

**UNIVERSITE CHEIKH ANTA DIOP DE DAKAR
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE**



Année 2000

N° 4

**ETUDE PRELIMINAIRE DE L'INFECTION A
HERPESVIRUS HUMAIN TYPE 8 CHEZ LES FEMMES
ENCEINTES AU SENEGAL.**

THESE

Pour obtenir le GRADE de DOCTEUR EN PHARMACIE

(DIPLOME D'ETAT)

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT

LE 12 Avril 2000

Par

Aminata Touré épouse TOURE

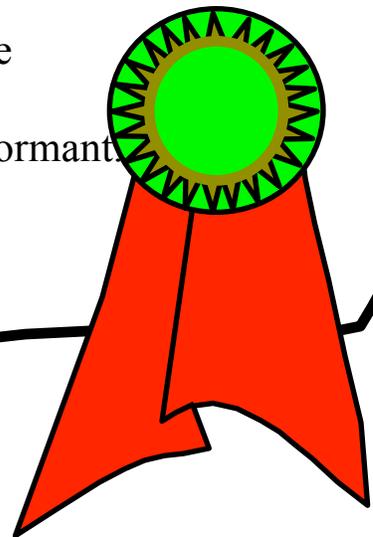
Née le 1 Novembre 1970

A Keur Cheikh (KAOLACK)

MEMBRES DU JURY

Président : Mr Pape	TOURE	Professeur
Membres : Mr Bassirou	NDIAYE	Professeur
Mr Souleymane	MBOUP	Professeur
Mme Aïssatou	GAYE-DIALLO	Maître de Conférences Agrégé
Directeur de thèse : Mme Aïssatou	GAYE-DIALLO	Maître de Conférences Agrégé

Une mention spéciale est faite au Professeur
Guy Blondin de Thé et de l'ONG suisse
World Laboratory qui ont rendu possible ce travail.
Le Professeur de Thé a fait le déplacement Paris –
Dakar pour asseoir le protocole
de recherche sur le HHV8
et la World Laboratory a permis l'achat
des réactifs et du matériel nécessaire
à la réalisation de l'étude. Particulièrement, cet
organisme a doté le laboratoire
d'un microscope à fluorescence performant.



A stylized scroll with a black outline, partially unrolled. The scroll is tied with a red ribbon that forms a large bow at the bottom right. A green circular seal with a black border and a serrated edge is attached to the ribbon. The text is centered on the scroll.

Nous remercions aussi le Docteur Antoine Gessain
et son équipe de l'unité d'Oncologie Virale
de l'Institut Pasteur de Paris qui ont accueilli
Le Professeur Aïssatou Gaye-Diallo
et ont permis le transfert de technologie.

Abréviations

aa	acide aminé
ADN	acide desoxyribonucléique
BCBL	Body cavity based lymphoma
°C	degre Celsius
CMV	Cytomégalovirus
coll.	Collaborateurs
EBNA	Epstein Baar nucléaire antigen
ECP	Effet cytopathogène
GC%	Guanine cytosine pourcentage
HHV	Human Herpes virus
HSV	Herpes Simplex virus
HVS	Herpes Virus Saimiri
Kd	kilodalton
KSHV	Kaposi's sarcoma associated Herpes Virus
LANA (LNA)	Latency associated nuclear antigen
nm	nanomètre
ONUSIDA	Organisation des Nation Unis pour la lutte contre le SIDA
ORF	Open reading Frame (phase de lecture ouverte)
PCR	Polymerase Chain reaction

REF

REFERENCE

TPA

12-o-Tétradécanoyl phenol 13 acetate

SIDA

Syndrome d'immunodéficience acquise

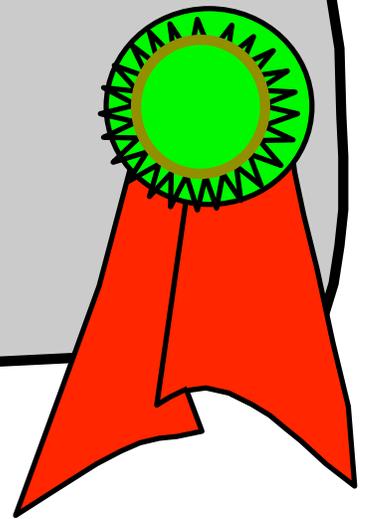
STP

Saimiri Transforming protein

VIH

Virus de l'immunodéficience humaine

Sommaire



INTRODUCTION	1
---------------------------	----------

PREMIERE PARTIE : RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

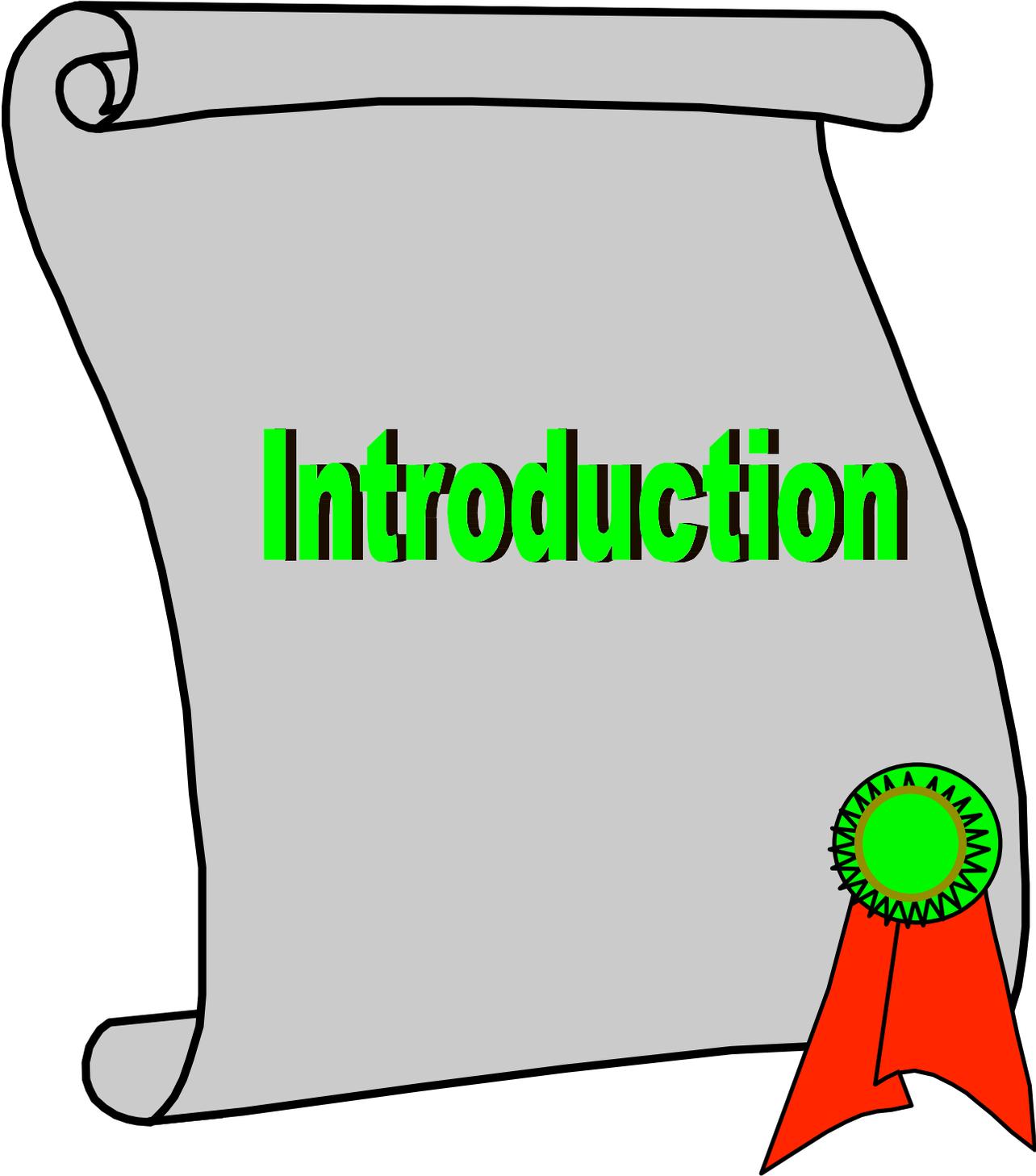
Chapitre I Généralités sur les Herpesvirus	2
1. DEFINITION DES HERPESVIRUS	2
2. CLASSIFICATION DES HERPESVIRUS	2
2.1. Classification selon leurs propriétés biologiques [45]	3
2.1.1. Sous-famille des Alpha-herpesvirinae.....	3
2.1.2. Sous famille des Beta-Herpesvirinae	3
2.1.3. Sous famille des Gamma-herpesvirinae	4
2.2. Classification selon la structure de leur génome	5
3. CARACTERES MORPHOLOGIQUES GENERAUX DES HERPESVIRIDAE [17]	5
4. COMPOSITION CHIMIQUE	6
5. MULTIPLICATION VIRALE (CYCLE PRODUCTIF)	7
6. PHYSIOLOGIE DE L'INFECTION A HERPESVIRUS [17]	8
7. EPIDEMIOLOGIE GENERALE DES INFECTIONS A HERPESVIRUS	9
8. POUVOIR ONCOGENE DES HERPESVIRUS.	10
Chapitre II Human Herpes Virus Type 8	12
1. GENERALITES	12
2. CARACTERES DU VIRUS	14
2.1. Structure de HHV8	14
2.2. Multiplication	17
2.2.1. Multiplication « in vitro ».....	17
2.2.2. Multiplication « in vivo »	17
3. PHYSIOPATHOLOGIE	18
4. EPIDEMIOLOGIE	20
4.1. Modes de transmission.....	20
4.2. Répartition géographique	23
5. PATHOLOGIES ASSOCIEES A L'INFECTION AU VIRUS HERPETIQUE DE TYPE 8 (HHV8)	26
5.1. Le Sarcome de Kaposi	26
5.1.1. La forme classique ou « Européenne » :	27
5.1.2. La forme endémique ou « africaine » :	27
5.1.3. La forme liée à l'immunodépression iatrogène.....	27
5.1.4. La forme liée à l'infection à VIH.	28
5.2. Le Myélome multiple.....	29
5.3. La maladie de Castleman.	30
5.4. Les lymphomes diffus des séreuses.....	31
6. Diagnostic de l'infection au virus herpétique humain type 8	32
6.1. Diagnostic direct	33
6.1.1. Prélèvement.....	33
6.1.2. La culture	33
6.1.3. L'amplification génique ou Polymerase Chain Reaction	33

6.2. Diagnostic indirect	34
6.3. Interprétation des résultats	34
7. TRAITEMENT DE L'INFECTION AU HERPVIRUS HUMAIN TYPE 8 (HHV8)	34

DEUXIEME PARTIE : SEROPREVALENCE DU VIH AU SENEGAL

CADRE D'ETUDE	39
1. POPULATION D'ETUDE	41
2. MATERIEL ET METHODES.....	41
2.1. Matériel	41
2.1.1. Pour le prélèvement.....	41
2.1.2. Au laboratoire	41
2.1.3. Matériel d'exploitation	43
2.2. Méthodes	43
2.2.1. Prélèvement.....	43
2.2.2. Sérologie HHV8	44
2.2.2.1. Principe du test.....	44
2.2.2.2. Technique	45
2.2.2.3. Interprétation des résultats.....	46
2.2.3. Sérologie HIV	46
2.2.3.1. Le Dot-Blot.....	46
2.2.3.2. Western-Blot	47
2.2.4. Exploitation des résultats	47
RESULTATS.....	49
1. POPULATION D'ETUDE	49
1.1. Répartition de la population d'étude selon la nationalité.....	49
1.2. Répartition de la population d'étude selon le statut marital.....	49
1.3. Répartition de la population d'étude selon la parité.....	50
1.4. Répartition de la population selon l'âge gestationnel.....	51
1.5. Répartition de la population d'étude selon la voie d'accouchement.....	51
1.6. Répartition de la population d'étude selon le sexe du nouveau-né.....	52
1.7. Répartition de la population d'étude selon le score d'Apgar 5mn	52
1.8. Répartition de la population d'étude selon le poids à la naissance	53
2. RESULTATS DES SEROLOGIES.....	53
2.1. Sérologie HIV	53
2.2. Sérologie HHV8.....	54
2.2.1. La nationalité.....	54
2.2.2. Le statut marital.....	55
2.2.3. La Parité.....	56
2.2.4. L'âge gestationnel.....	57
2.2.5. La voie d'accouchement.....	58
3. REPERCUSSION DE L'INFECTION A HUMAN HERPESVIRUS.....	59
3.1. Répercussion sur l'état de naissance du nouveau-né (vivant ou décédé)	59
3.2. Répercussion sur le score d'Apgar 5mn	60
3.3. Répercussion sur le poids de naissance du nouveau-né	60
DISCUSSION.....	49

CONCLUSION..... 54
BIBLIOGRAPHIE..... 55



Introduction

INTRODUCTION

L'Herpesvirus Humain type 8, jadis appelé Herpesvirus associé au sarcome de Kaposi (KSHV), est un virus qui appartient à la famille des *Herpesviridae*.

C'est un virus découvert en 1994 par Chang et coll. dans les lésions de sarcome de Kaposi et son identification a été basée sur sa biologie moléculaire.

A partir de cette date, de nombreuses études moléculaires ont permis d'associer ce virus d'abord au sarcome de Kaposi ensuite à d'autres affections tumorales comme la maladie de Castleman, les lymphomes diffusés des séreuses et le myélome multiple.

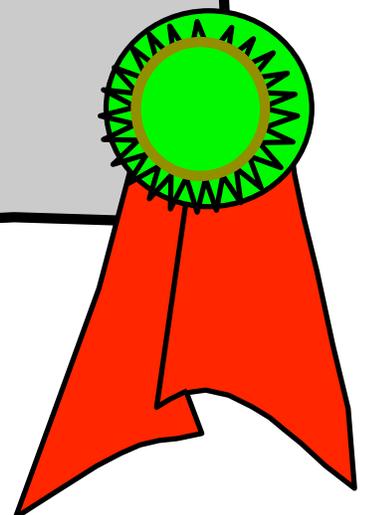
L'épidémiologie de l'infection à Herpesvirus humain type 8 est aussi établie par les données sur la séroprévalence mais les résultats africains ne sont pas encore nombreux.

Le sarcome de Kaposi bien qu'étant une affection opportuniste survenant au cours du SIDA, n'est pas très fréquent au Sénégal même dans la population des personnes vivant avec le VIH. Et les données sur le HHV8 sont quasi inexistantes au Sénégal, nous nous sommes proposés dans un travail préliminaire de montrer la circulation de ce virus dans notre pays et de commencer par une étude séroépidémiologique chez les femmes enceintes, reflet de la population générale.

Pour cela, après une revue bibliographique, nous exposerons les résultats de la séroprévalence dans un groupe de femmes enceintes de la région de Dakar. Ces résultats seront par la suite commentés et comparés à ceux de la littérature.



Généralités sur les Herpesvirus



Chapitre I Généralités sur les Herpesvirus

La famille des *Herpesviridae* comporte près d'une centaine d'Herpesvirus de l'Homme et d'un grand nombre d'espèces animales. Seuls huit [7] *Herpesvirus* humains ont été décrits : ce sont les virus herpétiques humains types 1 à 8. Selon la terminologie anglo-saxonne, ils sont dénommés *Human Herpesvirus* et nous adopterons l'abréviation HHV suivi du numéro type virus ; Exemple : *Human Herpesvirus* type 8 ou HHV8. Ces virus sont caractérisés par une spécificité d'hôte très étroite : les virus animaux ne contaminent pas l'homme, sauf le virus B du singe qui provoque une encéphalomyélite humaine constamment mortelle. D'autre part, ces virus sont caractérisés par les phénomènes de latence et de récurrence : après la primo-infection, le virus hiberne dans l'organisme en un site dépendant de son tropisme (c'est la latence) ; il pourra être réveillé par un stimulus de nature diverse et entraîner à nouveau la maladie (c'est la récurrence). Ces deux phénomènes auront un impact important sur la physiopathologie des infections herpétiques et leur traitement.

1. DEFINITION DES HERPESVIRUS

Il s'agit d'un groupe de virus à symétrie cubique, à ADN bicaténaire linéaire enroulé autour d'une bobine protéique ; ils sont enveloppés et leur poids moléculaire varie entre 80.10^6 et 150.10^6 daltons. Entre l'enveloppe et la capsid, se trouve une structure fibrillaire de nature protéique appelée tégument.

2. CLASSIFICATION DES HERPESVIRUS

Ces virus appartiennent à la famille des *Herpesviridae* et leur classification fait intervenir 2 grands critères : leurs propriétés biologiques et la structure de leur génome.

2.1. Classification selon leurs propriétés biologiques [45]

Dans les propriétés biologiques, l'accent sera mis sur la spécificité d'hôte, la durée du cycle réplicatif, la cytopathologie et les caractères de l'infection. Ainsi, les *Herpesviridae* sont classés en 3 sous familles : les *Alpha-Herpesvirinae*, les *Beta-Herpesvirinae*, les *Gamma-Herpesvirinae*.

2.1.1. Sous-famille des Alpha-herpesvirinae

L'infection naturelle est de façon générale spécifique d'une espèce animale donnée, mais on peut expérimentalement infecter d'autres espèces.

- Le cycle de réplication virale est très rapide : durée inférieure à 24 heures. Les cellules infectées présentent un effet cytopathogène (ECP) caractéristique.
- L'infection latente siège essentiellement in vivo dans les ganglions nerveux mais d'autres tissus peuvent également héberger le virus.

Les virus humains de cette sous-famille sont les suivants :

Tableau I : Classification des virus de la sous-famille des *Alpha-Herpesvirinae*

Genre	Espèces	Noms courants	Abréviations
<i>Simplexvirus</i>	<i>Human Herpesvirus 1</i>	<i>Herpes simplex virus 1</i>	HHV1 ou HSV1
	<i>Human Herpesvirus 2</i>	<i>Herpes simplex virus 2</i>	HHV2 ou HSV2
<i>Varicellovirus</i>	<i>Human Herpesvirus 3</i>	<i>Varicella Zoster virus</i>	HHV3 ou VZV

2.1.2. Sous famille des Beta-Herpesvirinae

L'infection naturelle est limitée à une seule espèce animale sensible (spectre d'hôte très étroit).

- Le cycle de réplication virale in « vitro » n'a lieu en général que dans les fibroblastes de l'espèce sensible à l'infection naturelle. Ce

cycle de réplication est très long (plusieurs jours). Un effet cytopathogène peut être observé dans la cellule infectée, cet ECP se développe en foyers donnant de grandes cellules (cytomégalie) évoluant lentement vers la lyse. Il existe des inclusions nucléaires (inclusion de type A de Cowdry).

- l'infection latente siège in « vivo » au niveau de plusieurs tissus : glandes salivaires, ganglions, reins, lymphocytes.

Les principales espèces de ce groupe sont indiquées dans le tableau II ci-dessous :

Tableau II : Classification des virus de la sous-famille des *Beta-Herpesvirinae*

Genre	Espèces	Noms courants	Abréviations
<i>Cytomegalovirus</i>	<i>Human Herpesvirus 5</i>	<i>Cytomegalovirus</i>	CMV ou HHV5
<i>Roseolovirus</i>	<i>Human Herpesvirus 6</i>	<i>Human Herpesvirus 6</i>	HHV6
	<i>Human Herpesvirus 7</i>	<i>Human Herpesvirus 7</i>	HHV7

2.1.3. Sous famille des Gamma-herpesvirinae

- le spectre d'hôte est réduit à l'espèce sensible à l'infection naturelle ou à des espèces qui en sont proches.
- le cycle de réplication des virus de ce groupe n'a lieu in « vitro » que dans les lymphocytes et dans certains cas, dans les cellules épithéliales et les fibroblastes.

L'ECP n'est pas toujours évident.

Tableau III : Classification des virus de la sous-famille des *Gamma-Herpesvirinae*

Genre	Espèces	Noms courants	Abréviations
<i>Lymphocryptovirus</i>	<i>Human Herpesvirus 4</i>	<i>Epstein Barr virus</i>	HHV4 ou EBV
<i>Rhadinovirus</i>	<i>*Herpes virus Saimiri</i>	<i>Herpes virus saimiri</i>	HVS

*exceptionnellement, nous avons cité un virus animal, en l'occurrence un virus simien qui induit un lymphome chez les singes d'Amérique et qui va intervenir dans l'identification du nouveau virus herpétique humain dont la découverte a motivé notre travail.

2.2. Classification selon la structure de leur génome

Tous les virus herpétiques possèdent au niveau de leur génome des séquences réitérées. Il s'agit de séquences réitérées inversées ou de réitérations de séquences de même orientation.

Le groupement de ces séquences a permis de classer les *Herpesviridae* en 5 classes de A à E. Ces séquences ont été mises en évidence grâce à des images de microscopie électronique, et confirmées par la suite par les analyses à l'aide d'enzymes de restriction. (Tableau IV)

Tableau IV : Classification des virus herpétiques humains selon leur groupe génomique

	Sous-famille	G+C%	Groupe génomique
HHV1	α	67	E
HHV2	α	69	E
HHV3	α	46	D
HHV4	γ	59	C
HHV5	β	58	E
HHV6	β	44	B
HHV7	β	62	E

3. CARACTERES MORPHOLOGIQUES GENERAUX DES HERPESVIRIDAE [17]

Différentes études, en particulier la microscopie électronique en coloration négative, ont permis de montrer qu'il s'agissait de virus enveloppé, d'un diamètre compris entre 120 à 200 nm. De l'intérieur vers l'extérieur, on trouve :

- le noyau ou core qui est constitué par l'ADN du virus enroulé autour d'une structure protéique fibrillaire. Les terminaisons des fibres sont ancrées à la face interne de la capsid.

- la nucléocapside qui est de symétrie icosaédrique avec 162 capsomères (150 hexamères et 12 pentamères). Elle a un diamètre d'environ 110 nm.

- le tégument qui est composé de matériel fibreux qui entoure la capsid et joue un rôle important de jonction entre l'enveloppe et la nucléocapside.

- l'enveloppe ou peplos donne enfin la taille définitive du virion. C'est un double feuillet dérivé des membranes cellulaires. Des glycoprotéines virales insérées dans l'enveloppe forment des projections (spicules); les anticorps neutralisants réagissent contre ces structures. L'enveloppe confère au virion sa grande fragilité, elle a une antigénicité spécifique pour chaque Herpesvirus et son intégrité conditionne l'infectivité de la particule virale.

4. COMPOSITION CHIMIQUE

Les protéines de la capsid et les glycoprotéines d'enveloppe constituent 70% du poids du virion. On compte au moins 20 polypeptides différents.

L'ADN constitue 7% du poids du virion et leur GC % est compris entre 32 et 75 % (voir tableau IV).

Les lipides représentent 22% de ce poids. Il s'agit de phospholipides dérivés de la membrane nucléaire de la cellule hôte.

Les hydrates de carbone constituent 2% du poids du virion.

Comme tous les virus enveloppés, les *Herpesviridae* sont instables à la température ambiante (20°C) et sont inactivés par les solvants des lipides (éther, chloroforme).

5. MULTIPLICATION VIRALE (CYCLE PRODUCTIF)

L'enveloppe du virus s'attache à des récepteurs de la membrane cytoplasmique de la cellule, puis après pinocytose ou fusion entre enveloppe virale et membrane cytoplasmique, la nucléocapside est libérée dans le cytoplasme.

La capside, en migrant à travers le cytoplasme, est dégradée par les enzymes lysosomiales et le nucléoïde pénètre dans le noyau cellulaire (peut être par les pores). C'est la phase d'adsorption, pénétration et de décapsidation qui est suivie par celle de synthèse des acides nucléiques et des protéines du virus et d'encapsidation ou réplication ; synthèse indépendante de celle de l'ADN cellulaire. Elle prend place dans le noyau de la cellule infectée mais exige des enzymes d'information virale, en particulier la Thymidine Kinase (à l'exception du *Cytomegalovirus*) et une ADN polymérase différente des enzymes homologues de la cellule normale. Par ces différences, les enzymes virales offrent une cible pour la chimiothérapie sélective, strictement antivirale, respectueuse de la synthèse de l'ADN cellulaire et est non cytotoxique.

La synthèse des protéines commence par celle des protéines très précoces (**Immédiate Early**). Les enzymes nécessaires à la synthèse de ces protéines sont probablement synthétisées par des enzymes cellulaires mais on ne peut exclure que quelques enzymes soient incorporées dans les particules virales et amenées avec elles.

Puis nous avons les protéines précoces (**Early**). Ces protéines sont des enzymes et notamment des enzymes d'information virales qui règlent la synthèse d'ADN virale (Thymidine Kinase, ADN polymérase).

Enfin, les protéines tardives (**Late**) sont les protéines de structure du virion.

Une fois l'ADN synthétisé, l'assemblage de l'ADN et des protéines virales (synthétisées dans le cytoplasme et transportées dans le noyau) donne naissance aux nucléocapsides. L'enveloppement se fait au travers du réticulum endoplasmique qui les transporte jusqu'à la surface de la cellule.

La margination de la chromatine et les inclusion intranucléaires sont caractéristiques des cellules infectées par les Herpesvirus.

6. PHYSIOLOGIE DE L'INFECTION A HERPESVIRUS [17]

Cette physiologie est dominée par les phénomènes de latence et de récurrence. En effet, *Herpes*, qui vient du mot grec *Herpein*, signifie ramper. Le caractère sournois de l'Herpes qui n'avait pas échappé aux anciens marque ainsi la plupart des infections herpétiques.

Après la primo-infection, symptomatique ou non selon les sujets et les virus, l'infection persiste à vie, latente en un gîte profond, dans les ganglions nerveux sensitifs pour les Herpesvirus dermoneurotropes (*Simplexvirus*, *Varicellovirus*) et dans les leucocytes pour les Herpesvirus leucotropes (*Cytomegalovirus*, *Virus Epstein Barr*).

Malgré la réponse immunitaire et en particulier les anticorps sériques résultant de la primo-infection, l'infection latente peut être réactivée.

La réinfection endogène qui en résulte peut avoir une expression clinique : on parle alors de récurrence. La symptomatologie en est généralement plus limitée que celle de la primo-infection.

On reconnaît à la réactivation certains facteurs déclenchants, pathologiques ou non, comme les états d'immuno-dépression ou la grossesse.

Dans tous les cas, symptomatiques ou non, les réinfections endogènes, par leur excrétion virale intermittente, constituent la principale source de dissémination des Herpesvirus.

Enfin l'infection latente échappe à la chimiothérapie antivirale comme à la réponse immunitaire une fois établie, rien ne peut l'éliminer.

7. EPIDEMIOLOGIE GENERALE DES INFECTIONS A HERPESVIRUS

L'épidémiologie des infections à Herpesvirus, notamment leur transmission, découle de la vitalité des virus, par conséquent de leur structure.

Mis à part l'infection au VZV susceptible d'une transmission aérienne, respiratoire, la transmission des Herpesvirus, très sensibles à la dessiccation (à cause de l'enveloppe), exige des contacts intimes, muqueux et sécrétoires, tel qu'en donnent l'accouchement, le maternage, les baisers, les rapports sexuels. Cependant, la transfusion sanguine n'est pas un mode de transmission des infections à HSV et VZV (virus dermoneurotropes) contrairement aux infections à CMV et à EBV, ces derniers étant des virus leucotropes.

La primo-infection à VZV, la varicelle est une maladie de l'enfance qui a une répartition mondiale. Nous rappelons ici que le zona, l'affection récurrente de la varicelle est généralement une maladie de l'adulte.

En revanche, les infections à HSV, CMV et EBV, universelles aussi ont en commun d'être plus fréquentes et précoces dans les pays tropicaux et les populations pauvres portées à de chaleureuses manifestations d'affectivité. Elles se trouvent limitées et retardées dans les pays tempérés et industriels, dans les populations riches et de mœurs austères, par la crainte de ce que les hygiénistes nomment promiscuité.

8. POUVOIR ONCOGENE DES HERPESVIRUS.

Plusieurs virus herpétiques induisent la transformation maligne de cellules cultivées in vitro et certains d'entre eux sont associés à des cancers chez l'Homme.

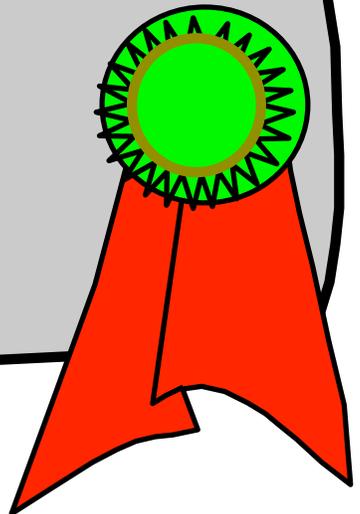
En effet le génome des Herpesvirus contient une information capable expérimentalement de donner à des cellules normales certains caractères de malignité ou de les immortaliser.

Ce pouvoir « transformant » in vitro est à rapprocher de l'association constatée entre certaines affections malignes et des infections à herpesvirus :

- cancer du col utérin et HHV2
- lymphome de Burkitt en Asie et cancer du nasopharynx en Afrique et HHV4 (EBV)
- sarcome de Kaposi et HHV5 (CMV), HHV6 [12].

Si pour ces maladies humaines, la relation de cause à effet n'est pas encore établie, chez les poulets, la neurolymphomatose aviaire maladie proliférative maligne d'importance économique majeure est due à un Herpesvirus, le virus de la maladie de Marek et est parfaitement contrôlée par le vaccin correspondant.

**Human Herpes
Virus type 8**



Chapitre II Human Herpes Virus Type 8

1. GENERALITES

Contrairement aux deux derniers types de virus herpétiques humains décrits, HHV6 et HHV7, la découverte du HHV8 ne repose pas sur l'isolement du virus par culture [4,65].

Depuis 1994, le virus herpétique humain de type 8 (HHV8) est régulièrement retrouvé, par amplification génique, dans toutes les formes de sarcome de Kaposi, dans certains cas de maladie de Castleman et de lymphome diffus des séreuses [12].

Son existence fût précisée pour la première fois par Chang et coll. lors d'une étude utilisant une approche moléculaire particulière, l'analyse de la différence de représentation (RDA) précédemment décrite par Lisitsyn et coll [10].

Pour mettre en évidence une séquence étrangère au niveau du génome cellulaire, séquence susceptible d'appartenir à un agent infectieux, Chang et coll. réalisèrent deux banques d'ADN obtenues respectivement à partir d'une lésion de maladie de Kaposi (sarcome de Kaposi-DNA) et de tissu sain du même sujet infecté par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) par amplification génique (PCR).

Les fragments d'ADN des deux banques ont d'abord été digérés par une enzyme de restriction, la Bam H1. Une autre amplification génique (PCR) fut réalisée à partir des fragments de restriction utilisant comme amorce les séquences Nbam 12 et Nbam 24 décrites par Lisitsyn et coll. [10]. Après la PCR, les amorces sont libérées par digestion enzymatique (Bam H1). Une autre PCR et une deuxième paire d'amorce (Jbam 12 et Jbam 24) sont utilisées uniquement avec les fragments issus de la banque sarcome de Kaposi-DNA. Cette étape sert à mettre en évidence une ou des éventuelles séquences étrangères : le produit d'amplification

est hybridé avec de l'ADN tissulaire normal. Après une nouvelle digestion enzymatique, il s'en suivit une dernière amplification / hybridation utilisant comme amorces Rbam 12 et 24.

Le résultat a été la mise en évidence de deux fragments KS330Bam et KS631Bam spécifiques de sarcome de Kaposi-DNA qui, rappelons le, est le fragment d'ADN issu de lésions de sarcome de Kaposi d'un sujet infecté par le VIH. Ces séquences n'hybrident pas avec des échantillons d'ADN de lymphocytes infectés par le virus Epstein Barr ni avec l'ADN de *Mycoplasma penetrans*, qui ont été tous les deux incriminés comme agents du sarcome de Kaposi.

Une homologie a néanmoins été retrouvée entre les deux fragments spécifiques des lésions de Kaposi et le génome des virus herpétiques appartenant à la sous-famille des *Gamma-Herpesvirinae*.

Cependant un lien entre la présence de ces fragments et le sarcome de Kaposi associé au Sida n'a pu être établi par les travaux de Chang et coll. qui ont quand même pensé qu'il s'agirait d'un virus herpétique humain latent qui coloniserait volontiers les lésions de sarcome de Kaposi. Car, à la différence de travaux précédents recherchant un agent associé au sarcome de Kaposi, cette étude a montré que ces fragments étaient présents dans tous les échantillons d'ADN de lésions de Kaposi chez un grand nombre de patients alors que chez ces mêmes patients, les tissus sains en contenaient très peu [12].

Comme le suspectaient Chang et coll., d'autres auteurs, Russo et coll. en 1996 [56] puis Neipel et coll. en 1998 [48], ont par la suite démontré l'homologie entre les séquences KS330Bam et KS631Bam et certaines séquences des génomes de virus de la sous-famille des *Gamma-Herpesvirinae* créant à côté des *Lymphocryptovirus*, un nouveau genre, le genre *Rhadinovirus* comprenant une seule espèce humaine : l'Herpesvirus associé au KS (*Kaposi's sarcoma-associated*

Herpes-like virus ou KSHV) maintenant dénommé *Human Herpes virus type 8* (HHV8). Le virus herpétique simien, Herpesvirus saimiri (HVS) appartient à ce nouveau genre.

2. CARACTERES DU VIRUS

2.1. Structure de HHV8

La structure de *Human Herpesvirus* de type 8 est identique à celle des autres Herpesvirus à savoir le noyau, la nucléocapside, le tégument et l'enveloppe.

Le fragment KS330Bam, par son cadre de lecture ouvert n°26 (ORF26) code pour une protéine ayant plus de 50 % d'homologie avec la protéine de capsid VP23 de HVS. Ce fragment a aussi une homologie d'environ 40 % avec la protéine de capsid de l'EBV (ORF BDLF1) [12,56].

De même, le fragment KS631Bam code pour un fragment de protéine homologue de la protéine de tégument du HVS (ORF 75) et de l'EBV (ORF BN RF1) [12,56].

A partir de banques d'ADN de sujets atteints de sarcome de Kaposi, d'autres fragments du génome de l'agent causal putatif ont été identifiés par hybridation avec les fragments initiaux. La caractérisation de ces fragments additionnels a confirmé la parenté avec le génome des *Gamma-Herpesvirinae* [35].

Un fragment adjacent au fragment KS330Bam code pour une protéine homologue à la protéine majeur de capsid de HVS (ORF 25) et de l'EBV (ORFBcLF1) [12].

Un fragment de 21Kb montre la succession de gènes viraux apparentés à ceux du HVS et de l'EBV, en particulier ceux de la Thymidine kinase, de la protéine majeur de capsid, de la glycoprotéine H avec une organisation colinéaire de celle des génomes du HVS et de l'EBV [12,54]. Un autre fragment de 12 Kb

qui code pour une protéine de membrane, une protéine homologue des récepteurs cellulaires couplés aux protéines G et une protéine analogue des cyclines présente les mêmes caractéristiques.

On a découvert par ailleurs des gènes viraux codant pour des analogues des protéines cellulaires interleukine 6 et Bcl-2 [56].

Le génome du HHV8 a une taille comprise entre 165.10^3 et 170.10^3 b ; GC% est de 85% et a une longueur de 803 bp [35].

L'analyse du génome de HHV8 contenu dans les lignées cellulaires dérivant des malades, a permis de noter l'existence de certaines régions caractéristiques du HHV8.

Les études de Kasolo et coll.[48], Lee et coll.[36], Nicholas et coll. [51] et Neipel et coll. [29] ont impliqué une région qu'ils ont dénommée K qui semble jouer un rôle important dans la physiopathologie du virus.

Pour mettre en évidence cette région, Michael Lagunoff et Don Ganem [35] ont préparé de l'ADN viral provenant de culture cellulaire et ont examiné la structure du génome viral.

Comme pour le HVS, la région centrale unique de l'ADN du HHV8 était composée d'unités de tandems répétitives et qui sont non codantes. Ces unités riches en guanine et cytosine, présentent 35 à 45 répétitions. La répartition n'était ni uniforme ni symétrique au niveau des extrémités du génome viral ; mais leur nombre était fixe ; la présence de ces unités à l'extrémité 5' du génome du HVS laisse présager leur rôle important dans l'oncogénèse de ce virus. L'une des extrémités était plus riche en unités répétitives mais leur nombre était fixe. Lagunoff et Ganem ont donc examiné la région codante correspondante dans le génome du HHV8 [35] et ils ne trouvent pas d'homologie avec celle du HVS. Pour

le HHV8, cette région porte un nouveau gène codant pour une protéine transmembranaire qui pourrait intervenir de façon régulée durant la phase précoce de la réplication lytique du virus. Cette région était nommée ORF K1.

Cette séquence fut l'objet de plusieurs recherches du fait de son implication dans la variabilité du virus. En effet c'est une région variable qui a même permis de décrire 3 puis 4 sous-types (A, B, C, D,) et 13 variants du HHV8 [51,73]. Une équipe française [34] a, de plus, identifié, au sein de cette région qui comporte 289 acides aminés (aa), deux domaines hypervariables V1 (aa 52-92) et V2 (aa 191-228). Cette étude n'a pas pu associer sous-types et pathologie mais l'existence de ces variants va être le support de l'épidémiologie moléculaire de ce nouveau virus. Un travail réalisé avec des prélèvements zambiens [29], par delà l'épidémiologie moléculaire, relie les variants à la virulence ou la transmission du virus.

Lee et coll. [36, 37], de leur côté, ont démontré les potentialités transformantes du gène K1 du HHV8 semblables à celles du gène STP (Saimiri transforming protein) du virus saimiri bien qu'il n'aie pas été relevé d'homologies structurales entre les deux gènes. Ils ont créé un virus recombinant en remplaçant l'oncogène STP de HVS par le gène K1 de HHV8 ; ce virus immortalisait les lymphocytes T primaires et induisait un lymphome chez les marmousets.

D'autres cadres de lecture ouverte (particulièrement ORF 65 et ORF 73) ont été étudiés pour leurs propriétés antigéniques qui font d'eux des candidats au réactif de diagnostic sérologique de l'infection au HHV8.

ORF 65 code pour une protéine semblable à celle de l'EBV dénommée EBV BFRF3. C'est une protéine de capsidie dont l'expression se fait pendant le cycle de réplication lytique du virus. Son poids moléculaire est de 18 KD, elle n'est donc pas tout à fait identique à une autre protéine du cycle lytique décrite antérieurement, antigénique et dont le poids moléculaire est de 40 KD [44,61].

ORF 73 code pour une protéine hautement immunoréactive et analogue de l'antigène nucléaire latent du virus Epstein-Barr (EBNA). Cette protéine est dénommée antigène nucléaire associé à la latence de HHV8 (*latency-associated nuclear antigen* ou LANA ou encore LNA) [23, 32, 61].

2.2. Multiplication

2.2.1. Multiplication « in vitro »

Nous avons relevé peu de données sur la biologie du virus et sa réplication du fait de la rareté de lignées cellulaires permissives. Les lymphocytes B ayant subi une transformation sont les cellules sensibles et la multiplication du HHV8 nécessite l'addition d'un stimulant.

Le système cellulaire utilisé par la plupart des auteurs est constitué par des cellules B de lymphome des cavités fréquemment associées au sarcome de Kaposi et contenant un très grand nombre de copies de génome du HHV8 : c'est la lignée BCBL-1 pour *Body cavity-based lymphomas*. Le traitement de BCBL-1 avec un phorbol ester : le 12 O-tétradécanoyl phorbol-13-acétate ou TPA a induit une croissance lytique du HHV8 avec une accumulation en grande quantité du génome viral dans le milieu [23, 35,54,55].

Une autre lignée similaire, mais infectée à la fois par KSHV et EBV, la BCBL-2 [54,56] permet l'étude précise du génome du HHV8 surtout en ce qui concerne sa taille.

Moore et coll. en 1996 [46] ont pu utiliser une lignée de cellules HBL-6 qui sont des lymphocytes B dérivées de BCBL, infectées par HHV8 mais aussi par EBV.

2.2.2. Multiplication « in vivo »

Comme le virus Epstein-Barr, l'Herpesvirus humain type 8 est un virus lymphotropique dont la réplication se fait dans les lymphocytes B et emprunte deux

voies : cycle lytique et cycle de latence. Le HHV8, virus très voisin du virus Epstein-Barr, se multiplie aussi au niveau de l'oropharynx, dans la salive [33].

3. PHYSIOPATHOLOGIE

Le Human Herpesvirus type 8 est spécifiquement associé à trois maladies humaines caractérisées par des proliférations tumorales : le sarcome de Kaposi, la maladie de Castleman, les lymphomes diffusés des séreuses.

Le HHV8 est non seulement présent dans les lésions, parfois en quantité très élevée, mais aussi dans les cellules sanguines de façon concomitante au développement de la tumeur ou même précédant la survenue de cette tumeur.

Par ailleurs, la distribution de l'infection à HHV8 dans la population générale paraît être limitée à certaines populations reconnues à risque pour le sarcome de Kaposi.

Cependant, la perte des séquences de HHV8 lors de la mise en culture de lésion de sarcome de Kaposi est troublante : elle pourrait traduire la perte ou la lyse viro-induite des cellules cibles du HHV8 aussi bien que la modification de la sécrétion de facteurs de croissance indispensable pour la multiplication virale.

On sait que le développement du sarcome de Kaposi est dépendant de la présence de cytokines sécrétées de façon autocrine ou paracrine parmi lesquelles l'interleukine 6, le facteur de croissance des fibroblastes (bFGF) et le facteur de croissance issu des plaquettes (PDGF) [12, 33, 59].

D'une manière générale, l'infection à HHV8 semble suivre le schéma générale des infections à Herpesvirus humains, c'est à dire une infection chronique avec une primo-infection suivie d'une latence probablement entrecoupée par des épisodes de réactivation.

La primo-infection est souvent asymptomatique et ensuite le virus infecterait de façon latente un petit nombre de lymphocytes B CD19 positifs.

Dans le sarcome de Kaposi, la sécrétion de facteurs de croissance augmenterait ou activerait la multiplication virale dans les cellules tumorales et les cellules sanguines, alors même que la maladie se trouverait encore à un stade infra-clinique. Plusieurs laboratoires ont d'ailleurs montré que le gène tat du HIV et les cytokines produites par l'infection rétrovirales faciliteraient la croissance du KSHV dans les cultures cellulaires [53,71], de même que immunodépression.

Dans le cas des néoplasies associées au HHV8 (lymphome diffuse des séreuses et la maladie de Castleman), le virus infecte les cellules tumorales elles-mêmes et participent ainsi directement au processus néoplasique en codant pour des analogues d'oncogènes humains, notamment : un analogue de BCL2 ayant une activité anti-apoptique, un analogue de la cycline D capable de phosphoryler la protéine du rétinoblastome et donc de dérégler le cycle cellulaire ; un récepteur couplé aux protéines G constitutivement activé, un analogue inhibiteur de la protéine IRF (interferon response factor), normalement responsable de la transmission du signal de l'interféron [57, 59, 62].

Cet IRF viral supprime l'induction par l'interféron B de la protéine p21 et favorise ainsi une prolifération cellulaire incontrôlée.

Au contraire, dans le cas du myélome multiple, le mécanisme de transformation proposée serait de nature paracrine.

Le HHV8, absent des cellules myélomateuses, infecterait, au contact des plasmocytes tumoraux, des cellules de l'environnement tumoral qui produiraient, entre autre, de l'IL-6v.

Les cellules infectées sont présentes en faible quantité dans les aspirations médullaires où elles sont indétectables mais s'amplifient fortement in vivo. Elles peuvent ensuite passer dans le sang [57, 66].

Dans tous les cas, le génome du HHV8 a, en son extrémité 5', le gène K1 qui est similaire à la région STP du HVS et qui serait la région « transformante » du virus. Ce gène K1 code pour un produit ayant des caractéristiques d'une glycoprotéine membranaire et pourrait avoir un rôle dans la traduction du signal viral de même que dans la transmission et le développement de l'infection à HHV8 [29, 59].

4. EPIDEMIOLOGIE

L'étude épidémiologique de l'infection au Herpesvirus humain type 8 a fait l'objet de plusieurs controverses quant aux modalités de transmissions et à la séroprévalence dans certaines régions.

4.1. Modes de transmission

Le mode de transmission du HHV8 a suscité de nombreuses polémiques dans le milieu de la recherche.

La première source de propagation de l'infection à HHV8 est la transmission sexuelle. Cette voie de transmission joue un rôle important chez les sujets à haut risque tels que les homosexuels, les sujets atteints d'infection sexuellement transmissible (IST) [4, 24,38,42].

Cette transmission sexuelle nécessite des contacts intimes tels que les contacts oro-anaux surtout décrits chez les américains et les méditerranéens homosexuels ou bisexuels [6, 24, 25, 59,62].

Le HHV8 peut être également transmis par le sperme [31, 59,69]. Mais cette voie de transmission du HHV8 est émise avec des réserves [33].

Une étude menée en Haïti, montre que le virus HHV8 peut être présent dans le sperme d'un sujet ayant eu un acte sexuel récent avec une partenaire infectée [69].

Monini et coll. ont détecté les séquences de l'ADN viral du HHV8 dans 91% des spermes de patients italiens HIV négatif. Mais Lin et coll. n'ont pas trouvé de HHV8 dans le sperme.

Lebbé et coll., ont conclu que le HHV8 n'était pas présent dans les glandes prostatiques des sujets HIV positifs alors que Monini et coll. ont détecté le HHV8 dans la prostate normale, hyperplasique et néoplasique des sujets HIV négatif et la charge virale du HHV8 permet d'affirmer la transmission sexuelle du virus par le sperme et les glandes prostatiques [8]. Cependant, il est possible que la détection de l'ADN du HHV8 dans le tractus génital soit sous estimé car les femmes qui avaient été testées lors de cette étude n'ont été prélevées qu'une seule fois et la charge virale trouvée peut être intermittente [31, 69].

D'après l'étude de Martin en 1998 [41], la transmission sexuelle du HHV8 a été prouvée chez les homosexuels développant des anticorps latents ou anti-LANA : ces anticorps sont associés à des infections sexuellement transmises multiples et non aux maladies qui ne nécessitent pas de contacts sexuels intimes telles que asthme, mononucléose, rhume des foies. Ils sont aussi associés aux infections intestinales spécifiques fréquentes dans les populations homosexuelles ou bisexuelles du fait de pratiques sexuelles particulières à ces groupes. Chez les hétérosexuels, la séoprévalence de l'infection à HHV8 augmente avec la durée de la pratique sexuelle et le nombre de partenaires sexuels.

Au total, on peut dire que la transmission sexuelle du HHV8 dépend du nombre de partenaires sexuels, du type de pratiques sexuels et de la précocité de ces actes sexuels [31, 41]. Mais cette voie de transmission sexuelle du HHV8 n'est

pas la seule méthode de dissémination du virus, il existe d'autres voies [7, 38, 39, 47, 63] :

- La transmission mère-enfant

La séroprévalence élevée chez les enfants et les adolescents africains, montre que l'infection à HHV8 pouvait avoir une voie de transmission autre que sexuelle : transmission mère-enfant [69].

En Ouganda, la transmission de HHV8 se fait largement avant l'âge de la puberté, et la séroprévalence est élevée (1 enfant sur 9 a des anticorps anti HHV8). Ce constat permit à Mayama et coll. de considérer une transmission mère-enfant [42].

Cette transmission mère-enfant prédomine également à Johannesburg où le tiers(1/3) des mères infectées transmettent le virus à leur enfant [1].

Une étude menée chez des nouveau-nés en Afrique de l'Est et en Afrique Centrale, montre une séroprévalence élevée chez les nouveau-nés (46 %) due sûrement à une transmission passive des IgG maternelles [24]. Le même constat a été fait en Amérique où on a observé une prévalence de 5 % chez les nourrissons et pas de séropositivité entre 1 et 2 ans. La transmission mère-enfant a été retrouvée également en Gambie et au Nigeria. Mais, il a été mentionné que la séroprévalence augmentait avec l'âge avant l'adolescence [1, 45] ce qui peut permettre de penser à une autre voie de contamination au cours de l'enfance. En suivant le modèle du virus Epstein-Barr, la transmission par la salive a été évoquée.

- Les conditions socio-économiques

Les conditions socio-économiques peuvent être la cause d'une dissémination du HHV8 en Afrique comme c'est le cas avec l'hépatite B [59]. Ces conditions de vie socio-économique, associées aux facteurs environnementaux, à la promiscuité

(contamination sous le toit), peut expliquer la haute séroprévalence de l'infection à HHV8 en Afrique [9, 16, 24, 73].

- La salive : Blackbourn et coll. [7] ont suggéré au cours d'une étude que les voies nasales et les glandes salivaires pouvaient être des sites de réplication et par conséquent, de transmission du HHV8. Cette source de transmission est surtout observée chez les enfants [6, 42]. Chez l'adulte, la transmission par la salive nécessite des contacts intimes tels que les relations oro-génitales. L'ADN du HHV8 résisterait au traitement par la DNase salivaire. La réplication du HHV8 dans les cellules normales de l'oropharynx est une source de dissémination du virus par la salive [33].

* La transmission iatrogène est surtout observée chez les transplantés d'organes, les multitransfusés (hémophiles), les drogués, mais les mécanismes de cette voie de transmission parentérale ne sont pas encore élucidés [38]. Et les séroprévalences qui ont été relevées dans des populations de donneurs de sang (20 %), de drogués (23 %), d'hémophiles (9 et 15 %) et de transplantés (11 %) ne sont pas élevées si l'on les compare avec celles retrouvées dans les populations d'homosexuels séropositifs au VIH et asymptomatiques (90 %) et d'homosexuels séropositifs au VIH et symptomatiques (100 %) [38].

4.2. Répartition géographique

D'une manière générale, l'infection à HHV8 est retrouvée dans diverses parties du monde avec une grande variabilité du taux d'anticorps d'une région à une autre. Les différences observées entre les auteurs résulteraient des particularités locales des populations, mais aussi de l'échantillonnage, des tests sérologiques et de l'interprétation des résultats.

Les études sérologiques sont encore parcellaires et ne nous permettent pas encore de parler de caractère ubiquiste du virus. Cependant, dans diverses parties du monde, la distribution du sarcome de Kaposi correspond à celle des anticorps anti-HHV8. Mais il est aussi à remarquer que la distribution du HHV8 ressemble à celle de l'*Herpesvirus simplex* type 2 [38].

Conformément à la répartition du sarcome de Kaposi, l'infection à HHV8 est fréquente dans le bassin méditerranéen, mais rare dans certaines localités telles que les USA, excepté chez les sidéens, les immunodéprimés et les transplantés d'organe [49, 73].

En Amérique du nord et en Europe, la fréquence est faible allant de 3 à 10 % selon les régions (pour les anticorps latents : Etats Unis 1,4 % et Royaume Unis 2,7 % [70] ; en effet si l'on considère la zone méditerranéenne, Italie et Grèce, les taux sont plus élevés, allant jusqu'à 35 % [59].

En Amérique, les donneurs de sang et les femmes adultes ne possédaient pas d'anticorps latents alors que l'on a trouvé des séroprévalences de 20 et 28 % pour les anticorps lytiques [38].

Nous avons aussi relevé des prévalences dans certains pays du pacifique sans que la population étudiée ne soit précisée : Haïti (29 %), République dominicaine (13 %) et Guatemala (10 %) pour les anticorps lytiques [38]. En Jamaïque, cette séroprévalence varie essentiellement avec le sexe et l'âge : les hommes sont deux fois plus atteints par le HHV8 que les femmes (sex ratio 2/1). L'âge moyen des sujets atteints est d'environ 40 ans dans les 2 sexes [40].

En Italie, la séroprévalence de HHV8 varie géographiquement avec des prévalences plus élevées au sud. Ces variations suivent les gradients de prévalence du sarcome de Kaposi qui est plus fréquent dans les régions sud de l'Italie [16, 70].

En Afrique, les données concernent plus les zones d'endémie de sarcome de Kaposi (Afrique Centrale et de l'Est) mais les chercheurs commencent à s'intéresser aux zones à faible prévalence de sarcome de Kaposi pour asseoir l'épidémiologie moléculaire du HHV8.

La séroprévalence de HHV8 est indépendante du statut HIV et cette séroprévalence est plus élevée chez les femmes nées en Afrique (24,7%) que chez les femmes des autres continents (11,5%)[69]. En Afrique et dans certaines régions d'Europe, l'infection à HHV8 existe aussi bien chez l'homme que chez la femme, à des taux similaires. De plus l'infection est largement distribuée dans la population générale [38].

L'une des différences de présentation des résultats africains et américains réside dans la présence des anticorps latents : en Amérique on note une absence de ces anticorps chez tous les groupes alors que la nature endémique de l'infection à HHV8 induit les deux types d'anticorps chez les africains du centre et de l'est [38] (tableau V).

Tableau V : Séroprévalence HHV8 en Afrique.

Pays	% Ac lytiques	% Ac latents	% négatifs
Zimbabwe	32	11	68
Nigeria	56	6	44
Congo démocratique	82	25	19
Ouganda	77	11	23
Gambie	84	29	16
Côte d'Ivoire	100	43	0

Ariyoshi et coll. ont travaillé en Gambie sur une population de femmes enceintes dont le statut sérologique VIH était connu. Les taux de séropositivité HHV8 (anticorps latents) ont été très élevés : 73 % pour les VIH 1 positives, 83 % pour les

VIH 2 positives et 79 % pour les séronégatives. De leur étude, ils ont pu aussi conclure que le sarcome de Kaposi survenait plus volontiers chez les sujets VIH 1 positifs que chez les VIH 2 positifs.

5. PATHOLOGIES ASSOCIEES A L'INFECTION AU VIRUS HERPETIQUE DE TYPE 8 (HHV8)

5.1. Le Sarcome de Kaposi

Il s'agit d'une tumeur vasculaire, décrite pour la première fois par le dermatologue Moritz Kaposi en 1872 [44]. C'est l'une des néoplasmes les plus fréquemment retrouvées chez les patients sidéens. A sa découverte, il fut considéré comme une maladie rare, indolore et affectant surtout les sujets méditerranéens [13].

Plus tard, le sarcome de Kaposi fut retrouvé chez les sujets africains ; dans certaines régions de l'Afrique en particulier en Afrique orientale, en 1960, le sarcome de Kaposi a été rapporté comme représentant environ 10% des néoplasmes [13]. Le sarcome de Kaposi est aussi connu en USA et en Europe avant l'ère du SIDA, notamment chez les immunodéprimés et les sujets transplantés [13, 53].

Sur le plan clinique, le sarcome de Kaposi peut se manifester sous forme d'atteinte cutanée souvent au premier plan constituée de plaques érythémato-angiomateuses et de tuméfactions papulo-nodulaires plus ou moins angiomateuses [62]. Cependant des manifestations extra cutanées liées aux différentes atteintes viscérales et/ou ganglionnaires peuvent être rencontrées [53, 74].

Sur le plan épidémiologique, le sarcome de Kaposi est classé en sarcome de Kaposi classique, sarcome de Kaposi africain, sarcome de Kaposi associé au SIDA, sarcome de Kaposi associé à l'immunodépression.

5.1.1. La forme classique ou « Européenne » :

C'est une forme sporadique et relativement rare. Elle représente moins de 1% des cancers et son incidence est de l'ordre de 300 000 par an en Europe occidentale et aux Etats-Unis [1]. Cette incidence est beaucoup plus élevée autour du bassin méditerranéen (Afrique du Nord, Turquie, Italie) et en Europe Centrale (Autriche, Pologne, Russie de l'Ouest). De même en Italie cette incidence est notée surtout dans le Sud : Sardaigne [70].

5.1.2. La forme endémique ou « africaine » :

Elle se rencontre surtout en zone équatoriale : Nord-Est et Est de l'ex Zaïre où elle représente jusqu'à 13% des tumeurs malignes de l'homme.

Sa fréquence relative varie entre 2 et 9 % avec au Rwanda et au Burundi 9,1%, 9% en Ouganda, 6,5% en République Centrafricaine, 4,5% en Tanzanie et 2,9% au Kenya[in 50]. Cette forme endémique est plutôt localisée au centre de l'Afrique. A l'est et au Sud, les taux sont plus bas, 1,8 % en Afrique du Sud. A l'Ouest, les données sont rares. Nous avons un chiffre très ancien, relevé en 1958 par Camain et coll. qui ne notèrent que 0,4 % de sarcome de Kaposi parmi les tumeurs malignes. Une étude effectuée en Afrique du sud sur 3293 cancéreux par sites et coll. a montré que par la prévalence de HHV8 n'a été mise en évidence de façon significative que chez ceux qui présentaient un sarcome de Kaposi, chez les malades présentant d'autres types de cancers, cancer de la prostate inclus, la séroprévalence de HHV8 était négligeable [62]. En Afrique du Nord, rappelons qu'il s'agit du sarcome de Kaposi européen et non de la forme africaine endémique.

5.1.3. La forme liée à l'immunodépression iatrogène.

En 1996, la maladie de Kaposi était le cinquième des cancers qui sont survenus chez les receveurs d'allogreffe d'organe [50]. En effet D'après les travaux

de Peterman et coll., chez ces malades, le cancer est développé en peu de temps au début de la thérapeutique dans 6 % des cas et dans 3,2 % des cas, il s'agissait de sarcome de Kaposi. De plus, nous notons que ce sarcome est observé plus chez les transplantés que dans la population générale [3, 53].

Lorsque l'agent immunosuppresseur est éliminé, les lésions de sarcome de Kaposi régressent et peuvent même disparaître complètement [3]. Les drogues immunosuppressives en générale associées au sarcome de Kaposi sont des corticostéroïdes utilisés chez les transplantés d'organes. Le sarcome de Kaposi peut aussi être observé chez les transplantés d'organe utilisant d'autres drogues et chez les populations qui reçoivent systématiquement des corticoïdes à d'autres fins, ces corticostéroïdes accélérant la progression du sarcome de Kaposi chez les sujets sidéens. D'autres agents immunosuppresseurs tels que l'azathioprine et le cyclosporine, peuvent être associés au sarcome de Kaposi, mais à un taux inconnu [3].

5.1.4. La forme liée à l'infection à VIH.

Le sarcome de Kaposi est plus fréquent chez les sujets sidéens que dans la population générale.

Des études ont montré que le sarcome de Kaposi est environ 200 fois plus retrouvé chez les sidéens que chez la population générale ; ce sarcome de Kaposi associé au SIDA, est 300 fois plus élevé que celui retrouvé chez les immunodéprimés lié à une étiologie autre que le SIDA (par exemple, immunodépression iatrogène) [1, 26].

En Afrique, l'incidence du sarcome de Kaposi au cours du SIDA est vraisemblablement sous-estimée du fait de la brève survie des patients après l'apparition des premières manifestations opportunistes. Ainsi, sa prévalence est

faible dans la plupart des pays africains, 4 à 6 % selon les séries hormis l'Afrique centrale où elle peut atteindre jusqu'à 41% des sidéens (Zambie) [50].

Il faut cependant souligner que bien que les formes de sarcome de Kaposi diffèrent sur le plan clinique et épidémiologique, toutes les lésions observées au cours du sarcome de Kaposi sont histologiquement similaires. La tumeur est composée de multiples types de cellules incluant les cellules appelées « cellules en fuseaux » qui paraissent avoir une origine mésenchymateuse ou endothéliale [53].

Le virus est détecté dans les cellules mononuclées sanguines des sujets atteints de sarcome de Kaposi et la présence du virus dans ces cellules avant la survenue du sarcome de Kaposi est prédictive de la survenue de cette maladie [13].

5.2. Le Myélome multiple

Le myélome multiple qui représente environ 1% des cancers en France est une néoplasie B maligne affectant une cellule plasmocytaire immature de la moelle osseuse, productrice d'une immunoglobuline monoclonale.

L'équipe de Santarelli en Italie a suspecté le HHV8 comme facteur étiologique du myélome multiple [57].

En effet elle a pu mettre en évidence la présence du HHV8 dans les cultures de plusieurs semaines de cellules dendritiques stromales médullaires

(CD68+, CD83+) chez tous les patients atteints de myélome multiple et chez une partie des patients atteints de gammopathies monoclonales de signification inconnue (MGUS) alors qu'il était indétectable dans les aspirations médullaires au moment de la mise en culture [2].

Devant l'impossibilité de détecter le virus KHSV directement dans les aspirations médullaires, ce qui faisait envisager un artefact dû à la culture des prélèvements, l'équipe américaine de Berenson a recherché le virus dans les

biopsies osseuses dans lesquelles l'ensemble des cellules stromales médullaires est présenté [in 66].

Le KSHV a été détecté par hybridation in situ dans 2 à 10% des cellules chez 17/20 patients myélomateux contre 0/21 patients souffrant de lymphome et leucémie et 0/4 sujets normaux.

En outre, le virus était absent chez 3 patients dont la réponse au traitement était complète. Chez l'un d'entre eux, KSHV n'était pas décelable après greffe alors qu'il l'était avant traitement.

Ce dernier résultat conduit à penser que le virus HHV8 pourrait jouer un rôle tout au long de l'évolution clinique du myélome multiple [2].

Une équipe française a confirmé en partie ces résultats en retrouvant le virus dans 18/20 biopsies osseuses de patients myélomateux contre 0/20 biopsies osseuses de sujet souffrant d'autres affections, malignes ou non, sans précision sur la nature et le pourcentage de cellules infectées ni sur le stade clinique des patients [59].

Cependant, plusieurs équipes [25, 66] ont contesté les résultats de l'équipe de Berenson et invitent à considérer l'hypothèse du HHV8 dans le myélome multiple avec prudence ; tant sur la base d'arguments séro-épidémiologiques que devant la difficulté de reproduire les résultats initiaux.

5.3. La maladie de Castleman.

La maladie de Castleman est une atteinte du tissu lymphoïde associant des lésions d'hyperplasie angiofolliculaire et un tableau clinique réunissant fièvre, adénopathie, splénomégalie. Elle est fréquemment observée chez les sujets atteints de sarcome de Kaposi [26].

L'Herpesvirus humain type 8 a été détecté dans les lésions de maladie de Castleman disséminées chez des sujets HIV positif et HIV négatif. (Soulier et al., 1995). Et une charge virale élevée a pu être précisée par hybridation de Southern.

Ces données ont été confirmées par une autre étude qui établissait une distinction entre le type plasmocytaire (caractérisé par une polyadénopathie et correspondant à la définition classique) et le type hyalino-vasculaire (caractérisé par une infiltration pseudotumorale du médiastin ou de l'espace rétropéritonéal) de la maladie de Castleman.

Le HHV8 serait associé uniquement au premier type. Il a été également retrouvé dans les cellules mononuclées sanguines au cours de la maladie de Castleman [25, 40, 57].

5.4. Les lymphomes diffus des séreuses

Le *Human Herpesvirus 8* a été récemment détecté dans des cas de lymphomes diffus des séreuses (ou BCBL pour *Body cavity-based lymphomas*) qui est un des rares lymphomes des cellules B fréquemment associés au SIDA.

Dans une étude menée par Gessain et coll. en France, sur une série de 250 cellules B et T provenant de patients ayant un cancer lymphoprolifératif, (232 non associées au SIDA, 18 associées au SIDA), les séquences d'ADN du HHV8 ont été décelées seulement chez 3 patients.

Les 2 premiers étaient des homosexuels HIV positifs depuis 1985 et souffraient également de BCBL. (l'un ayant une tumeur pleurale, l'autre une tumeur péritonéale), avaient un taux d'ADN élevé.

Contrairement aux autres, chez le troisième patient qui avait un lymphome immunoblastique non associé au SIDA, le niveau de séquence du HHV8 était assez bas.

Chez les 2 patients BCBL, les cellules clonales B infectées par le HHV8 étaient immatures et avec un phénotype non déterminé et ont été aussi infectées par l'EBV [25].

Cette étude a également démontré que les séquences d'ADN de HHV8 étaient beaucoup plus fréquentes dans les cellules tumorales et dans les biopsies cutanées de sarcome de Kaposi tandis qu'aucune séquence d'ADN de HHV8 n'a été détectée dans les lymphocytes du sang périphérique.

Les résultats de cette étude ont également rapporté que la BCBL associée au HHV8 était fréquemment rencontrée en Europe chez les patients sidéens et ont confirmé la charge virale élevée du HHV8 dans les cellules tumorales de ce cancer.

Cependant, le HHV8 semble ne pas jouer un rôle pathogénique dans aucune des néoplasies lymphoïdes malignes des cellules T ou B.

Ce qui est fortement contesté par d'autres chercheurs (Cesarman et coll.) qui soutiennent que le HHV8 participe fortement au développement de la BCBL et que le HHV8 est un virus transformant dans un groupe de virus exceptionnels associés aux lymphomes plus SIDA [11].

6. DIAGNOSTIC DE L'INFECTION AU VIRUS HERPETIQUE HUMAIN TYPE 8

Le diagnostic de l'infection à HHV8 n'est pas encore effectué en routine. Les techniques disponibles ne le sont que dans un but de recherche.

Au plan biologique, le diagnostic de l'infection à HHV8 comprend deux volets : un diagnostic direct qui mettra en évidence tout ou partie du virus et un diagnostic indirect où l'on mettra en évidence les anticorps spécifiques.

6.1. Diagnostic direct

6.1.1. Prélèvement

Le HHV8 est détecté dans les lésions tissulaires de malades atteints de sarcome de Kaposi, de lymphome diffus des séreuse et de maladie de Castleman. Ce virus est également retrouvé dans les tissus sains de ces malades.

Le virus a été retrouvé dans les lymphocytes CD19 positifs, c'est à dire les lymphocytes B et pas dans les lymphocytes T CD8 positifs [7]. Le virus est rarement retrouvé dans la salive. Pour le sperme, les résultats sont contradictoires : dans un cas, le virus est absent ; dans une autre publication, il est retrouvé dans 91% des échantillons venant de sujets homosexuels HIV positifs et 23% des échantillons venant des sujets témoins [8, 22].

6.1.2. La culture

Elle est possible [23, 34, 46, 54, 55, 56] mais n'est pas utilisée pour le diagnostic.

6.1.3. L'amplification génique ou Polymerase Chain Reaction

(PCR)

La PCR est pour le moment la seule méthode de détection directe du génome du virus ; c'est une méthode applicable aux biopsies tissulaires, aux liquides biologiques (salive, sperme, ...) et a été utilisée pour la première fois par Chang et coll. en 1994 [29, 58].

La région du génome qui sera amplifiée est la région K1 qui permettra aussi de réaliser le génotypage du virus, base de l'épidémiologie moléculaire.

Après l'amplification génique, le fragment K1 est cloné à l'aide d'un plasmide et d'une bactérie (*Escherichia coli*). Le produit de clonage est ensuite étudié par séquençage [34].

6.2. Diagnostic indirect

On recherchera les anticorps anti-antigènes lytiques ou anti-LANA.

Pour les premiers, un test immuno-enzymatique est volontiers utilisé et l'antigène réactif est une protéine recombinante p18 pour Simpson et coll. [61] et p40 pour Miller et coll. [44].

Pour les seconds, l'antigène est une protéine nucléaire associée à la latence virale et le test utilisé est le plus souvent une immunofluorescence indirecte [32, 61] ; l'immunoblot a été aussi utilisé [23] ainsi que le western-blot [32].

6.3. Interprétation des résultats

Les tests sérologiques sont plus sensibles que l'amplification génique effectuée sur les cellules sanguines mononuclées [23]. En comparant les 2 tests sérologiques, il ressort, d'après les résultats de Lennette et coll. [38] que l'immunofluorescence (recherche des anti-LANA) ne donnait pas de réponse positive chez les sujets à faible risque (population générale) alors que l'on avait une réponse anticorps lytiques. Calabro et coll., en revanche, trouvaient l'immunofluorescence très sensible et spécifique [16].

7. TRAITEMENT DE L'INFECTION AU HERPVIRUS HUMAIN TYPE 8 (HHV8)

Le sarcome de Kaposi étant une des principales causes de mortalité chez les sidéens, son association avec l'infection à HHV8 étant maintenant établie, un traitement antiviral s'avère être une nécessité, voire une urgence pour les chercheurs.

Certaines données témoignent d'une régression des lésions ou un ralentissement de la réplication du virus sous Phosphonoformate [27,70, 74].

L'équipe de Enrique A. a démontré que le Phosphonoformate est un inhibiteur spécifique de l'ADN polymérase des Herpesvirus et que son effet thérapeutique bénéfique dans les affections SIDA-sarcome de Kaposi peut être important. Il peut être un inhibiteur de la transmission de l'ADN de HHV8 dans les lymphomes diffusés des séreuses [43].

Une étude américaine prospective sur des sujets séropositifs au HIV fait état d'une diminution significative du risque de sarcome de Kaposi avec un traitement par le Phosphonoformate alors que l'acycloguanosine n'a aucun effet sur ce risque.

Cependant, une équipe française travaillant sur une population comparable n'a pas trouvé cet effet du Phosphonoformate.

L'utilisation des alcaloïdes de la vinca est également préconisée : la vinblastine et la vincristine [74].

L'acide rétinoïque a un effet inhibiteur sur l'IL₆ qui peut entraîner une prolifération des cellules infectées par le HHV8 par un phénomène d'utoregulation et ce même acide rétinoïque a un effet antiprolifératif sur les lignées cellulaires infectées par le virus.

Approches hormonales

Plusieurs études ont montré que l'infection à HHV8 était plus fréquente chez les hommes que chez les femmes. Ceci sera démontré par Lundardi-Iskandar en 1995 [68, 74] qui prouve l'existence d'un facteur dans les urines des femmes enceintes qui bloque la croissance des lignées cellulaires du virus HHV8. Ce facteur était le HCG (Human chorionic gonadotropin).

Le traitement de l'infection à HHV8 peut également utiliser les radiations ; mais ici, les résultats sont partiels et les effets secondaires non négligeables [27].

D'une manière générale, on peut utiliser le traitement local, le traitement avec les interférons alpha (TNF-alpha) ou avec les agents chimiques toxiques.

Les thérapies locales utilisent les radiations, la cryothérapie, les infections intralésionnelles et les applications de drogues variées.

Mais la thérapie de l'infection à HHV8 est fréquemment limitée par une neutropénie [74].

En ce qui concerne la prévention, connaissant les différentes modalités de transmission du virus, la prévention de l'infection au HHV8 passe obligatoirement par un dépistage des personnes à risque à savoir les prostituées, les homosexuels, les donneurs de sang.

Une prise en charge des personnes séropositives au HHV8 pourrait permettre de mieux surveiller l'évolution et la dissémination de la maladie.

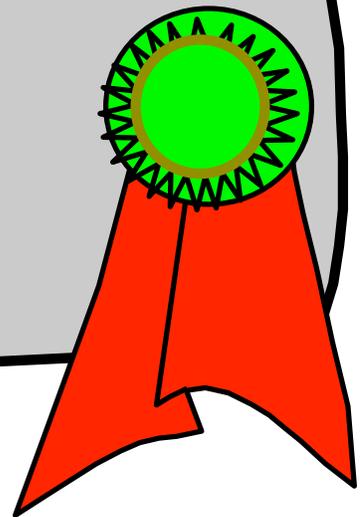
**Séroprévalence
HHV8
au Sénégal**



LES OBJECTIFS DE CETTE ETUDE CONCERNANT LE SENEGAL SONT
LES SUIVANTS :

- ◆ Prouver l'existence de l'infection à HHV8 au Sénégal
- ◆ Préciser la séroprévalence de l'infection à HHV8 en testant un groupe représentatif de la population générale.
- ◆ Déterminer les particularités de l'infection à HHV8 au Sénégal en faisant la corrélation séroprévalence / paramètres épidémiologiques
- ◆ Proposer des axes de recherche qui permettront de cerner le problème de l'infection à HHV8 et du sarcome de Kaposi au Sénégal.

Cadre de l'étude



CADRE D'ETUDE

Notre étude a été effectuée au laboratoire de Bactériologie-Virologie de l'hôpital Aristide Le Dantec (HALD) de Dakar.

L'hôpital Aristide Le Dantec est un centre hospitalier universitaire qui est un lieu de formation pour les étudiants en Médecine, Pharmacie et Odontostomatologie, mais également pour les élèves des écoles paramédicales (infirmiers, sages-femmes, techniciens).

C'est l'une des structures hospitalières les plus importantes de la sous-région de par sa capacité d'accueil et de par ses services.

Il comprend des services cliniques de Médecine et de spécialités médicales, des services chirurgicaux et de spécialités chirurgicales et des laboratoires d'analyses médicales dont le laboratoire de Bactériologie-Virologie.

Le laboratoire de Bactériologie-Virologie présente toutes les qualités d'un laboratoire d'analyse de par son équipement et son personnel qualifié.

En effet, il constitue :

- un laboratoire de référence de l'OMS pour VIH-2
- un laboratoire d'excellence pour le diagnostic des IST
- un centre collaborateur de L'ONUSIDA

De ce fait, il a pour rôle essentiel d'aider les laboratoires périphériques et intermédiaires du pays et même de la sous-région.

Il constitue entre autres, le centre d'expertise des nouveaux tests de diagnostic des IST.

Il abrite le groupe séro-épidémiologique du programme national de lutte contre les IST / SIDA du Sénégal (PNLS), organe qui s'occupe du volet biologique de l'infection au VIH et des affections opportunistes survenant au cours du SIDA.

Outre son rôle dans la formation permanente dans le cadre du centre hospitalier universitaire, il doit participer à la formation permanente du personnel impliqué au diagnostic des IST et du Sida en leur permettant de s'adapter à la nouvelle technologie.

Il est également chargé du contrôle de qualité basé sur l'évaluation permanente des tests et des méthodes afin de garantir la fiabilité des résultats.

Le laboratoire est subdivisé en trois unités :

- le laboratoire de Virologie
- le laboratoire de Biologie Moléculaire
- le laboratoire de Bactériologie.

Les manipulations ont été faites en collaboration avec l'Institut Pasteur de Paris (service d'Oncologie Virale, Docteur Antoine Gessain).

Population d'étude,

matériel

et méthodes



1. POPULATION D'ETUDE

Notre population d'étude est constituée de femmes enceintes qui se sont présentées à la maternité de l'hôpital Aristide le Dantec pour accouchement ou avortement.

Le recrutement des patientes s'est effectué durant la période allant de Janvier 1993 à Décembre 1993 dans le cadre des travaux de recherche sur la transmission mère-enfant du VIH/SIDA.

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Matériel

2.1.1. Pour le prélèvement

Nous avons utilisé une trousse de prélèvement de sang veineux chez l'adulte ; le sang a été prélevé sur tube sec.

2.1.2. Au laboratoire

- la séparation du sérum a été faite à l'aide d'une centrifugeuse pouvant tourner à 3000 tours par minutes
- le sérum est transféré en portion aliquote dans des cryotubes de 2 millilitres puis conservé au congélateur à -20°C
- nous avons utiliser le kit HHV8 IFA IgG des laboratoires « Avance Biotechnologies Incorporated » (ABI réf. : 15-330-000)

Le matériel et les réactifs spécifiques sont les suivants :

- lames imprégnées de cellules de HHV8
- sérum de contrôle négatif

- sérum de contrôle positif
- anticorps IgG conjugué avec le FITC
- solution de montage
- solution de lavage

Nous avons utilisé comme matériel accessoire :

- pipettes multicanaux réglables
- Micropipettes réglables (P10, P20, P100)
- Embouts jaunes
- Pipette distributrice + embouts (multipipette + combitips)
- Flacons stock de 500 et 1000 millilitres
- Pissettes de 250 et 125 millilitres
- Plateaux pour lames
- lamelles couvre objets (24x50mm)
- réservoir pour la distribution des réactifs
- pompe à vide
- bacs à déchets
- étuve à 37°C
- chambre humide
- bac de coloration
- agitateur pour bac de coloration (agitateur tri-dimensionnel)
- feuilles de travail
- boîtes de rangement et conservation des lames

- tube Eppendorf pour le liquide de montage
- microscope à fluorescence
- classeur de rangement des feuilles de travail
- crayons papier 2B
- marqueurs indélébiles
- papier aluminium
- papier buvard
- gants
- Sacs poubelles autoclavables.

En plus des réactifs spécifiques, il nous a fallu

- de l'eau distillée stérile
 - du Mowiol 4-88 comme liquide de montage composé de :
 - Mowiol 4-88 (Calbiochem Corporation ref. 475904)
 - 1,4-diazabicyclo [2.2.2] octane ou DABCO
(C₆H₁₂N₂ Mr 112,18) (Fluka Chemika ref. : 33480)

2.1.3. Matériel d'exploitation

Il est constitué des feuilles d'enquête épidémiologique et d'un ordinateur doté des logiciels File Maker Pro 3.0, SPSS version 7.5 et Epi Info version 6.0.

2.2. Méthodes

2.2.1. Prélèvement

Le prélèvement est effectué chez toute femme (sans critère d'exclusion) se présentant à la maternité de l'HALD pour accouchement ou avortement.

Il est recueilli dans un tube sec et le sérum est obtenu après centrifugation.

Ce sérum a été ensuite conservé à -20°C .

2.2.2. Sérologie HHV8

Pour cette recherche, nous avons utilisé le kit HHV8 IFA IgG de ABI qui est un procédé de mise en évidence des anticorps Immunoglobuline G anti-Human Herpesvirus type 8 par immunofluorescence indirecte (IFI).

2.2.2.1. Principe du test

Le procédé consiste à effectuer deux phases :

Dans la première phase, le sérum à tester est mis en contact avec des cellules infectées par HHV8. Il s'agit de cellules de la lignée KS-1 provenant d'un lymphome des cavités d'un sujet VIH séronégatif. Intentionnellement, 30 % de cellules non infectées sont ajoutées pour constituer un contrôle interne de réaction. Les anticorps mis en évidence sont ceux dirigés contre les antigènes latents.

Si le sérum contient des anticorps (Ac) spécifiques de HHV8, il y a formation de complexe antigène-anticorps (Ag-Ac).

Si le sérum ne contient pas d'anticorps spécifiques de HHV8, il n'y aura pas formation de complexe et tous les composants du sérum seront entraînés dans le liquide de lavage.

Dans la seconde phase, on ajoute un anticorps anti-immunoglobuline humaine conjugué à la fluoresceine. La présence d'anticorps anti-HHV8 (réaction positive) se traduira par une fluorescence vert-pomme au microscope à fluorescence.

Si l'anticorps recherché est présent (réaction positive), on obtient une fixation de cet anticorps fluorescent sur le complexe Ag-Ac déjà formé et on aura une fluorescence verte qui sera observée à l'aide de microscope à fluorescence.

2.2.2.2. Technique

Après avoir rassemblé tout le matériel nécessaire, on procède à :

La préparation des sérums

Les sérums sont d'abord dilués au 1/40 dans du solvant de lavage reconstitué.

20µl de sérum de contrôle positif sont placés dans le puits n° 1 de la lame qui en comporte 10.

20µl de sérum de contrôle négatif sont placés dans le puits n°2 et 20µl de la solution de lavage dans le puits 3.

Les sérums à tester sont distribués dans les puits restants, à raison d'un sérum par puits.

Les lames sont rangées dans une chambre humide qui est couverte avec délicatesse.

L'incubation se fait à 37°C pendant 30 minutes.

Au bout des 30 minutes d'incubation, on procède au lavage des lames, d'abord par un rinçage doux à l'aide d'une pissette ; puis les lames sont plongées dans un bac de coloration contenant du liquide lavage et déposé sur un agitateur tridimensionnel pendant 5 à 10 minutes.

Après cette phase de lavage, les lames sont retirées du bac de coloration et leur surface est séchée délicatement par aspiration du surplus de liquide à l'aide de la pompe à vide.

La deuxième phase de la réaction est la distribution de 20 µl de conjugué anti-IgG humaine par puits.

Les deux étapes suivantes (incubation et lavage) sont identiques à celles de la première phase.

Pour l'observation microscopique, 10 µl de liquide de montage sont ajoutés à chaque puits ; les lames sont alors couvertes d'une lamelle et le « screening » se fait avec l'objectif 160x

Si la lecture doit être différée, la lame montée est placée en chambre humide à +4°C.

2.2.2.3. Interprétation des résultats

Le témoin positif HHV8 devra montrer une fluorescence vert-pomme diffuse ou limitée des cellules infectées. Les cellules non infectées du même puits développeront une coloration rouge-orange. Il en sera de même pour le contrôle négatif et le blanc.

2.2.3. Sérologie HIV

Pour cette sérologie, nous avons utilisé deux tests :

- Le Dot-blot
- Le Western-Blot

2.2.3.1. Le Dot-Blot

C'est une méthode immunoenzymatique dont l'antigène est passivement absorbée par le support et prend généralement la forme d'un cercle.

L'antigène est constituée de protéines recombinantes d'enveloppe du HIV1 (566) ou du HIV2 (996).

Le support est une bande de nitrocellulose.

Les conjugués anti immunoglobuline humaine fixés aux enzymes sont employés communément pour la fixation de l'anticorps de l'échantillon.

L'addition de substrat produit une coloration sur le papier si l'anticorps est présent dans l'échantillon.

On utilise un témoin négatif et un témoin positif pour valider le test.

C'est une méthode rapide, d'exécution facile, fiable, mais de coût élevé.

2.2.3.2. Western-Blot

C'est sans doute la plus largement acceptée des épreuves de confirmation pour le VIH.

C'est une méthode qui doit sa spécificité à deux facteurs : la séparation des éléments et la concentration des éléments, comme le mélange des éléments viraux est séparé en « bandes » spécifique, chaque élément devient relativement pur.

En outre, la séparation des antigènes permet l'identification des anticorps spécifiques à chacun d'entre eux.

C'est une méthode simple et spécifique.

2.2.4. Exploitation des résultats

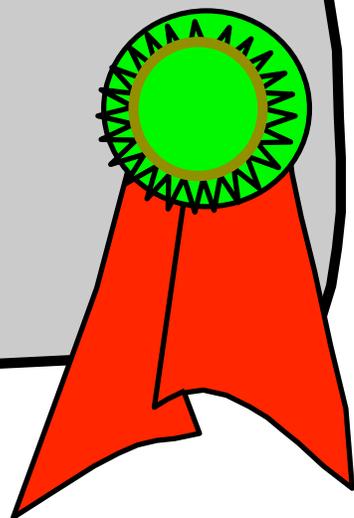
Le logiciel File Maker Pro 3.0® a permis la gestion des données nécessaires à l'exploitation des résultats.

Cette exploitation a été réalisée à l'aide des logiciels SPSS® version 7.5 (Statistical Package for the Social Sciences), Epi info version 6.0 et Epi table.

Pour la comparaison des proportions, le test du χ^2 a été utilisé et la différence était statistiquement significative si la valeur de p était inférieure à 0,05 (intervalle de confiance = 95 %).

Les corrélations sont faites par le calcul du Odds ratio à un intervalle de confiance de 95%, et selon la formule non corrigée ; facteur de risque et HHV8 étaient liés si $p < 0,05$.

Résultats



RESULTATS

1. POPULATION D'ETUDE

L'étude a porté sur 407 femmes enceintes dont l'âge moyen était de 29,24 ans (15 à 33 ans).

1.1. Répartition de la population d'étude selon la nationalité

Tableau VI : Répartition de la population d'étude selon la nationalité.

Nationalité	Nombre	Pourcentage
Sénégalaise	366	89.9
Guinéenne	30	7.4
Autres	11	2.7
Total	407	100

Les sénégalaises étaient les plus nombreuses (89,9 %) et la colonie de guinéennes était non négligeable, 30 femmes, soit 7,4 %. Dans la rubrique autres, nous avons regroupé 9 Maliennes, 1 Cap verdienne et 1 Burundaise.

1.2. Répartition de la population d'étude selon le statut marital.

Tableau VII : Répartition de la population d'étude selon le statut marital.

Statut matrimonial	Nombre	Pourcentage
Non mariées	60	14.7
Monogames	238	58.5
Polygames	109	26.8
Total	407	100

La majorité des femmes était mariée et monogame ; ces femmes monogames représentaient 58,5% du total. Une partie était non mariée, célibataire ou divorcée (14,7 %).

1.3. Répartition de la population d'étude selon la parité

Tableau VIII : Répartition de la population d'étude selon la parité

Parité	Nombre	Pourcentage
Nullipare	129	31.7
Primipare	66	16.2
Paucipare	81	19.9
Multipare	87	21.4
Grande multipare	44	10.8
Total	407	100

Les nullipares, c'est à dire les femmes qui auparavant n'avaient jamais eu d'enfant sont les plus nombreuses ; elles sont 129 (31.7 %) ; les primipares, celles qui ont fait un seul accouchement, les paucipares, les femmes qui ont eu au plus 3 accouchements, et les multipares, entre 3 et 5 accouchements, sont représentées dans, environ, les mêmes proportions avec respectivement 16.2, 19.9 et 21.4 %. Dans la population, on comptait aussi de grandes multipares, des femmes qui ont fait plus de 6 accouchements (10.8 %).

1.4. Répartition de la population selon l'âge gestationnel

Tableau IX : Répartition de la population d'étude selon l'âge gestationnel

Age gestationnel	Nombre	Pourcentage
1 ^{er} mois	1	0.2
2 ^e mois	6	1.5
3 ^e mois	10	2.5
4 ^e mois	6	1.5
5 ^e mois	2	0.5
6 ^e mois	2	0.5
7 ^e mois	12	2.9
8 ^e mois	14	3.4
9 ^e mois	354	87.0
Total	407	100

Nous avons eu une majorité de femmes qui se sont présentées à terme (9 mois de grossesse). Cependant, 27 ont fait un avortement, la grossesse avait au plus 6 mois d'âge et 26 ont fait un accouchement prématuré.

1.5. Répartition de la population d'étude selon la voie d'accouchement

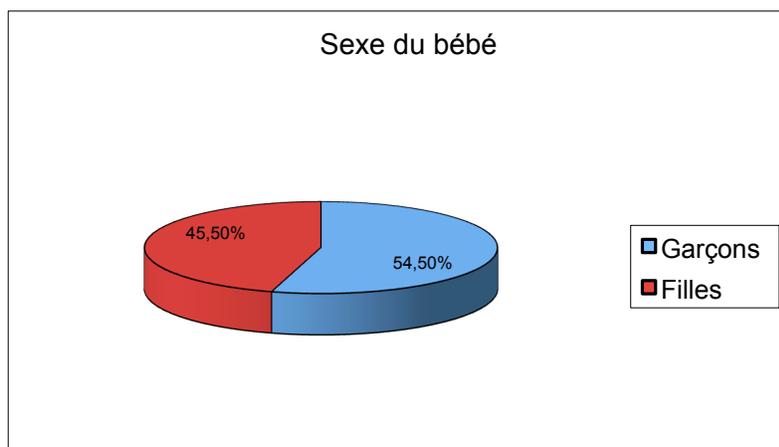
Tableau X : Répartition de la population d'étude selon la voie d'accouchement.

Voie d'accouchement	Nombre	Pourcentage
Voie normale (basse)	332	81.6
Césarienne	44	10.8
Forceps	4	1.0
Avortement	27	6.6
Total	407	100

L'accouchement a été normal pour 332 femmes soit 81.6 % et 44 ont subi une césarienne (10.8 %). Avec les 27 avortements, nous devons aussi considérer les 17 mort-nés ; ce qui nous fait un total de bébés vivants égal à 363.

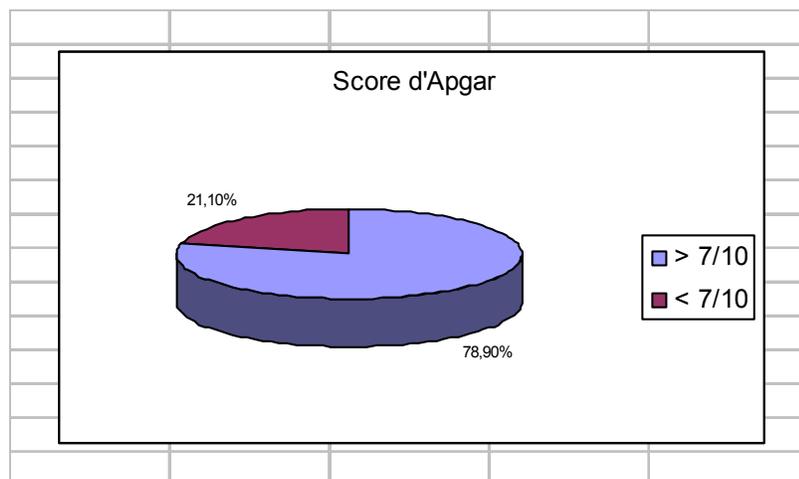
1.6. Répartition de la population d'étude selon le sexe du nouveau-né

En considérant les 380 accouchements, nous avons eu 54.5 % de garçons et 45.5 % de filles.



1.7. Répartition de la population d'étude selon le score d'Apgar 5mn du nouveau-né

78.9 % des bébés de la population d'étude (300/380) ont eu un score d'Apgar

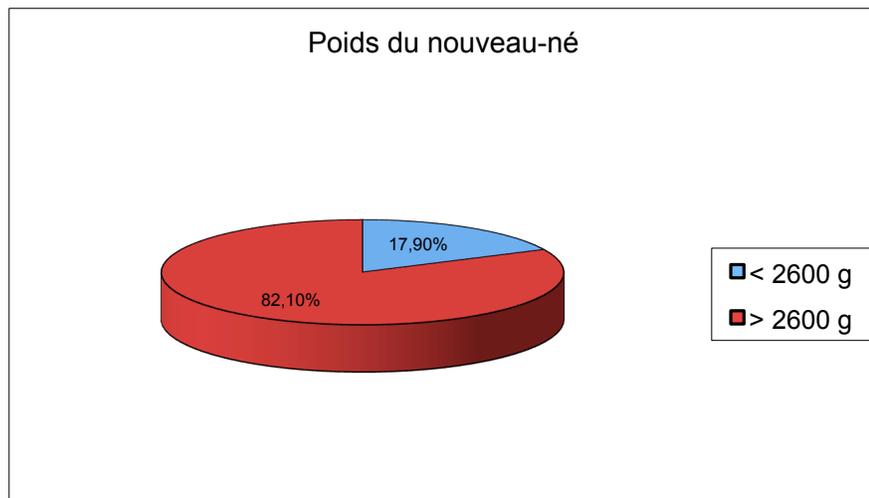


5 mn supérieur ou égal à 7/10.

1.8. Répartition de la population d'étude selon le poids à la naissance du nouveau-né

**Tableau XI : Répartition de la population d'étude
selon le poids à la naissance du nouveau-né.**

Poids à la Naissance	Fréquence	Pourcentage
≥ 2600 g	312	82.1
< 2600g	68	17.9
Total	380	100



Le poids de l'enfant était normal (≥ 2600 g) dans 82.1 % des cas.

2. RESULTATS DES SEROLOGIES

2.1. Sérologie HIV

La sérologie HIV n'a été positive que chez 2 patientes ce qui nous donne une prévalence de 0,5 %. Dans les 2 cas, il s'agit du virus de type 2.

≥ 2600 g

2.2. Sérologie HHV8

Sur 407 patientes testées pour une sérologie de *Human Herpesvirus* type 8, 58 ont été positives soit une prévalence de 14,3%. Cette séroprévalence va être analysée par rapport aux paramètres épidémiologiques.

Les deux patientes positives en HIV2 ne le sont pas en HHV8.

2.2.1. La nationalité

Tableau XII : Séroprévalence de HHV8 selon la nationalité.

Nationalité		HHV8		Total	p
		Positif	Négatif		
Sénégalaise	N	53	313	366	
	%	91.4	89.7	89.9	0.691339
Guinéenne	N	4	6	30	
	%	6.9	7.4	7.4	0.902899
Autres	N	1	10	11	
	%	1.7	2.9	2.7	0.952886
Total	N	58	349	407	
	%	100	100	100	

Le tableau montre les proportions de séropositives par nationalité par rapport à l'ensemble des séropositives. Nous voyons que les sénégalaises représentent 91,4 % des positives et 89,7 % des négatives. Ces proportions ne sont pas significativement différentes entre elles ($p = 0.691399$) et avec celle des sénégalaises dans la population d'étude (89,9 %). Il en est de même pour les guinéennes : $p = 0.902899$

2.2.2. Le statut marital

Tableau XIII : Séroprévalence de HHV8 selon le statut marital.

Statut marital	HHV8			Total	p
		Positif	Négatif		
Non mariée	N	6	54	60	
	%	10.3	15.5	14.7	0.307698
Monogame	N	34	204	238	
	%	58.6	58.5	58.5	0.980821
Polygame	N	18	91	109	
	%	31.0	26.1	26.8	0.429575
Total	N	58	349	407	
	%	100	100	100	

Aucune différence de proportion n'est significative, comme le montre le tableau XIII: le pourcentage de femmes non mariées positives (10,3 %) n'est pas statistiquement différent de celui des femmes non mariées séronégatives. Le même résultat est observé avec les femmes mariées, que l'on tienne compte ou pas du statut monogame ou polygame.

2.2.3. La Parité

Tableau XIV : Séroprévalence de HHV8 selon la parité

Parité		HHV8			p
		Positif	Négatif	Total	
Nullipare	N	13	116	129	
	%	22.4	33.2	31.7	0.138997
Primipare	N	6	60	66	
	%	10.3	17.2	16.2	0.190182
Paucipare	N	12	69	81	
	%	20.7	19.8	19.9	0.871066
Multipare	N	19	68	87	
	%	32.8	19.5	21.4	0.022400
Grande multipare	N	8	36	44	
	%	13.8	10.3	10.8	0.429595
Total	N	58	349	407	
	%	100	100	100	

Le nombre d'accouchements n'intervient sur la séropositivité HHV8 que s'il dépasse 4 ; la proportion de multipares séropositives (32.8 %) est plus grande que celle des multipares séronégatives (19.5 %) ($p = 0.022400$). Cependant, chez les grandes multipares, cette différence ne s'observe plus ($p = 0.429595$).

2.2.4. L'âge gestationnel

Tableau XV : Séroprévalence de HHV8 selon l'âge gestationnel.

Age gestationnel	HHV8		Total	p	
	Positif	Négatif			
1-6 mois	N	10	17	27	
	%	17.2	4.9	6.6	0.001280
7-8 mois	N	5	21	26	
	%	5.9	6.0	6.4	0.961663
9 mois	N	43	311	354	
	%	74.1	89.1	87.0	0.001703
Total	N	58	349	407	
	%	100	100	100	

La proportion de séropositives qui se sont présentées en salle d'accouchement avant le 6^{ème} mois de la grossesse est de 17,2 %, significativement différente de celle des séronégatives qui sont dans les mêmes conditions (tableau XII). Et la corrélation selon le test exact de Fisher est établie avec un Odds ratio de 4.07 ($1.62 < OR < 10.08$; $p = 0.0019405$).

Pour celles qui avaient entre 7 et 8 mois de grossesse, il n'y a pas de différence de séroprévalence. En revanche, pour celles qui se sont présentées à terme, le pourcentage de séronégatives est supérieur à celui des séropositives ($p = 0.001703$).

2.2.5. La voie d'accouchement

Tableau XVI : Séroprévalence de HHV8 selon la voie d'accouchement.

Voie d'accouchement	HHV8			p
	Positif	Négatif	Total	
Voie normale	N 41	291	332	
	% 70.7	83.4	81.6	0.020970
Césarienne	N 7	37	44	
	% 12.1	10.6	10.8	0.738959
Forceps	N 0	4	4	
	% 0	1.1	1.0	
Avortement	N 10	17	27	
	% 17.2	4.9	6.6	0.001280
Total	N 58	349	407	
	% 100	100	100	

Une différence significative n'est observée que chez les femmes qui ont accouché normalement et chez celles qui ont fait un avortement : pour les premières, le pourcentage de séronégatives est plus élevé ($p = 0.020970$) et pour les secondes, le résultat a déjà été présenté avec le tableau XV.

3. REPERCUSSION DE L'INFECTION A *HUMAN HERPESVIRUS* DE TYPE 8 SUR LE NOUVEAU-NE.

3.1. Répercussion sur l'état de naissance du nouveau-né (vivant ou décédé)

Tableau XVII : Répercussion sur l'état de naissance du nouveau-né.

		HHV8			p
		Positif	Négatif	Total	
NN vivant	N	43	320	363	
	%	89.6	96.4	95.5	0.078856
Mort-né	N	5	12	17	
	%	10.4	3.6	4.5	0.078856
Total	N	48	332	380	
	%	100	100	100	

Parmi les femmes séropositives au HHV8, 5 ont eu des mort-nés soit 10,4 % et chez les séronégatives, ce pourcentage est de 3,6 mais la différence n'est pas statistiquement significative ($p = 0.078856$).

3.2. Répercussion sur le score d'Apgar 5mn

Tableau XVIII : Répercussion sur le score d'Apgar 5mn du nouveau-né

Score d'Apgar	HHV8			p
	Positif	Négatif	Total	
Apgar < 7/10	N 14	66	80	
	% 29.2	19.9	21.1	0.140152
Apgar ≥ 7/10	N 34	266	300	
	% 70.8	80.1	78.9	0.140152
Total	N 48	332	380	
	% 100	100	100	

Là aussi, pour la séroprévalence HHV8, aucune différence statistiquement significative n'a été notée quelque soit le score d'Apgar.

3.3. Répercussion sur le poids de naissance du nouveau-né

Tableau XIX : Répercussion sur le poids de naissance du nouveau-né

Poids NN (g)	HHV8			p
	Positif	Négatif	Total	
Poids < 2600	N 14	54	68	
	% 29.2	16.3	17.9	0.029281
Poids ≥ 2600	N 34	278	312	
	% 70.8	83.7	82.1	0.029281
Total	N 48	332	380	
	% 100	100	100	

La séropositivité HHV8 a eu une influence sur le poids à la naissance du nouveau-né. En effet, 29,2 % des séropositives ont eu des nouveau-nés de poids inférieur à 2600 g contre 16,3 % des séronégatives ($p = 0.029281$). De plus la corrélation a été statistiquement établie avec le calcul de l'Odds ratio qui est de 2.12 ($1.01 < OR < 4.421$; $p = 0.0292809$).

Pour les femmes ayant eu des nouveau-nés de poids normal, les séronégatives sont plus nombreuses sans qu'une corrélation ne puisse être établie (Odds ratio < 1).



Discussion

DISCUSSION

Notre étude a porté sur des femmes enceintes tout venant, par conséquent, on peut considérer l'échantillon comme représentatif de la population générale. Cependant il est à noter que le recrutement a été effectué depuis 1993 et que nous avons utilisé une sérothèque. Il serait intéressant alors de tester des sérums plus récents afin de voir l'évolution de nos résultats. Cela, néanmoins, ne constitue pas un biais pour nos résultats, notre premier objectif étant de prouver tout simplement l'existence de l'infection à HHV8 au Sénégal.

La conservation des différentes portions aliquotes du sérum à -20°C a permis la réalisation de ce travail et de bien d'autres sur le même échantillonnage, ce qui met en exergue l'intérêt de la sérothèque, qui, bien que nécessitant un équipement lourd (chambre froide ou congélateurs) rend d'énormes services en matière de recherche épidémiologique.

Le kit des laboratoires ABI que nous avons utilisé coûte extrêmement cher, environ 500.000 FCFA les 100 tests. Nous ne pouvons que saluer le partenariat avec la World Laboratory sans qui, ce travail n'aurait pu être possible. Ce test est une réaction d'immunofluorescence indirecte rapide, sensible et d'une grande spécificité. Seulement, la lecture de la fluorescence nécessite un personnel qualifié et expérimenté.

Les anticorps recherchés sont des anticorps anti-antigènes latents. Nous nous posons la question à savoir lequel des antigènes lytiques ou latents devront-on prendre comme réactif si on s'en tient aux travaux de Lennette et coll. [38] qui trouvent une grosse différence entre les résultats vis à vis des antigènes lytiques et des antigènes latents. C'est le seul travail qui a présenté ces résultats en lytique et latent sans qu'on puisse donner une explication à cette différence.

Comme nous nous y attendons, notre échantillon est constitué d'une majorité de sénégalaises mais nous avons d'autres nationalités parmi lesquelles seules les guinéennes donnaient un chiffre statistiquement valable.

Les femmes non mariées étaient faiblement représentées. Ceci est en accord avec les habitudes socioculturelles de notre pays où, avec 90 % de musulmans, les rapports extra-conjugaux sont prohibés. A ce titre, nous trouvons le pourcentage de 14,7 élevé.

C'est intéressant aussi de scinder le groupe des mariées en deux en distinguant les monogames et les polygames. Cela nous permettra d'étudier leur impact sur l'infection à HHV8 qui est soupçonnée d'être une infection sexuellement transmissible.

Le pourcentage élevé de nullipare rejoint l'âge relativement jeune de notre échantillon (29,24 ans).

Les femmes prélevées l'ont été au moment d'un avortement ou d'un accouchement. Nous avons alors continué la prospection épidémiologique en nous enquêtant de l'état du nouveau-né, ce qui nous a donné les 4 paramètres relatifs au nouveau-né : s'agit-il d'un mort-né ? De quel sexe est-il ? Son poids ? Son score d'Apgar ?

Nous avons eu une séroprévalence HIV très faible (0,5%) chez les femmes enceintes comme il a été montré dans toutes les études séroépidémiologiques sénégalaises : au Sénégal, nous avons une épidémie SIDA concentrée, la prévalence dans les groupes à faible risque est inférieure à 5% [14, 15].

La séroprévalence de HHV8 est de 14,3% relativement faible par rapport aux résultats de pays africains tels que le Cameroun (51%), l'Ouganda (30 à 50%) et la Zambie (60%) qui ont en commun de se trouver en zone d'endémie du

sarcome de Kaposi. Mais ce résultat est aussi de loin inférieur à celui d'un travail gambien sur la même population.

Aryshi et coll. ont trouvé une prévalence de 79% chez les femmes enceintes gambiennes. Cette grande différence mérite d'être élucidée et nous avons prévu dans notre programme de tester les femmes enceintes de Ziguinchor et de Kaolack respectivement au sud et au nord de la Gambie.

La faible prévalence HHV8 au Sénégal rejoint les résultats selon lesquels la cartographie HHV8 est superposable à celle du sarcome de Kaposi. En effet, cette affection n'est pas très répandue au Sénégal même dans la population VIH positive [50].

Si nous regardons la répartition de la séropositivité selon la nationalité, elle ne montre pas une corrélation avec l'une d'entre elles. Mais nous rappelons que seules 2 nationalités de l'Afrique de l'Ouest étaient significativement représentées : les sénégalaises et les guinéennes. Cela est aussi un argument pour appuyer l'hypothèse selon laquelle l'Afrique de l'Ouest n'est pas une zone d'endémicité du sarcome de kaposi.

Le statut marital ne reflète pas de particularité quant à la positivité HHV8.

En revanche la répartition selon la parité montre une forte prévalence chez les multipares avec une corrélation établie. Mais nous ne retrouvons pas ces deux faits chez les grandes multipares ce qui pose un problème d'interprétation des résultats car il serait plus logique qu'on ait la corrélation aussi avec les grandes multipares.

L'âge gestationnel, l'accouchement et l'avortement donnant les mêmes résultats : la positivité HHV8 est fortement liée à l'avortement. Nous n'avons pas

retrouvé dans la littérature des travaux en ce sens et aussi bien au plan virologique et moléculaire qu'au plan clinique, ce résultat mérite d'être approfondi.

Les accouchements à terme et normaux, comme nous nous y attendions sont corrélés à une séronégativité HHV8.

Si nous regardons du côté de l'enfant, nous trouvons une corrélation avec le faible poids à la naissance, là aussi nous n'avons pas trouvé de répondant dans la littérature.

Au total, nous avons prouvé l'existence de l'infection à HHV8 au Sénégal. La séroprévalence est faible par rapport aux autres pays africains et pour cerner le problème de cette infection, des perspectives de recherche s'offrent à nous, à savoir :

- au plan épidémiologique : les modes de transmission du virus ne sont pas encore clairement déterminés. Nous pourrions apporter notre pierre à l'édifice :

* toujours en utilisant notre sérothèque (sérum de couples mère-enfant) prouver la transmission verticale du virus. Cette étude sera affinée en testant des prélèvements séquentiels des enfants de 0 à 5 ans.

* pour les autres modes de transmission, plusieurs groupes de la population seront ciblés :

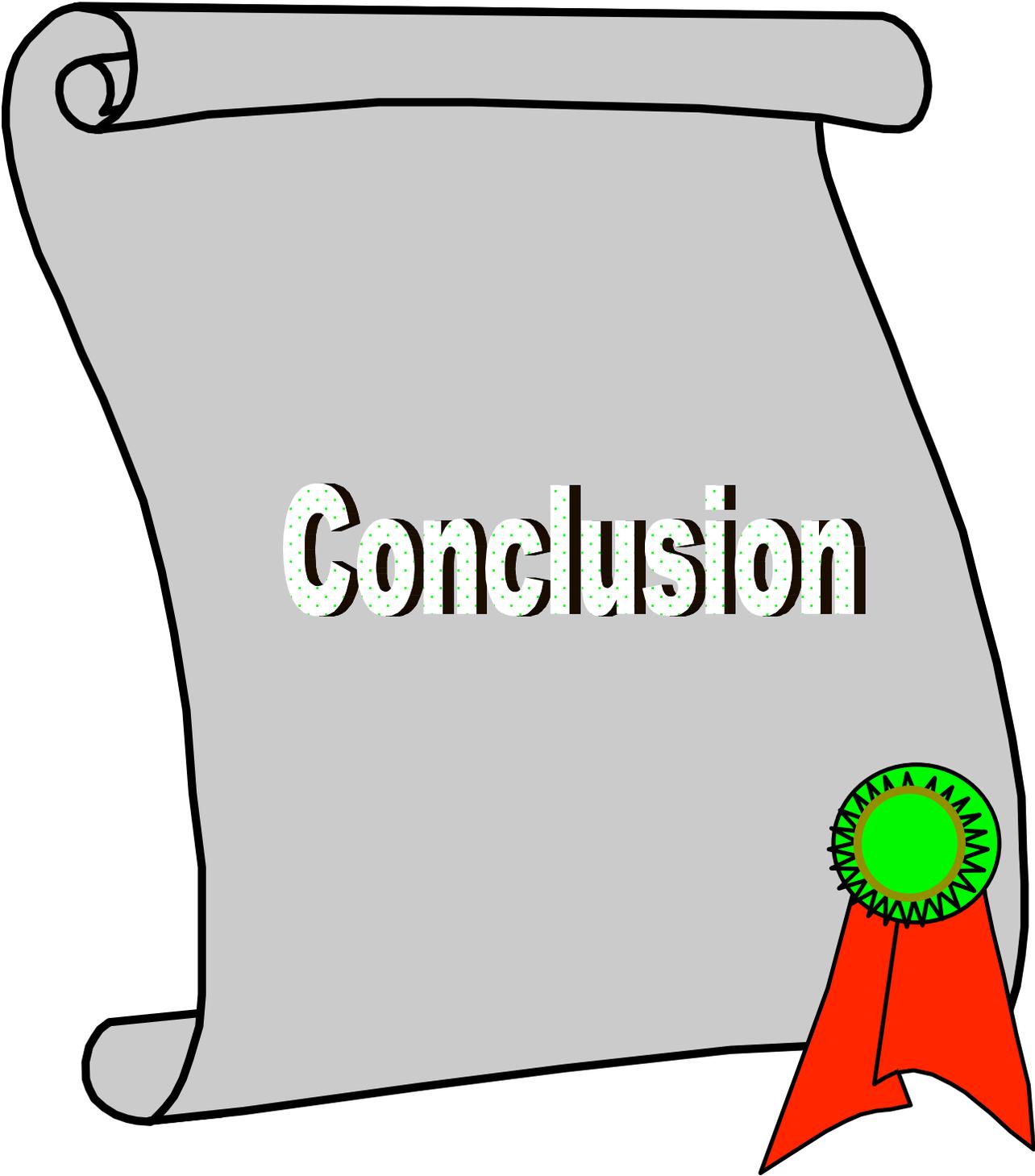
\$ les enfants : à la lumière des résultats de l'étude menée au Cameroun par A.Gessain [24] et celle faite en Italie par Calabro [16], nous pourrions tester des prélèvements d'enfants âgés de 0 à 15 ans pour pouvoir mettre en évidence la transmission sous le toit.

§ les femmes enceintes : un dépistage de femmes enceintes prélevées sur toute l'étendue du territoire permettra de déterminer la prévalence dans un groupe à faible risque et d'établir éventuellement une corrélation climat/infection à HHV8 et répartition géographique de l'infection HHV8 au Sénégal.

§ le dépistage des prostituées et d'hommes atteints d'infections sexuellement transmissibles (IST) nous permettra le cas échéant de prouver la transmission sexuelle du HHV8.

*Toujours au plan épidémiologique, nous pouvons contribuer à l'étude de l'épidémiologie moléculaire de l'infection à HHV8 par la détermination des géotypes du virus HHV8 circulant au Sénégal. Pour cela un prélèvement de lésions ou cellules susceptibles de contenir le virus sera nécessaire, il sera facilité par la collaboration avec les services cliniques du CHU.

- au plan virologique : la description du ou des géotypes [35, 51] serait intéressant pour nous de pouvoir associer un géotype avec la maladie de Kaposi au Sénégal.
- Au plan clinique : nous aurons à déterminer la ou les pathologies associées à l'infection à HHV8 à l'instar de l'étude sud-africaine [62]



Conclusion

CONCLUSION

Ce travail sur les infections à *Herpesvirus Humain* type 8 (HHV8) au Sénégal avait pour objectifs :

- de prouver l'existence de l'infection à HHV8 au Sénégal.
- de préciser la séroprévalence de l'infection à HHV8 en testant un groupe représentatif de la population générale.
- de déterminer les particularités de l'infection à HHV8 au Sénégal en faisant une corrélation séroprévalence paramètres épidémiologiques
- et de proposer des axes de recherche qui permettront de cerner le problème de l'infection à HHV8 et du sarcome de Kaposi au Sénégal.

C'est un travail réalisé au laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Aristide Le Dantec.

Pour la sérologie HIV ; nous avons utilisé le dot-blot et la confirmation a été faite par le western-blot.

Pour la sérologie HHV8, nous avons utilisé la méthode d'immuno-fluorescence indirecte des laboratoires « Avance Biotechnologies Incorporated » (ABI référence : 15-330-000)

La gestion des données et l'exploitation des résultats ont été effectuées grâce aux logiciels File Maker Pro 3.0, Epi info 6.0 et SPSS 7.0.

Toutes les données statistiques ont été calculées avec un intervalle de confiance de 95% (Chi², Odds ratio, p).

Notre population d'étude est constituée de 407 femmes enceintes dont l'âge moyen était de 29,24 ans et qui se sont présentées pour accouchement ou avortement.

Elle est composée en grande proportion de sénégalaises (89,9%), de guinéennes (7,4%), et d'autres nationalités faiblement représentées.

La répartition selon le statut marital a donné 14,7% de femmes non mariées (célibataires ou divorcées), 58,5% de mariées monogames et 26,8% de polygames, ce qui fait un total de 85,3% de mariées.

Selon la parité, les multipares, les primipares, et les paucipares étaient plus nombreux, mais nous avons eu 87 multipares représentant 21,4% de la population.

Le prélèvement a été effectué au moment de l'accouchement à terme pour 354 femmes (87,0%), au cours d'accouchement prématuré pour 26 femmes (6,3%) et au cours d'avortement pour 27 femmes (6,6%).

Les tests sérologiques ont donnés :

- pour le VIH : 2 séropositives (0,5%), toutes les deux ayant un profil VIH –2.
- pour le HHV8 : 58 séropositives (14,3%), et nous n'avons pas eu de co-infection HHV8/VIH.

L'étude de la corrélation avec les différents paramètres épidémiologiques n'a montré aucun lien entre l'infection à HHV8 et l'âge, la nationalité et le statut marital ($p > 0,05$).

Cependant, nous avons observé que la parité était corrélée à la séropositivité de HHV8 que chez les multipares ($p = 0,022400$) et pas chez les autres classes de femmes.

Selon la voie d'accouchement, nous avons eu chez les femmes ayant accouché par voie normale plus de séronégatives que de séropositives ($p = 0,020970$).

Quant à l'avortement, il est lié à la séropositivité du HHV8 avec un $p = 0,001280$.

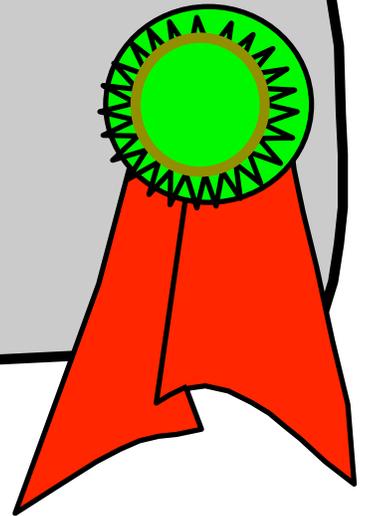
L'étude de l'impact de l'infection à HHV8 sur le nouveau-né a montré que le faible poids de naissance du nouveau-né ($p = 0,02921$). (Odds ratio > 1) est corrélé à la séropositivité au HHV8 alors que le score d'Apgar et l'état du nouveau-né (vivant ou mort-né) ne sont pas liés à l'infection HHV8 de la mère.

Eu égard à ces résultats, il nous semble intéressant de poursuivre l'étude de l'infection à HHV8 au Sénégal en empruntant 3 voies :

- épidémiologique : répartition géographique et épidémiologie moléculaire.
- virologie : détermination des génotypes sénégalais.
- clinique : étude des pathologies associées à cette infection au HHV8.

Ces différentes études ne pourront être menées que dans le cadre d'un travail pluridisciplinaire réunissant biologistes et cliniciens, notamment ceux de la Bactériologie-Virologie, de l'Anatomie Pathologique, de la Cancérologie, de la Dermatologie, de la Pédiatrie et des Maladies Infectieuses.

Bibliographie



BIBLIOGRAPHIE

1-ARIYOSHI K., SCHIM VANDER LOEFF M., COOK P., CORRAH T., JAFFAR S., CHAM F., SABALLY S., O'DONOVAN D., WEISS R.A., SCHULZ T.F., AND WITTLE H.

Kaposi's sarcoma in the Gambia, West Africa is less frequent in Human Immunodeficiency virus type 2 than in Human Immunodeficiency virus type 1 infection despite a high prevalence of Human Herpesvirus 8.

J. Human Virol. 1998;**1(3)**:193-9.

2- AZZI A., FANCI R., DE SANTIS R., CIAPPI S., PACI C., LONGO G., FERRINI P.R.
HHV8 and multiple myeloma: ORF 26 and ORF K1 sequences detection in bone marrow stromal cells.

XXIIIrd meeting of the European Tumor Virus Group, Inst. Pasteur, Paris, France 9-12 June, 1999; abstract 10/67.

3- BERAL V., PETERMAN T.A., BERKELMAN R.L., JAFFE H.W.

Kaposi's sarcoma among persons with AIDS: a sexually Transmitted infection? Lancet 1990;**335**:123-28.

4- BERNEMAN Z.N., ABLASHI D.V., LI G., EGER-FLETCHER M., REITZ M.S., HUNG C.L., BRUS I., KOMAROFF A.L., AND GALLO R.C.

Human Herpesvirus 7 is a T-lymphotropic virus and is related to, but significantly different from, human herpesvirus 6 and human cytomegalovirus.

Proc. Natl.Acad.Sci. 1992 ;**89**:10552-6.

5- BESTETTI G., RENON G., MAUCHERE P., RUFFIE A., KEOU F.X.M., PARRA VICINI C., EME D., CORBELLINO M., DE THE G., AND GESSAIN A.

High seroprevalence of Human Herpesvirus-8 in pregnant women and prostitutes from Cameroon.

J.AIDS 1998;**12 (5)** 19:541-3.

6- BLACKBOWN D.J., OSMONO D., LEVY J.A., AND LENNETTI E.T.,

Increased Human Herpesvirus 8 seroprevalence in young homosexual men who have multiple sex contacts with different partners.

J. infect. Dis. 1999;**179**:237-9.

7- BLACKBOWN D.J., LENNETTE E.T., AMBROZIAK J., MOURICH D.V., AND LEVY J.A.

Human Herpesvirus 8 detection in nasal secretions and saliva.

J. Infect. Dis. 1998 ;**177**:213-6.

8- BLACKBOWN D.J., AND LEVY A.J.

Herpesvirus 8 in semen and Prostate.

J. AIDS 1997;**11**:249-50.

9- BOULANGER E.

Human Herpesvirus 8 (HHV8) : caractérisation et épidémiologie.

Ann. Biol. Clin. 1998;**56 (6)**:643-50.

10- BOURBOULIA D., WHITBY D., BOSHOFF C., NEWTON R., BERAL V., CARRARA H., LANE A., SITAS F.

Serologic evidence for mother-to-children transmission of Kaposi sarcoma-associated Herpesvirus infections.

JAMA, 1998; **280** (1): 31-2.

11- CESARMAN E., CHANGY., MOORE P.S., SAID J.W., AND KNOWLES D.M.

Kaposi's sarcoma – associated Herpesvirus like DNA sequences in AIDS-related Body Cavity-Based Lymphomas

N. Engl. J. Med 1995;**332** (18):1186-90.

12 – CHANG Y., CESARMAN E., PESSIN M.S., LEE F., CULPEPPER J., KNOWLESS D.M., MOORE P.S.

Identification of Herpesvirus-like DNA sequences in AIDS-Associated kaposi's sarcoma.

Science. 1994;**266**:1865-9.

13 – CHUCK S., GRANT R.M., MBIBDE E.K., CONANT M., GANEM D.

Frequent presence of a novel Herpesvirus genome in lesions of Human immunodeficiency virus – Negative kaposi's sarcoma.

J. Infect. Dis. 1996;**173**:248-51.

14- Comité Scientifique groupe séroépidémiologique du Programme National de Lutte contre le SIDA au Sénégal.

Bulletin

Epidémiologique HIV (SIDA)

Juin 1999;**7**:36p.

15- Comité Scientifique groupe séroépidémiologique du Programme National de Lutte contre le SIDA au Sénégal.

Epidémiologique HIV

(SIDA)

Décembre 1997;**6**:35p.

16-COLABRO M.L., SHELDON J., FAVERO A., SIMPSON G.R., FIORE R., GOMES E., ANGARANO G., CHIECO-BIANCHI L., AND SCHULZ T.F.

Seroprevalence of kaposi's sarcoma associated Herpesvirus/Human Herpesvirus 8 in several regions of Italy.

J.Human. Virol. 1998;**1**(3):207-13.

17- COURS DE VIRIOLOGIE MEDICAL : 2eme édition 1989.

Les Herpesviridae : Généralités 109-12.

18- DESROSIERS R.C., SASSEVILLE V.G., CZAJAK S.C., ZHANG X., MANS FIELD K.G., KAUR A., JOHNSON R.P., LACKNER A.A., AND JUNG J.U.

A Herpesvirus of Rhesus Monkeys Related of the human kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus.

J. Virol. 1997;**71**(12):9764-9.

19- DUPON M., MASQUELIER B., CAZORLA C., CHENE G., DUMON B., RAGNAUD J.M. de FLEURY HJ.

Acquired immunodeficiency syndrome associated kaposi's sarcoma and human herpesvirus 8 DNA detection in serial peripheral blood mononuclear cell samples.

Res.Virol. 1997;**148** (6):417-25.

20- DUPIN N., GRANDADAM M., CALVEZ V., GORIN I., AUBIN J.T., HAWARD S., LAMY F., LIEBOWITCH M., HURAUX J.M., ESCAUDE J.P., AGUT H.

Herpesvirus-like DNA sequences in patients with Mediterranean kaposi's sarcoma. *Lancet* 1995; **345 (8952)**:761-2.

21- GALLO ROBERT C.

HIV-1, HHV8, and Kaposi's sarcoma.
J. Human. Virol. 1998 ;**1(3)**:185-186.

22 – GAO S.J., KINGSLEY L., LI M., ZHENG U., PARRAVICINI C., ZIEGLER J., NEWTON R., RINALDO C.R. SAAN A., PHARI J., DETELS R., CHANG Y. AND MOORE P.S.

KSHV antibodies among americans, Italians and Ugandans with and without kaposi's sarcoma. *Nature Med* 1996;**2 (8)**:925-8.

23- GAO S.J. , KINGSLEY L., HOOVER D.R., SPIRA T.J., RINALDO C.R., SAAM A., PHAIR J., DETELS R., PARRY P., CHANG Y., MOORE S.P.

Seroconversion to antibodies against Kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus-Related Latent Nuclear antigens before the Development of kaposi's sarcoma.
N. Engl. J. Med. 1996;**335 (4)**:233-41.

24-GESSAIN A., MAUCLERE P., BEVEREN M.V., PLEUCOULAIN S., AYOUBA A., ESSAME-OYONO J.L., MARTIN P.M.V., AND DE THE G.

Human Herpesvirus 8 primary infection occurs during childhood in Cameroon, central Africa.
J. Nat. Cancer 1999;**81**:189-192.

25-GESSAIN A., BRIERE J., ANGELIN-DUCLOS C., VALEUSI F., MERLE BERAL H., DAVI F., NICOLA M.A., SUDAKA A., FOUCHARD N., GABARRE J., TROUSSARD X., DULMET E., AUDOUIN J., DIEBOLD J., AND DE THE G.

Human Herpesvirus 8 (Kaposi's sarcoma Herpesvirus) and malignant lymphoproliferations in France : a molecular study of 250 cases including two AIDS – associated body cavity based lymphomas.
Leukemia 1997;**11**:266-72.

26- GRANDADAM M., DUPIN N., CALVEZ V., GORIN I., BLUM L., KERNBAUM S., SICARD D., BUISSON Y., AGUT H., ESCANDE JP., HURAUX JM.

Exacerbations of clinical symptoms in human immunodeficiency virus type-1 infected patients with multicentric Castleman's disease are associated with a high increase in Kaposi's sarcoma Herpesvirus DNA load in peripheral blood mononuclear cells.
J. Infect. Dis 1997;**175 (5)**:1198-01.

27- GREENBLATT RM.

Kaposi's sarcoma and human Herpesvirus 8.
Infect. Dis. Clin. North Am. 1998;**12 (1)**:63-82.

28- IH-JEU S., SHIAU S.Y., CHANG Y., WANG I.W.

Herpesvirus-like DNA sequence in Kaposi's sarcoma from AIDS and non-AIDS patients in Taiwan.
Lancet 1995;**345 (8951)**:722-3.

29- KASOLO F.C., MONZE M., OBEL N., ANDERSON R.A., FRENCH C., AND GOMPELS U.A.

Sequences analyses of Human Herpesvirus 8 strains from both African Human Immunodeficiency Virus negative and positive childhood endemic Kaposi's sarcoma show a close relationship with strains identified in febrile children and high variation in the K1 glycoprotein.

J. General. Virol 1998;**79**:3055-65.

30- KEDES, DEAU H., GANEM, AMELI, NILOUFAR, BACCHETTI, PETER, GREENBLATT, RUTH.

The prevalence of serum antibody to human Herpesvirus 8 (kaposi sarcoma associated Herpesvirus) among HIV seropositive and High Risk HIV seronegative women.

JAMA 1997;**277** (6):478-81.

31- KEDES D.M., OPERSKALSKI E., BUSCH M., KOHN R., FLOOD J., AND GANEM D.

The seroepidemiology of Human Herpesvirus 8 (kaposi's sarcoma associated Herpesvirus) : Distribution of infection in sarcome de Kaposi risk groups and evidence for sexual transmission. Nature Med. 1996;**2** (8):918-24.

32- KELLAM P., BOSHOF C., WHITBY D., MATTHEWS S., WEISS R.A., AND TALBOT S.J.

Identification of a Major Latent Nuclear Antigen, LNA-1, in the Human Herpesvirus 8 Genome. J. Human Virol. 1997;**1** (1):19-29.

33- KOELLE D.M., HUANG M.L., CHANDRAN B., VIEIRA J., PIEPKORN M., AND COREY L.

Frequent detection of Kaposi's sarcoma Associated Herpesvirus (Human Herpesvirus 8) DNA in saliva of Human Immunodeficiency Virus infected men : clinical and immunology correlates.

J. Infect. Dis. 1997;**176**:94-102.

34- LACOSTE V., JUDDE J.G., BRIERE J., TUILIEZ M., GARIN B., COUPIE P., CLYTI E., VILA J.F., DELMER A., MAUCHERE P. and GESSAIN A.

Genetic variability of KHSV K1 gene according to diseases and geographical origin: a study of 50 new strains.

XXIIIrd meeting of the European Tumor Virus Group, Inst. Pasteur, Paris, France 9-12 June, 1999; abstract 10/65.

35- LAGUNOFF M. AND GANEM D.

The structure and coding organization of the Genomic Termini of Kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus (Human Herpesvirus 8).

J. Virol 1997;**236**:147-54

36- LEE H., GUO J., LI M., CHOL J.K., DEMARIA M., ROSENZWEIG M., AND JUNG J.U.

Identification of an immunoreceptor tyrosine-based Activation Motif of K1 Transforming Protein of Kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus.

Md. Cell. Biol. **18** (9):5219-28.

37- LEE H., VEAZEY R., WILLIAMS K., GUO J., LI M., NEIPEL F., FLECKEINSTEIN B., LACKNER A., DESROSIERS R.C., AND JUNG J.U.

Deregulation of cell growth by the K1 gene of Kaposi's sarcoma associated Herpesvirus.
Nature Med. 1998;**4** (4):435-40.

38- LENNETTE E.T., BLACKBOWN D.J., LEVY J.A.

Antibodies to Human Herpesvirus type 8 in the general population and in the kaposi's sarcoma patients

Lancet 1996;**348**:858-61.

39- LISITSYN NIK., LISITSYN NAT., WLGLER M.

Cloning the difference between two complex genomes.

Science 1993;**259** (5097):946-51.

40- MANN A., STRICKLER H.D., HANCHARD B., MANASSARAM D.M., WATERS D., ABLASHI D.V.

Age – and – sex – specific seroprevalence of human Herpesvirus 8 in Jamaica.

J. Nat. Cancer Inst. 1998 ;**90** (14):1102-3.

41- MARTIN J.N., GANEM D.E., OSMOND D.H., PAGE-SHAFFER K.A., MACRAE D., KEDES D.H.

Sexual transmission and the natural history of Human Herpesvirus 8 infection N. Engl. J. Med. 1998;**338**:948-54.

42- MAYAMA S., CUEVAS L.E., SHELDON J., OMAR H.O., SMITH D.H., OKONG P., SILVEL B., HART C.A., AND SCHULZ T.F.

Prevalence and transmission of Kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus (Human Herpesvirus 8) in Ugandan children and adolescents.

J. Nat. Cancer Inst. 1998;**77**:817-20.

43- MESRI E.A., CESARMAN E., ARVANITAKIS C., RAFII S., MOORE M.A.S., POSNETT D.N., KNOWLES D.M., AND ASCH A.S.

Human Herpesvirus-8 / Kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus is a new transmissible virus that infects B cells.

J. Med. 1996 ;**183** :2385-90.

44- MILLER G., RIGSBY M.O., LEE H ., GROGAN E., REU S., CRAIG M., LEVY J.A., SHOU J.G., CHANG Y., MOORE P.

Antibodies to butyrate-inducible antigens of Kaposi's sarcoma-Associated Herpesvirus in Patients with HIV-1 infection.

N. Engl. J. Med. 1996; **334** (20):1292-7.

45-MILLER M.J.

Viral taxonomy

Clin. Infect. Dis. 1995;**21**:279-80.

46- MOORE P.S., GAO S.J., DOMINGUEZ G., CESARMAN E., LUNGU O., KNOWLES D.M., GARBER R., PELLETT P.E., MC GEOCH D.J., AND CHANG Y.

Primary characterization of a Herpesvirus agent associated with Kaposi's sarcoma. J. Virol. 1996;**70** (1):549-58.

47- MOORE P.S., CHANG Y.

Detection of Herpesvirus-like DNA sequences in Kaposi's sarcoma in patients with and those without HIV infection.

N. Engl. J. Med. 1995; **332**:1181-5.

48- NEIPEL F., ALBRECHT J-C., FLECKENSTEIN B.

Human Herpesvirus 8 the first Human Rhadinovirus.

J. Nat. Cancer Inst. 1998;**23**:73-7.

49- NEIPEL F., ALBRECHT J-C AND FLECKENSTEIN B.

Cell-homologous Genes in the kaposi's sarcoma- Associated Rhadinovirus Human Herpesvirus 8 Determinants of its pathogenicity.

J. Virol 1997;**71**:4187-92.

50- NIANG A.

La maladie de Kaposi à Dakar.

Thèse Med. Dakar 1997;**42**.

51- NICHOLAS I., ZONG J.C., ALCENDOR D.J., CINGO D.M., POOLE L.J., SARISKY R.T., CHIOU C.J., ZHANG X., WAN X., GUO H.G., REITZ M.S., HAYWARD G.S.

Novel organizational features, captured cellular genes, and strain variability within the genome ofKSHV/HHV8.

J. Nat. Cancer Inst. 1998;**23**:79-88.

52- PARRAVICINI C., POLI F., BESTETTI G., LAURI E., SIRCHIA C., BERTI E., PIAZZA M., SCALAMOGNA C., MORONI M., GALLI M. and CORBELLINO M.

Risk of Kaposi's Sarcoma development in renal transplant patients from Northern Italy.

XXIIIrd meeting of the European Tumor Virus Group, Inst. Pasteur, Paris, France 9-12 June, 1999; abstract 10/64.

53 – PETERMAN T.A., JAFFE H.W. AND BERAL V.

Epidemiologic clues to the etiology of Kaposi's sarcoma.

AIDS 1993; 7: 605-11.

54- REANE R., LAGUNOFF M., ZHONG W., AND GANEM D.

The size and conformation of kaposi's sarcoma associated Herpesvirus (Human Herpesvirus 8) DNA in infected cells and virions.

J. Virol. 1996;**70 (11)**:8151-4.

55- RENNE R., ZHONG W., HERNDIER B., MCGRATH M., ABBEY N., KEDES D., AND DON GANEM.

Lytic Growth of kaposi's sarcoma associated Herpesvirus (Human Herpesvirus 8) in culture.

Nature Med. 1996;**2 (3)**:342-6.

56- RUSSO J.R., BOHENZKY R.A., CHIEN M.C., CHEN J., YAN M., MADDALLNA D., PANY J.P., PERUZZI D., EDELMAN I., CHANG Y., AND MOORE P.

Nucleotide sequence of the kaposi sarcoma associated Herpesvirus (HHV8)

Proc. Nath. Acad. Sci. 1996;**93**:14862 – 7.

57-SANTARELLI R., ANGELONI A., FARINA A., GONNELA R., GENTILE G., MARTINO P., PETRUCCI M.T., MANDELLI F., FRATI L., FAGGIONI A.

Lack of serologic association between Human Herpesvirus-8 infection and Multiple Myeloma and Monoclonal Gammopathies of undetermined significance.

J. Nat. Cancer Inst. 1998;**90 (10.)**:781-2.

58- SCHALLING M., EKMAU M., KAAYA E.E., LINDE A., AND BIBERFELD P.

A role for a new Herpesvirus (KSHV) in different forms of Kaposi's sarcoma.

Nature Med. 1995;1 (7):707-8.

59- SCHULZ T.F., AND MOORE P.S.

Kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus a new human tumor virus, but now ?

Microbiol. 1999;7 (5):196-200.

60- SCHULZ T.F., COOK P.M., GLEEN M., RAINBOW L., WHITBY D., CALABO M.L., LUPPI M., KAKOALA D. and DAVIDSON A.

Variability of KHSV /HHV8 in different genomic regions in Europe and Africa.

XXIIIrd meeting of the European Tumor Virus Group, Inst. Pasteur, Paris, France 9-12 June, 1999; abstract 9/61.

61- SIMPSON G.R., SCHULZ T.F., WHITBY D., COOK P.M., BOSHOF C., RAINBOW L., HOWARD M.R., GAO S-J., BOHEUZKY R.A., SIMMONDO P., WELLER I.V.D., WEISS R.A., MOORE P.S.

Prevalence of kaposi's sarcoma associated Herpesvirus infection measured by antibodies to recombinant capsid protein and latent immunofluorescence antigen.

Lancet 1996;349:1133-38.

62- SITAS F., CARRARA H., BERAL V., NEROTON R., REEVES G., BULL D., NORMAN R.P., BOURBOULIA D., WHITBY D., BOSHOF C., AND WEISS R.

Antibodies against Human Herpesvirus 8 in Black South Africa patients with cancer.

N. Engl. J. Med. 1999;340 (24):1863-71.

63- SITAS F., NEWTON R., BOSHOF C.

Increasing probability of mother-to-child transmission of HHV8 with increasing maternal antibody titer for HHV8.

N. Engl. J. Med. 1999;340 (24):1923-4.

64- SMITH M.S., BLOOMER C., HORVAT R., GOLDSTEIN E., CASPARIU JM., CHANDRAN B.

Detection of Human Herpesvirus 8 DNA in Kaposi's sarcoma lesions and peripheral blood of human immunodeficiency virus-positive patients and correlation with serologic

J. Infect. Dis. 1997 Jul.;176 (1):84-93.

65- SUNWEN CH.

Human Herpesvirus 6 infection and associated disease.

J. Lab. Clin. Med. March 1993 ;121 (3):388-93.

66- TARTE KARIN ANT KLEIN BERNARD.

Le Myelome Multiple: un nouveau cancer induit par un virus ?

Med /Science 1998;14:736-41.

67-TROVATO R., LUPPI M., BAROZZI P., DA PRATO L., MAIORANA A., LICO S., MARASCA R., TORRICELLI P., TONELLI G., AND CECCHERINI-NELLI L.

Cellular localization of Human Herpesvirus 8 in Non neoplastic lymphadenopathies and chronic interstitial Pneumonitis by in situ polymerase chain reaction studies.

J. Human. Virol. 1999;2 (1):38-44.

68- WERNIG F., LANG M.E., ROTH B., FIORELLI V., SEPP N., ENSOLI B. AND SCHWARZ S.

Pregnancy urine-hCG preparations for treatment of AIDS – Kaposi's sarcoma XXIIIrd meeting of the European Tumor Virus Group, Inst. Pasteur, Paris, France 9-12 June, 1999; abstract 10/66.

69- WHITBY D., SMITH N.A., MATTHEWS S., O'SHEA S., SABIN C.A., KULASEGARAM R., BOSHOF C., WEISS R.A., RUITER A. DE, AND BEST J.M.

Human Herpesvirus 8 : seroepidemiology among women and detection in the Genital Tract of seropositive women.

J. Infect. Dis. 1999;179:234-6.

70- WHITBY D., LYPPI M., BAROZZI P., BROSHOFF C., WEISS R.A., TORELLI G.

Human Herpesvirus 8 : seroprevalence in Blood Donors and lymphoma Patients from different regions of Italy.

J.Nat. Cancer Inst. 1998; 90 (5):396-7.

71-WHITBY D., HOWARD M.R., TENANT-FLOWERS M., BRINK N.S., COPAS A., BOSHOF C., HATZIOANNOUNT T., SUGGETT F.E.A., ALDAM D.M., DENTON A.S., MILLER R.F., WELLER I.V.D., WEISS R.A., TEDDER R.S., SCHULZ T.F.

Detection of kaposi sarcoma associated Herpesvirus in peripheral blood of HIV infected individuals and progression to kaposi's sarcoma.

Lancet 1995; 346:799-02.

72- ZHONG W., WANG H., HERNDIER B., AND GANEM D.

Restricted expression of kaposi sarcoma associated Herpesvirus (human Herpesviru 8) genes in kaposi sarcoma.

Proc. Nath. Acad. Sci. 1996;93:6641-6.

73- ZONG J.C., CINGO D.M., ALCENDOR D.J., WAN X., NICOLAS J., BROWING P.J., RADY P.L., TYRING S.K., ORENSTEIN J.M., RABKIN C.S., SUI-J., POWELL K.F., CROXSON M., FOREMAN K.E., NICKOLOFF B.J., ALKAN S., AND HAYWARD G.S.

High-level variability in the ORF-K1 Membrane Protein Gene at the left end of the kaposi's sarcoma-associated Herpesvirus Genome Defines four Major virus subtypes and Multiple variants or Clades in different Human population.

J. Virol.1999;73 (5):4156-70.

74- YARCHOAM R.

Therapy for Kaposi's sarcoma: recent advances and experimental approaches.

J. AIDS 1999;21:66-73.