



Examens virologiques pratiqués dans le cadre du suivi des patients porteurs du virus VIH

Dr Laurence Bocket, Laboratoire de Virologie, Pôle de Biologie Pathologie Génétique, CHRU de Lille

INTRODUCTION

Le virus de l'immunodéficience humaine ou VIH est un virus à ARN, qui a un cycle de réplication bien particulier :

- La fixation sur ses cellules cibles (LC CD4 et cellules de la lignée monocyte-macrophage) nécessite le récepteur CD4 et un co-récepteur, soit le CCR5 ou R5, soit le CXCR4 ou X4. La nature du corécepteur utilisé est définie comme le tropisme, corrélé avec l'histoire naturelle de la maladie (tropisme X4 dans les stades plus avancés).
- Après pénétration du virus, se produit une étape de reverse-transcription de l'ARN en ADN proviral, puis une étape d'intégration de cet ADN proviral VIH dans le génome des cellules infectées. On comprend ainsi que le virus peut être étudié dans les deux compartiments : virus circulant plasmatique (ARN) ou virus intégré intracellulaire (ADN proviral)
- Le VIH présente une grande variabilité génétique, avec plusieurs espèces virales (VIH1 et VIH2, mais aussi au sein de chacune de ces espèces de nombreux sous-types différents), et chez un même individu l'existence de variants dont certains sont responsables de résistance aux traitements disponibles. Ces variants peuvent émerger lors de la thérapeutique mais aussi être transmis (environ 10 % de résistance transmise en France).
- Pour les patients infectés par le VIH2, le suivi virologique est centralisé dans une cohorte nationale au laboratoire de virologie de l'hôpital Bichat-Claude Bernard. Le laboratoire de virologie du CHRU de Lille n'effectue que les examens de suivi des patients infectés par le VIH1, mais centralise les échantillons des patients VIH2 pour envoi à Bichat.

1/ Quantification de la charge virale

- Quantification de l'ARN-VIH / plasma :
 - o charge virale « classique », reflet de la réplication virale
 - o tubes EDTA ou PPT, ou plasma.
- Quantification de l'ADN proviral VIH / sang total :
 - o ADN total intracellulaire, reflet du « réservoir » viral
 - o marqueur diagnostique chez le nouveau-né de mère séro-positive
 - o Tubes EDTA **non centrifugé** (nécessité d'avoir les cellules)
- Quantification de l'ARN-VIH dans d'autres prélèvements :
 - o le **LCR**, pour apprécier l'atteinte neurologique ou le **sperme** dans le cadre de la PMA. ATTENTION : les trousseuses utilisées pour la charge virale ont un marquage CE et l'autorisation de l'ANSM uniquement pour leur utilisation dans le plasma. Dans les autres cas, c'est un protocole expérimental, les résultats sont donnés à titre indicatif.

2/ Etude de la sensibilité du virus VIH aux antirétroviraux : génotypage de résistance

- Séquençage des gènes cibles des traitements : protéase, reverse-transcriptase et intégrase
- Détermination du tropisme R5 ou X4 du virus (valeur pronostique et utilisation du maraviroc)
- **INDICATIONS :** Génotypage ARN-VIH (virus circulant)
 - o Chez les patients naïfs de traitement, pour détecter une éventuelle résistance transmise et éviter un mauvais choix de premier traitement
 - o Chez les patients en échec thérapeutique (réplication virale sous traitement)
 - o Nécessité d'une charge virale détectable, idéalement > 150 copies ARN-VIH/ml mais peut être tenté avec une charge virale plus faible jusque 50 copies/ml

Génotypage ADN proviral VIH

- o Chez les patients pour lesquels en raison d'une toxicité ou d'un désir de simplification, il est nécessaire de vérifier la sensibilité du virus alors que la charge virale plasmatique est négative
- o Nécessité de connaître le niveau d'ADN proviral VIH et donc réalisation d'une quantification préalablement : le génotypage sur ADN n'est réalisé que si l'ADN proviral VIH est > 500 copies/millions de cellules mononucléées. En dessous de ce seuil, on peut toutefois réaliser le tropisme.
- o ATTENTION : prélèvement / EDTA **non centrifugé** (nécessité de cellules)

3/ En pratique : prescription et acheminement des prélèvements

- La demande doit préciser clairement ARN ou ADN proviral pour les charges virales et les génotypages
- Il nous est utile de connaître le contexte thérapeutique : patient naïf (jamais traité) ou traitement en cours, en précisant les molécules reçues.
- Pour les examens sur ARN (plasma), les tubes PPT ou EDTA conviennent, 2 à 5 ml de **plasma** sont nécessaires
- Par contre pour les examens sur ADN proviral (cellules), seuls les tubes EDTA **non centrifugés** conviennent de façon à récupérer du sang total, au minimum 5 ml.

Attention: pour les examens réalisés sur sang total (ADN proviral: quantification ou génotypage), les prélèvements ne doivent pas être centrifugés. Il est impératif de les acheminer le jour même.