4+ ≥ 350/mm³ et 22 % un taux de lymphocytes T CD4+ < 200/mm³; cela serait dû soit à une reconstitution immunitaire lente soit des patients qui ont débuté leur traitement à un stade d'immunodépression sévère ou soit due à une mauvaise observance au traitement antirétroviral. Nos résultats sont

similaires a ceux obtenus dans une cohorte de 1105 patients infectés par des sous-types de VIH-1 CRF01_AE et B avec plus de 48,1% d'augmentation du taux de lymphocytes T CD4+ (10) Nos résultats sont concordants avec ceux d'une étude menée dans plusieurs pays de l'Afrique (Sénégal, Cote d'ivoire, Burkina Faso, Togo et Cameroun) et un pays d'Asie le Cambodge (11). Au 18^{ième} mois du traitement antirétroviral, la numération des lymphocytes T CD4+ a été effectuée pour 192 patients qui sont revenus pour le contrôle. Parmi eux 16 % avaient toujours un taux de lymphocytes T CD4+ inférieur à 200 cellules/mm³. La majorité des patients avait un taux de lymphocytes T CD4+ supérieur à 200 cellules/mm³. Ces données sont concordantes a celles obtenues en Asie (10, 12). Une récente étude menée au Mali chez les patients en échec de 2^{ème} ligne de traitement ARV montre une augmentation du taux de lymphocytes T CD4+ (13). Parmi nos patients 80 % étaient sous

stavudine+lamivudine+névirapine (2 INTI + INNTI). Cette combinaison favorise un gain rapide de lymphocytes T CD4+.[14]. Nos résultats montrent que l'association 2 INTI + INNTI est aussi efficace que l'association INTI + IP comme le rapporte KASSOGUE qui trouve que l'association 2 INTI + IP semble aussi favoriser un gain rapide de lymphocytes T CD4+ [7]. A la première numération 48,6 % des patients avaient un taux de lymphocytes T CD4+ < 200 et seulement 12,9 % avaient un taux de lymphocytes T CD4+ < 200 à la deuxième numération. Nous avons eu une augmentation très importante de la moyenne du taux de lymphocytes T CD4+ au 6^{ième} mois du traitement antirétroviral chez les patients dont le taux de lymphocytes T CD4+ était inférieur à 200 /mm³ à la première numération. Certains patients ont bénéficié de la charge virale plasmatique, pour ces patients 83,3%, 86% et 76% avait des charges virales indétectables respectivement à 6, 12 et 18 mois du traitement ARV. Ces résultats sont

supérieurs à ceux Baldé et al. au Mali qui ont trouvé un taux de 25% à 24 mois, 33,3% à 36 mois [15]. Les échantillons de patients ayant des charges virales détectables ont été acheminés à Paris pour des tests de résistance aux ARV. En attendant les résultats des tests de résistance ces patients ont été mis sous traitement de 2eme ligne après un renforcement de l'observance.

Conclusion

La cohorte étudiée est caractérisée par une prédominance féminine, un âge médian de 32,5 ans, une prédominance du VIH-1 et un statut immunitaire dégradé à moins de 200 lymphocytes T CD4+/mm³. Il y a une augmentation du taux de lymphocytes T CD4+ chez tous nos patients dès à 6 mois du traitement ARV. Ces résultats montrent la faisabilité de la numération des lymphocytes T CD4+ en contexte décentralisé dans les pays à ressources limitées et l'intérêt d'un bon suivi des traitements antirétroviraux au cours de l'infection par le VIH. Nous

recommandons l'utilisation de la numération des lymphocytes T CD4+ avec le FACSCount pour le suivi de l'infection par le VIH dans les zones à ressources limitées ainsi que le suivi virologique.

Remerciements : Nous remercions l'association SOLTHIS qui a financé la réalisation de ce travail dans le cadre de la mise en place de son premier programme. Nous remercions tous les patients infectés par le VIH et qui ont accepté de participer à cette étude. Nous remercions aussi le financement du NIH D43TW007995 et de l'Université de Northwestern de CHICAGO aux Etats Unis Grant Number D43TW007995 du Fogarty International Center. Le contenu de cet article est entièrement sous la responsabilité des auteurs et ne représente pas le point de vue officiel du NIH et du Fogarty International Center.

Bibliographie

1. Rapport ONUSIDA Décembre 2013. Le point sur l'épidémie du Sida. www.unaids.org Site internet consulté 10 janvier 2014.
2. SEMAILLE C., LOT F, GERARD PM., VIH Edition 2011. Doin 727 p. 2011.
3. Enquête Démographique de la Santé Mali-IV, EDS-V. 2012:410p.
4. CHOLLET-MARTIN S, LAVIGNE A, GOUGEROT-POCIDALO MA et al. Détermination par la méthode

- immunogold des sous-populations lymphocytaires T au cours des infections par le VIH (LAV/HLTIII). *Ann Biol Clin* 1987,45:300-307.
5. BLANC C, CARCELAIN G, PERIES L, et al, Intérêt de la numération absolue par cytométrie en flux et du quadruple marquage des sous-populations lymphocytaires lors de l'infection par le VIH. *Rev Fr Lab* 1996,287:59 - 64.
6. KONATE S. Etude préliminaire sur l'activité d'un médicament à base de plante (Complex vitex) pour la prise en charge des sujets VIH+ Thèse Pharm 00P23, Bamako, 2000.
7. KASSOGUE O. Etude de quelques paramètres biologiques chez les personnes vivant avec le VIH. Thèse Pharm, 03P46 Bamako, 2003.
8. SANOGO M. Enquête séro-épidémiologique sur l'infection par le VIH au CESAC de 2001 à 2003. Thèse Pharm 04P65, Bamako 2004.
9. SISSOKO K. Etude des populations lymphocytaires T du sang périphérique au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine à Bamako. Thèse Pharm 00P41, Bamako, 2000.
10. Oyomopito RA, Li PC, Sungkanuparph S, Phanuphak P, Tee KK, Sirisanthana T, et al, Evaluating immunologic response and clinical deterioration in treatment-naïve patients initiating first-line therapies infected with HIV-1 CRF01_AE and subtype B. *J Acquir Immune Defic Syndr*. 2013 Mar 1;62(3):293-300.
11. Balestre E, Eholié SP, Lokossue A, Sow PS, Charurat M, Minga A, et al International epidemiological Database to Evaluate AIDS (IeDEA) West Africa Collaboration. Effect of age on immunological response in the first year of antiretroviral therapy in HIV-1-infected adults in West Africa. *AIDS*. 2012 May 15;26(8):951-7.
12. Ng OT, Lin L, Laeyendecker O, Quinn TC, Sun YJ, Lee CC, et al; Increased rate of CD4+ T-cell decline and faster time to antiretroviral therapy in HIV-1 subtype CRF01_AE infected seroconverters in Singapore. *PLoS One*. 2011 Jan 27;6(1):e15738.
13. Maiga AI, Fofana DB, Cisse M, Diallo F, Maiga MY, Traore HA, et al, Characterization of HIV-1

- antiretroviral drug resistance after second-line treatment failure in Mali, a limited-resources setting. *J Antimicrob Chemother.* 2012. Dec;67(12):2943-8.
14. Marcelin AG, Jarrousse B, Derache A, Ba M, Dakouo ML, Doumbia A, et al. HIV drug resistance after the use of generic fixed-dose combination stavudine/lamivudine/nevirapine as standard first-line regimen. *AIDS.* 2007 Nov 12;21(17):2341-3.
15. Aliou Balde, Almoustapha I Maiga, Anatole Tounkara Échecs

virologiques des patients VIH-1 d'au moins 1 an de traitement antirétroviral au laboratoire SEREFO, Bamako(Mali), Editions universitaires europeennes (08-04-2012) ISBN 978-3-8417-9505-2

Tableau I : Caractéristique Sociodémographique, biologique et thérapeutique des patients sous traitement ARV

	Effectif	Pourcentage
Sexe Masculin	81	30
Sexe Féminin	189	70
VIH-1	252	93,3
VIH-2	14	5,2
VIH-1 et 2	4	1,5
d4T+3TC+NVP	216	80
AZT+3TC+IDV	24	9
AZT+3TC+EFV	22	8
AZT+3TC+NVP	8	3

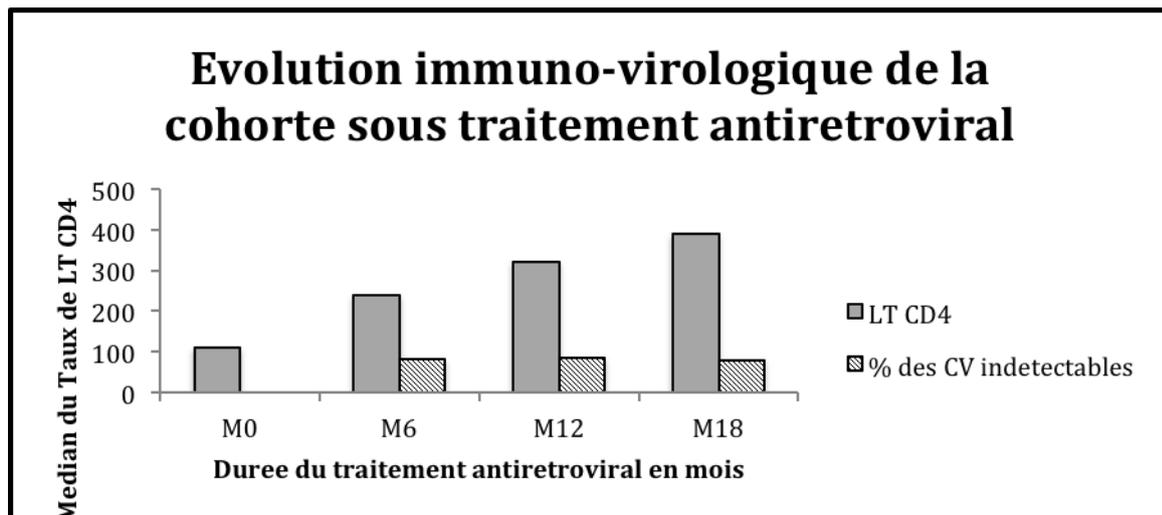


Figure 1 : Evolution immuno-virologique des patients sous traitement antirétroviral à 18 mois (M0, M6, M12 et M18 représentent respectivement les premier, sixième, douzième et dix-huitième mois du traitement antirétroviral).