



HAL
open science

**Développement d'un logiciel de gestion du génotypage
VIH-1 au laboratoire de biologie médicale :
interprétation, épidémiologie et aide au management de
la qualité**

Clément Kebbabi

► **To cite this version:**

Clément Kebbabi. Développement d'un logiciel de gestion du génotypage VIH-1 au laboratoire de biologie médicale : interprétation, épidémiologie et aide au management de la qualité. Sciences pharmaceutiques. 2018. hal-03297597

HAL Id: hal-03297597

<https://hal.univ-lorraine.fr/hal-03297597v1>

Submitted on 23 Jul 2021

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-thesesexercice-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

FACULTE DE PHARMACIE

**MEMOIRE
du DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
de BIOLOGIE MEDICALE**

Soutenu devant le Jury Interrégional

Le 22 Octobre 2018

par **KEBBABI Clément**
né le 03 Mai 1990 à EPINAL (88)

Conformément aux dispositions de l'arrêté du 4 octobre 1988 tient lieu de

**THESE
pour le DIPLOME D'ETAT
de DOCTEUR en PHARMACIE**

DEVELOPPEMENT D'UN LOGICIEL DE GESTION
DU GENOTYPAGE VIH-1 AU LABORATOIRE DE BIOLOGIE MEDICALE :
INTERPRETATION, EPIDEMIOLOGIE
ET AIDE AU MANAGEMENT DE LA QUALITE

Membres du Jury

| | | |
|--------------|-------------------------------------|---|
| Président : | M. Raphaël DUVAL | Professeur des Universités, Université de LORRAINE |
| Directeurs : | M. Raphaël DUVAL | Professeur des Universités, Université de LORRAINE |
| | M ^{me} Christelle JOST | Praticien Hospitalier, CHR METZ-THIONVILLE |
| Juges : | M ^{me} Catherine DELAMARE | Praticien Hospitalier, CHR METZ-THIONVILLE |
| | M ^{me} Bénédicte ROQUEBERT | Maître de Conférences des Universités - Praticien hospitalier, Université de LA REUNION - CHRU LA REUNION |
| | M ^{me} Evelyne SCHVOERER | Professeur des Universités - Praticien hospitalier, Université de LORRAINE - CHRU NANCY |

**UNIVERSITÉ DE LORRAINE
FACULTÉ DE PHARMACIE
Année universitaire 2018-2019**

DOYEN

Raphaël DUVAL

Vice-Doyen

Julien PERRIN

Directrice des études

Marie SOCHA

Conseil de la Pédagogie

Présidente, Brigitte LEININGER-MULLER

Vice-Présidente, Alexandrine LAMBERT

Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier

Présidente, Béatrice DEMORE

Commission Prospective Facultaire

Président, Christophe GANTZER

Vice-Président, Jean-Louis MERLIN

Commission de la Recherche

Présidente, Caroline GAUCHER

Chargés de Mission

Communication

Innovation pédagogique

Référente ADE

Référent dotation sur projet (DSP)

Marie-Paule SAUDER

Alexandrine LAMBERT

Virginie PICHON

Dominique DECOLIN

Responsabilités

Filière Officine

Filière Industrie

Filière Hôpital

Pharma Plus ENSIC

Pharma Plus ENSAIA

Pharma Plus ENSGSI

Cellule de Formation Continue et Individuelle

Commission d'agrément des maîtres de stage

ERASMUS

Caroline PERRIN-SARRADO

Julien GRAVOULET

Isabelle LARTAUD,

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Béatrice DEMORE

Marie SOCHA

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Xavier BELLANGER

Igor CLAROT

Luc FERRARI

François DUPUIS

Mihayl VARBANOV

DOYENS HONORAIRES

Chantal FINANCE

Francine PAULUS

Claude VIGNERON

PROFESSEURS EMERITES

Jeffrey ATKINSON

Max HENRY

Claude VIGNERON

PROFESSEURS HONORAIRES

Pierre DIXNEUF

Chantal FINANCE

Marie-Madeleine GALTEAU

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Pierre LABRUDE

Vincent LOPPINET

Alain NICOLAS

Janine SCHWARTZBROD

Louis SCHWARTZBROD

ASSISTANTS HONORAIRES

Marie-Catherine BERTHE

Annie PAVIS

MAITRES DE CONFERENCES HONORAIRES

Monique ALBERT

Mariette BEAUD

François BONNEAUX

Gérald CATAU

Jean-Claude CHEVIN

Jocelyne COLLOMB

Bernard DANGIEN

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Marie-Hélène LIVERTOUX

Bernard MIGNOT

Blandine MOREAU

Dominique NOTTER

Francine PAULUS

Christine PERDICAKIS

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Gabriel TROCKLE

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Colette ZINUTTI

PROFESSEURS DES UNIVERSITES - PRATICIENS HOSPITALIERS

| | | |
|--------------------------------|----|--|
| Danièle BENSOUSSAN-LEJZEROWICZ | 82 | Thérapie cellulaire |
| Jean-Louis MERLIN | 82 | Biologie cellulaire |
| Jean-Michel SIMON | 81 | Economie de la santé, Législation pharmaceutique |
| Nathalie THILLY | 81 | Santé publique et Epidémiologie |

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

| | | |
|-------------------------------|----|--|
| Christine CAPDEVILLE-ATKINSON | 86 | Pharmacologie |
| Igor CLAROT | 85 | Chimie analytique |
| Joël DUCOURNEAU | 85 | Biophysique, Acoustique, Audioprothèse |
| Raphaël DUVAL | 87 | Microbiologie clinique |
| Béatrice FAIVRE | 87 | Hématologie, Biologie cellulaire |
| Luc FERRARI | 86 | Toxicologie |
| Pascale FRIANT-MICHEL | 85 | Mathématiques, Physique |
| Christophe GANTZER | 87 | Microbiologie |
| Frédéric JORAND | 87 | Eau, Santé, Environnement |
| Isabelle LARTAUD | 86 | Pharmacologie |
| Dominique LAURAIN-MATTAR | 86 | Pharmacognosie |
| Brigitte LEININGER-MULLER | 87 | Biochimie |
| Pierre LEROY | 85 | Chimie physique |
| Philippe MAINCENT | 85 | Pharmacie galénique |
| Patrick MENU | 86 | Physiologie |
| Jean-Bernard REGNOUF de VAINS | 86 | Chimie thérapeutique |
| Bertrand RIHN | 87 | Biochimie, Biologie moléculaire |

MAITRES DE CONFÉRENCES DES UNIVERSITÉS - PRATICIENS HOSPITALIERS

| | | |
|-----------------|----|---|
| Béatrice DEMORE | 81 | Pharmacie clinique |
| Alexandre HARLE | 82 | Biologie cellulaire oncologique |
| Julien PERRIN | 82 | Hématologie biologique |
| Loïc REPPÉL | 82 | Biothérapie |
| Marie SOCHA | 81 | Pharmacie clinique, thérapeutique et biotechnique |

MAITRES DE CONFÉRENCES

| | | |
|-------------------|----|--|
| Sandrine BANAS | 87 | Parasitologie |
| Xavier BELLANGER | 87 | Parasitologie, Mycologie médicale |
| Emmanuelle BENOIT | 86 | Communication et Santé |
| Isabelle BERTRAND | 87 | Microbiologie |
| Michel BOISBRUN | 86 | Chimie thérapeutique |
| Ariane BOUDIER | 85 | Chimie physique |
| Cédric BOURA | 86 | Physiologie |
| Joël COULON | 87 | Biochimie |
| Sébastien DADE | 85 | Bio-informatique |
| Dominique DECOLIN | 85 | Chimie analytique |
| Roudayna DIAB | 85 | Pharmacie galénique |
| Natacha DREUMONT | 87 | Biochimie générale, Biochimie clinique |
| Florence DUMARCAÏ | 86 | Chimie thérapeutique |
| François DUPUIS | 86 | Pharmacologie |
| Reine EL OMAR | 86 | Physiologie |
| Adil FAIZ | 85 | Biophysique, Acoustique |
| Anthony GANDIN | 87 | Mycologie, Botanique |
| Caroline GAUCHER | 86 | Chimie physique, Pharmacologie |
| Stéphane GIBAUD | 86 | Pharmacie clinique |
| Thierry HUMBERT | 86 | Chimie organique |
| Olivier JOUBERT | 86 | Toxicologie, Sécurité sanitaire |

| ENSEIGNANTS (suite) | Section CNU* | Discipline d'enseignement |
|----------------------------|---------------------|---------------------------------------|
| Alexandrine LAMBERT | 85 | Informatique, Biostatistiques |
| Julie LEONHARD | 86/01 | Droit en Santé |
| Christophe MERLIN | 87 | Microbiologie environnementale |
| Maxime MOURER | 86 | Chimie organique |
| Coumba NDIAYE | 86 | Epidémiologie et Santé publique |
| Marianne PARENT | 85 | Pharmacie galénique |
| Caroline PERRIN-SARRADO | 86 | Pharmacologie |
| Virginie PICHON | 85 | Biophysique |
| Sophie PINEL | 85 | Informatique en Santé (e-santé) |
| Anne SAPIN-MINET | 85 | Pharmacie galénique |
| Marie-Paule SAUDER | 87 | Mycologie, Botanique |
| Guillaume SAUTREY | 85 | Chimie analytique |
| Rosella SPINA | 86 | Pharmacognosie |
| Sabrina TOUCHET | 86 | Pharmacochimie |
| Mihayl VARBANOV | 87 | Immuno-Virologie |
| Marie-Noëlle VAULTIER | 87 | Mycologie, Botanique |
| Emilie VELOT | 86 | Physiologie-Physiopathologie humaines |
| Mohamed ZAIYOU | 87 | Biochimie et Biologie moléculaire |

PROFESSEURS ASSOCIES

| | | |
|--------------------|----|--------------------|
| Julien GRAVOULET | 86 | Pharmacie clinique |
| Anne MAHEUT-BOSSER | 86 | Sémiologie |

PROFESSEUR AGREGE

| | | |
|--------------------|----|---------|
| Christophe COCHAUD | 11 | Anglais |
|--------------------|----|---------|

***Disciplines du Conseil National des Universités :**

80 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

81 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

82 : Personnels enseignants et hospitaliers de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

85 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences physico-chimiques et ingénierie appliquée à la santé

86 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences du médicament et des autres produits de santé

87 : Personnels enseignants-chercheurs de pharmacie en sciences biologiques, fondamentales et cliniques

11 : Professeur agrégé de lettres et sciences humaines en langues et littératures anglaises et anglo-saxonnes

SERMENT DES APOTHICAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE APPROBATION, NI IMPROBATION AUX OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

Aux membres du Jury,

A Monsieur le Professeur DUVAL

Pour avoir accepté de présider ce travail, pour la rigueur, les conseils et la bienveillance que tu m'as apportés, pour la confiance que tu accordes dans mes projets les plus fous depuis plusieurs années, je te témoigne ici mon plus profond respect.

A Madame le Docteur JOST,

Je t'adresse un grand merci pour avoir accepté de diriger ce travail original en m'accordant la confiance et la liberté nécessaires à l'élaboration d'un tel projet, pour ton implication dans la relecture du manuscrit et les nombreux conseils pertinents associés.

A Madame le Docteur DELAMARE,

Pour avoir accepté d'examiner ce travail, pour m'avoir chaleureusement accueilli au sein de votre structure et pour toute la confiance que vous m'avez accordée durant cette année passée, veuillez trouver ici l'assurance de ma reconnaissance profonde.

A Madame le Docteur ROQUEBERT,

Je te prie de bien vouloir accepter mes remerciements pour l'accueil et l'encadrement chaleureux dont tu as fait preuve à mon égard il y a plus d'un an maintenant et pour avoir accepté de juger et d'examiner ce travail malgré les 9 000 km qui nous séparent. J'espère qu'il pourra te rendre service dans ta pratique professionnelle. Sois assurée de toute ma sympathie.

A Madame le Professeur SCHVOERER,

Pour m'avoir fait l'honneur de juger et d'examiner ce travail avec intérêt, veuillez recevoir l'expression de toute ma gratitude.

Voici le passage le plus important de tous (et sans aucun doute le plus lu) : les remerciements !

A toute ma famille, et plus particulièrement à mes parents et à ma sœur. Je vous remercie pour l'éducation, le soutien, l'ouverture d'esprit et l'amour que vous m'avez apportés et qui ont fait ce que je suis aujourd'hui.

A ma belle-famille, pour sa bienveillance et sa générosité. A Pédro sans qui aujourd'hui je ne serais pas Champion à Rocket League !

A mes amis de fac qui ont partagé avec moi les bancs si confortables des amphis, les innombrables fous rires, les soirées, les domacs, et le bad.

A ma binôme, Cloclo, qui a supporté mes diverses maladresses et étourderies lors des TP mais toujours dans la bonne humeur. Celui de chimisorption a été celui de trop ! ☺

A l'ensemble des équipes techniques et biologiques des services du CHRU de NANCY qui ont initié ma formation, toujours dans la bonne humeur, notamment au labo de garde. Sauver le Beckman avec un trombone et du scotch fait partie de mes souvenirs les plus glorieux.

A l'équipe du labo d'EPINAL, qui m'a réellement fait aimer la polyvalence de ce métier. Je vous remercie tous, et vous cite fréquemment comme référence sur la qualité de formation de l'interne et sur l'efficacité de votre organisation. Merci.

Au CHRU de l'Île de la REUNION... Quel plaisir ça a été de travailler avec vous tous ! Et quelle nostalgie je ressens aujourd'hui. Merci pour la formation et l'encadrement en microbiologie.

Au CHR de METZ-THIONVILLE qui m'a accueilli pour ma dernière année de formation. Merci pour votre intégration sans égale et votre bienveillance (et les restos et soirées !). J'adresse une mention spéciale à Nathalie, qui m'a formé à la technique du génotypage VIH-1.

Je remercie le personnel de l'incubateur lorrain pour son accueil chaleureux et sa précieuse prestation de conseil.

Vient maintenant votre tour les internes ! Merci à tous mes cointernes avec qui j'ai partagé le quotidien, les blagues et parfois la valid', merci pour tous ces bons souvenirs.

Aux collègues du baby : le Pr Georges Mickael, PFT (désolé, je ne peux plus t'appeler Professeur maintenant), Brios' l'albatros, Beubeu, FX et Deckos pour toutes les parties endiablées !

Au Pr George Mickael qui m'a fait découvrir le milieu de la biologie (en plus de la roulette au baby) !

A Cha avec qui j'ai partagé les mêmes angoisses depuis un an : ça y est c'est fini maintenant !

A l'agent double M : GARDE A VOUUUUS ! Repos !

A Shanti : ôté la marmaille ! Mi pas oublié aou, mi esper aou retrouvé té zot ! Gro poison i bék si le tar !

A Luciad' : merci d'être passée de l'autre côté du mur pendant 6 mois de folie et d'être venue à bout du 2048. Tasty !

A Rostane (ou plutôt Francky), merci à toi aussi d'être passé de l'autre côté du mur. Le Bactec n'a plus de secret pour toi !

A Alex le T-rex : courage pour la dernière ligne droite. A très bientôt j'espère. Ça a été vraiment sympa de bosser avec toi. J'me casse la rascasse !

A Nico le romancier : pareil que le T-rex ! On attend toujours le roman (quand je repense à ta malle remplie de bouquin) !!!

A Charlotte : tu es passée d'interne de niveau 0,5 au niveau respectable de 4 ! Pas dégueu ! Merci d'avoir ri à toutes mes blagues, même les pas drôles... et d'avoir fortement atténué ma déprim' de retour en métropole.

A Anne-So, la reine de Bel-Air. Chapeau bas pour toutes les compétences que tu as déjà acquises en si peu de temps. Ton investissement est exemplaire.

Aux Thomas : parce que j'ai déjà cité beubeu, mais pas miss Gérard et le p'tit Louis (et Victo ! 1 pierre, 3 coups ☺) !

A dame Manenq : pour ton expertise et ta bonne humeur en hémato. A bientôt.

A Chabi : parce qu'avec Camille, on te doit la vie ! A bientôt avec Dame Manenq.

Enfin, un merci tout particulier à la communauté open source ainsi qu'à tous ceux participant à la promotion, à l'initiation et à la formation du codage informatique sans qui ce projet n'aurait pas été possible.

Et bien sûr, la meilleure pour la fin : Camille. Merci pour ta douceur, ton sourire, ton réconfort et ton amour si présent tout au long de ces années. C'en est enfin fini des nuits entières à programmer l'appli. Le futur nous appartient.

A Vic' et à toute ta famille,

Parce qu'il y a 10 ans, toute cette histoire a commencé avec toi,

Il est bien normal qu'elle se termine par ton hommage.

Tous ces moments inoubliables... Les souvenirs sont vifs, le temps s'est arrêté.

Je te dédie ce travail.

« Il y existe deux manières de concevoir un logiciel. La première, c'est de le faire si simple qu'il est évident qu'il ne présente aucun problème. La seconde, c'est de le faire si compliqué qu'il ne présente aucun problème évident. La première méthode est de loin la plus complexe. »

C.A.R. Hoare

TABLE DES MATIERES

| | |
|---|-----|
| Table des matières | i |
| Liste des figures | iii |
| Liste des tableaux | v |
| Liste des abréviations | vi |
| I. Introduction..... | 1 |
| II. Contexte | 3 |
| II.1. Généralités | 4 |
| II.2. Cycle de réplication et traitements antirétroviraux..... | 5 |
| II.3. Evaluation de la réponse virologique..... | 8 |
| II.4. Mécanismes de résistances aux antirétroviraux..... | 9 |
| II.4.1. Résistance aux inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques de la transcriptase inverse | 9 |
| II.4.2. Résistance aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse | 10 |
| II.4.3. Résistance aux inhibiteurs de la protéase | 10 |
| II.4.4. Résistance aux inhibiteurs de l'intégrase..... | 10 |
| II.5. Méthodes d'évaluation des résistances aux antirétroviraux..... | 11 |
| II.5.1. Méthode phénotypique | 11 |
| II.5.2. Méthode génotypique..... | 11 |
| II.6. Surveillance française de la résistance aux antirétroviraux | 19 |
| II.7. Management de la qualité au laboratoire de biologie médicale..... | 19 |
| III. Objectifs..... | 21 |
| IV. Matériels et méthodes | 23 |
| IV.1. Cycle de développement..... | 24 |
| IV.2. Analyse des besoins et des contraintes | 25 |
| IV.2.1. Public cible..... | 25 |
| IV.2.2. Analyse des besoins..... | 25 |
| IV.2.3. Problématique | 26 |
| IV.2.4. Contraintes matérielles | 26 |
| IV.2.5. Contraintes réglementaires vis-à-vis du traitement de données de santé | 26 |
| IV.3. Conception préliminaire | 26 |
| IV.3.1. Architecture logicielle | 26 |
| IV.3.2. Contexte de l'application..... | 28 |

| | | |
|---------|--|----|
| IV.3.3. | Paquetages de l'application..... | 29 |
| IV.4. | Conception détaillée : exemple du composant de gestion des dossiers de génotypage | 30 |
| IV.4.1. | Cahier des charges..... | 30 |
| IV.4.2. | Exemple illustré du codage de la fonctionnalité d'interprétation de génotypes cumulés..... | 34 |
| IV.5. | Tests logiciels | 35 |
| IV.6. | Maintenance..... | 35 |
| V. | Résultats | 36 |
| V.1. | Licence..... | 37 |
| V.2. | Configuration minimale requise | 37 |
| V.2.1. | Configuration côté serveur | 37 |
| V.2.2. | Configuration côté client..... | 37 |
| V.3. | Accès à l'application..... | 38 |
| V.4. | Fonctionnalités | 38 |
| V.4.1. | Accueil et navigation | 38 |
| V.4.2. | Importation et gestion des données de génotypage..... | 39 |
| V.4.3. | Visualisation et interprétation des génotypes simples | 43 |
| V.4.4. | Génotypes cumulés | 45 |
| V.4.5. | Paramétrage des algorithmes et des antirétroviraux | 49 |
| V.4.6. | Epidémiologie | 55 |
| V.4.7. | Aide au management de la qualité | 57 |
| V.4.8. | Fonctions d'administration..... | 63 |
| VI. | Discussion..... | 65 |
| VI.1. | Evaluation | 66 |
| VI.2. | Evolution..... | 67 |
| VI.3. | Financement..... | 68 |
| VI.4. | Licences libres intégrées au projet | 69 |
| VII. | Conclusion..... | 70 |
| VIII. | Références | 72 |
| IX. | Annexes..... | 77 |

LISTE DES FIGURES

| | |
|---|----|
| Figure 1 : Diversité du VIH : types, groupes et sous-types..... | 4 |
| Figure 2 : Cycle de réplication virale et cibles thérapeutiques associées | 6 |
| Figure 3 : Sélection de mutants résistants sous la pression de sélection des antirétroviraux | 9 |
| Figure 4 : Génome et séquences cibles d'intérêt du VIH-1..... | 12 |
| Figure 5 : Processus analytique de l'évaluation génotypique des résistances aux antirétroviraux | 13 |
| Figure 6 : Base dégénérée détectée sur électrophorégramme de Sanger | 13 |
| Figure 7 : Traitements informatiques nécessaires lors de l'analyse du séquençage VIH-1 | 14 |
| Figure 8 : Premier exemple de règles d'interprétation « simples » de l'algorithme ANRS v28 | 15 |
| Figure 9 : Deuxième exemple de règles d'interprétation « simples » de l'algorithme ANRS v28 | 15 |
| Figure 10 : Exemple de règles d'interprétation « union » de l'algorithme ANRS v28 | 16 |
| Figure 11 : Exemple de règles d'interprétation « score » de l'algorithme ANRS v28 | 16 |
| Figure 12 : Exemple de règles d'interprétation associées à un sous-type viral de l'algorithme ANRS v28..... | 16 |
| Figure 13 : Exemple de génotype cumulé sur la séquence de la protéase | 17 |
| Figure 14 : Cycle de développement logiciel en « V »..... | 24 |
| Figure 15 : Architecture simplifiée d'une application client/serveur | 27 |
| Figure 16 : Génération dynamique d'une page web par PHP | 27 |
| Figure 17 : Représentation de l'architecture MVC appliquée à QualiVIH | 28 |
| Figure 18 : Diagramme de contexte de QualiVIH | 28 |
| Figure 19 : Diagramme de paquetages de QualiVIH | 29 |
| Figure 20 : Extrait de code informatique du contrôleur gérant le composant « Gestion des données de géotypage » | 30 |
| Figure 21 : Diagramme de cas d'utilisations « Gestion des dossiers de géotypage » | 33 |
| Figure 22 : Logigramme de l'interprétation du génotype cumulé par QualiVIH | 34 |
| Figure 23 : Logo de l'application QualiVIH | 37 |
| Figure 24 : Interface adaptative de QualiVIH | 38 |
| Figure 25 : QualiVIH - formulaire d'identification de l'utilisateur | 38 |
| Figure 26 : QualiVIH - écran d'accueil de l'utilisateur après authentification..... | 39 |
| Figure 27 : QualiVIH - import de données de géotypage | 40 |
| Figure 28 : QualiVIH - gestion des données de géotypage..... | 42 |
| Figure 29 : QualiVIH - interprétation de données de géotypage VIH-1 | 44 |
| Figure 30 : QualiVIH - mutations cumulées..... | 45 |
| Figure 31 : QualiVIH - interprétation de géotypes cumulés..... | 46 |
| Figure 32 : QualiVIH - confrontations des interprétations génotypiques..... | 47 |
| Figure 33 : QualiVIH - suivi des mutations virales en fonction du temps et de la thérapie antirétrovirale..... | 48 |
| Figure 34 : QualiVIH - paramétrage des algorithmes et des antirétroviraux..... | 49 |

| | |
|---|----|
| Figure 35 : QualiVIH - formulaire de création d'un nouvel antirétroviral..... | 50 |
| Figure 36 : QualiVIH - formulaire de création d'un nouvel algorithme d'interprétation | 51 |
| Figure 37 : QualiVIH - paramétrage des règles d'un algorithme d'interprétation..... | 52 |
| Figure 38 : QualiVIH - formulaire de création de règles d'interprétation | 54 |
| Figure 39 : QualiVIH - rapports épidémiologiques - données générales..... | 55 |
| Figure 40 : QualiVIH - rapports épidémiologiques : mutations et résistances | 56 |
| Figure 41 : Aide au management de la qualité proposée par QualiVIH..... | 57 |
| Figure 42 : Classeur XLS de gestion des feuilles de travail et destiné à être importé dans QualiVIH | 58 |
| Figure 43 : QualiVIH - formulaire d'import du classeur de gestion des feuilles de travail | 59 |
| Figure 44 : QualiVIH - gestion des séries de patients | 60 |
| Figure 45 : QualiVIH - gestion des séries de contrôles internes | 61 |
| Figure 46 : QualiVIH - indicateurs qualité..... | 62 |
| Figure 47 : QualiVIH - traçabilité interne de l'application..... | 64 |
| Figure 48 : Avancement du projet QualiVIH | 68 |

LISTE DES TABLEAUX

| | |
|--|----|
| Tableau I : Antirétroviraux commercialisés en France en Mars 2018 | 7 |
| Tableau II : Recommandations françaises thérapeutiques antirétrovirales de première ligne | 8 |
| Tableau III : Indications des tests génotypiques de résistance | 11 |
| Tableau IV : Tableau comparatif des principaux logiciels relatifs au génotypage VIH-1 disponibles actuellement..... | 18 |
| Tableau V : Comparaison entre QualiVIH et les principaux logiciels relatifs au génotypage VIH-1 disponibles actuellement | 66 |
| Tableau VI : Projets <i>open source</i> intégrés dans QualiVIH..... | 69 |

LISTE DES ABREVIATIONS

AB1 : fichier compilé contenant les données brutes issues des séquençages d'acides nucléiques par électrophorèse capillaire

ANRS : agence nationale de recherche sur le sida et les hépatites virales

ARV : antirétroviral

ATV/RTV : atazanavir boosté par ritonavir

BDD : base de données

CCR5 : *chemokine CC motif receptor 5*

CHRMT : centre hospitalier régional de METZ-THIONVILLE

CQI : contrôle de qualité interne

CRF : formes circulantes recombinantes

CSS : *cascading style sheets*

CV : charge virale

CXCR4 : *chemokine CXC motif receptor 4*

DCI : dénomination commune internationale

DO : déclaration obligatoire

EDTA : éthylènediaminetétraacétique

FASTA : fichier non compilé contenant des séquences biologiques de nature nucléique ou protéique

GNU : GNU's not UNIX (récuratif)

GP41 : glycoprotéine 41

GP120 : glycoprotéine 120

GPL : *general public license*

HTML : *hypertext markup language*

IDV : indinavir

IF : inhibiteur de fusion

INI : inhibiteur de l'intégrase

INNTI : inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse

INTI : inhibiteur nucléosidique/nucléotidique de la transcriptase inverse

IP : inhibiteur de la protéase

IUPAC : *international union of pure and applied chemistry*

LBM : laboratoire de biologie médicale

LPV/r : lopinavir boosté par ritonavir

MVC : modèle-vue-contrôleur

NGS : séquençage de nouvelle génération

NVP : névirapine

PCR : réaction en chaîne par polymérase

PDF : fichier pour format de document portable Adobe®

PHP : *PHP hypertext preprocessor* (récursif)

RICAI 2018 : 38^{ème} édition de la réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse

RT-PCR : *reverse transcriptase PCR*

SGBDR : système de gestion de base de données relationnelle

SIDA : syndrome d'immunodéficience acquise

SIL : système d'information de laboratoire

SQL : *structured query language*

RT : *reverse transcriptase*

TI : transcriptase inverse

TPV/RTV : tipranavir boosté par ritonavir

TXT : fichier non compilé contenant du texte au format ASCII

UML : langage de modélisation unifié

VIH : virus de l'immunodéficience humaine

VIH-1 : virus de l'immunodéficience humaine de type 1

VIH-2 : virus de l'immunodéficience humaine de type 2

XLS : fichier de tableur au format Microsoft® Office Excel

I. INTRODUCTION

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) touche aujourd'hui près de 37 millions de personnes à travers le monde (1). La mise à disposition de thérapies antirétrovirales efficaces a permis de diminuer considérablement la morbi-mortalité liée à cette infection (2). L'échec thérapeutique demeure cependant une réalité devant l'émergence de virus résistants. L'évaluation de la résistance virale aux antirétroviraux (ARV) constitue donc une étape incontournable du suivi des patients vivants avec le VIH (PVVIH). Elle permet notamment de guider la mise en place du traitement antirétroviral de première ligne et d'ajuster ce dernier lors d'échappements thérapeutiques.

Dans sa pratique quotidienne, le biologiste médical fait face à de nombreux défis. Le processus analytique de séquençage génotypique est, à l'heure actuelle, complexe et essentiellement manuel. Il requiert un système de gestion de la qualité efficient pour répondre aux exigences normatives imposées à l'ensemble des laboratoires de biologie médicale (LBM) français. L'interprétation des résultats de génotypage est en perpétuelle évolution et nécessite des outils modulables capables à la fois de s'adapter aux actualisations des recommandations nationales, mais également d'y participer activement en permettant le suivi épidémiologique des mutations virales observées. Ces différents enjeux ont conduit à créer une solution informatique originale, QualiVIH, créée par un (futur) biologiste médical pour les biologistes médicaux.

L'objectif principal de ce travail est de présenter les intérêts et les fonctionnalités de cette application.

Un bref chapitre viendra d'abord rappeler quelques généralités inhérentes à l'infection par le VIH, afin de situer le contexte régnant autour de l'application. Seront notamment développés la prise en charge thérapeutique de l'infection et son monitoring biologique chargé d'évaluer les résistances virales aux ARV et leurs mécanismes associés.

L'environnement contextuel ayant motivé la création d'une telle application sera ensuite commenté, avant de présenter son cahier des charges et de modéliser son analyse logicielle. Puis, les différentes fonctionnalités de l'application visant à aider le biologiste médical dans sa pratique quotidienne seront décrites. Enfin, les perspectives d'évolution et le développement futur de l'application seront discutés.

La création de toutes pièces d'un tel projet a nécessité la mise en œuvre d'une programmation importante et complexe ; celle-ci ne sera volontairement pas détaillée dans ce manuscrit.

II.CONTEXTE

II.1. Généralités

Identifié pour la première fois en 1983, le VIH est un virus à acides ribonucléiques (ARN) appartenant au genre *Lentivirus* de la famille des *Retroviridae* et infecte les cellules CD4⁺ du système immunitaire humain (3). Le VIH est l'agent responsable de la pandémie du syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) et se transmet par contact direct avec des fluides biologiques contaminés (rapports sexuels non protégés, partages de seringues chez les toxicomanes, transfusions sanguines, transmissions mère/enfant, ...). A l'échelle mondiale, près de 37 millions de personnes vivaient avec le VIH en 2016, et seulement 59% d'entre eux bénéficiaient d'un traitement antirétroviral. Environ un million de décès ont été associés à cette infection cette même année (1).

Le VIH est un virus caractérisé par une grande variabilité génétique. Celle-ci s'explique par la faible fidélité de réplication de la transcriptase inverse, dépourvue d'activité exonucléasique permettant de corriger les erreurs de transcription (génération d'une erreur pour 10 000 paires de bases par cycle (4,5)), amplifiée par une forte activité répllicative du virus (10^9 à 10^{10} virions produits quotidiennement) (6). Deux types de virus sont décrits aujourd'hui : les types 1 (VIH-1) et 2 (VIH-2), et se distinguent par leurs propriétés phylogéniques, génotypiques et sérologiques. Le VIH-1 est responsable de la pandémie mondiale du SIDA, le VIH-2 est principalement restreint à l'Afrique occidentale.

Chacun des deux types de virus est subdivisé en groupes selon des critères phylogénétiques (figure 1 (7)). Le type-1 est, par exemple, classé en quatre groupes : M (major), O (outlier), N (non-M, non-O) et P (3,8,9). Le groupe M est lui-même divisé en 9 sous-types (A, B, C, D, F, G, H, J et K), le sous-type B étant majoritairement observé en France aujourd'hui (7). Les molécules d'ARN issues de souches virales différentes coinfessant un même individu peuvent également se recombiner durant la rétrotranscription, et ainsi réaliser des échanges de matériel génétique pour aboutir à des formes circulantes recombinantes (CRF) (10). Plus de 90 CRF ont été décrites au sein du groupe M (11).

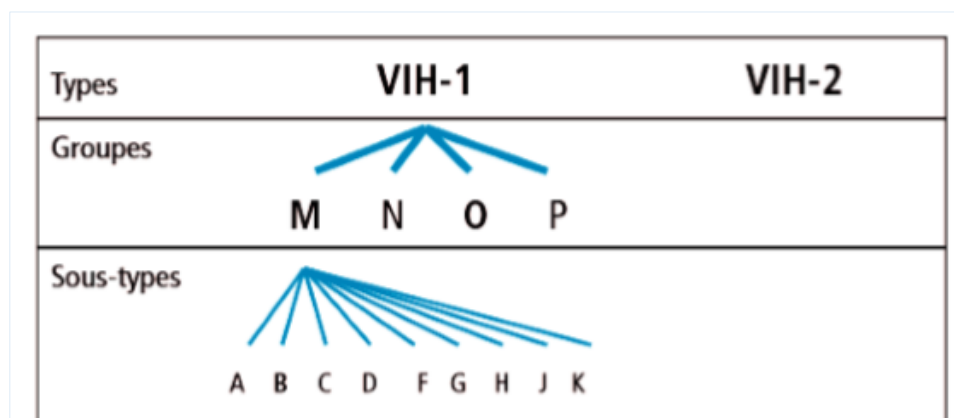


Figure 1 : Diversité du VIH : types, groupes et sous-types (7)

Initialement, chez le patient primo-infecté, la population virale est relativement homogène et dérive de la population l'ayant contaminée. Au fur et à mesure des cycles réplicatifs, les mutations s'accumulent et un mélange hétérogène de variants se forme. Il en résulte une coexistence de populations virales génétiquement différentes (ou quasi-espèces) en proportions variables selon leur capacité répliquative, leur adaptation aux défenses immunitaires de l'hôte et leur sélection par les traitements antirétroviraux.

II.2.Cycle de réplication et traitements antirétroviraux

Les cellules cibles du VIH sont celles présentant des récepteurs CD4 à leur surface membranaire. Ainsi, les lymphocytes T CD4+, les monocytes/macrophages, les cellules dendritiques et microgliales peuvent être infectés par le VIH.

➤ *Cycle de réplication*

La glycoprotéine d'enveloppe **gp120** du VIH doit d'abord reconnaître spécifiquement le **récepteur CD4** pour pénétrer dans la cellule hôte. La **gp120** subit alors un changement conformationnel qui permet son interaction avec l'un des deux **corécepteurs cellulaires aux chimiokines**, *chemokine CC motif receptor 5 (CCR5)* ou *chemokine CXC motif receptor 4 (CXCR4)* et ainsi de réaliser la **fusion** de l'enveloppe virale avec celle des cellules cibles par l'intermédiaire de la glycoprotéine virale transmembranaire **gp41**. La rétrotranscription de l'ARN monocaténaire en ADN bicaténaire sous l'action de la **transcriptase inverse (TI)** a ensuite lieu dans le cytoplasme cellulaire. Le double brin d'ADN viral est ensuite transféré vers le noyau. L'**intégration** de l'ADN proviral dans le génome cellulaire sera alors réalisée par l'intégrase. Une fois intégré, le provirus peut rester latent pendant de longues périodes, les cellules infectées jouent alors le rôle de « réservoir ».

La **transcription de l'ADN proviral** est ensuite réalisée par la machinerie cellulaire et aboutit à la formation d'ARN messager. Ce dernier est traduit en un polypeptide qui est ensuite clivé par la **protéase** virale pour former les protéines constitutives de chaque virus. Les nouvelles particules virales sont libérées dans le milieu extracellulaire par **bourgeonnement** après assemblage des différents constituants.

➤ *Cibles traitements antirétroviraux*

Certaines étapes clés du cycle de réplication virale constituent des cibles thérapeutiques antirétrovirales. La **figure 2 (12)** illustre les relations entre le cycle réplicatif du VIH et les mécanismes d'action des différents ARV aujourd'hui disponibles. Le développement des thérapies antirétrovirales permet de contrôler la réplication virale chez les PVVIH et ainsi d'y réduire significativement la morbi-mortalité associée (2). Ces traitements, virostatiques, ne permettent pas d'obtenir l'éradication totale du virus, l'infection persistant alors sous un état latent au sein de cellules « réservoir » durant toute la vie des PVVIH et pouvant réémerger en cas d'échappement thérapeutique. Il n'existe actuellement aucun moyen pour guérir définitivement l'infection par le VIH.

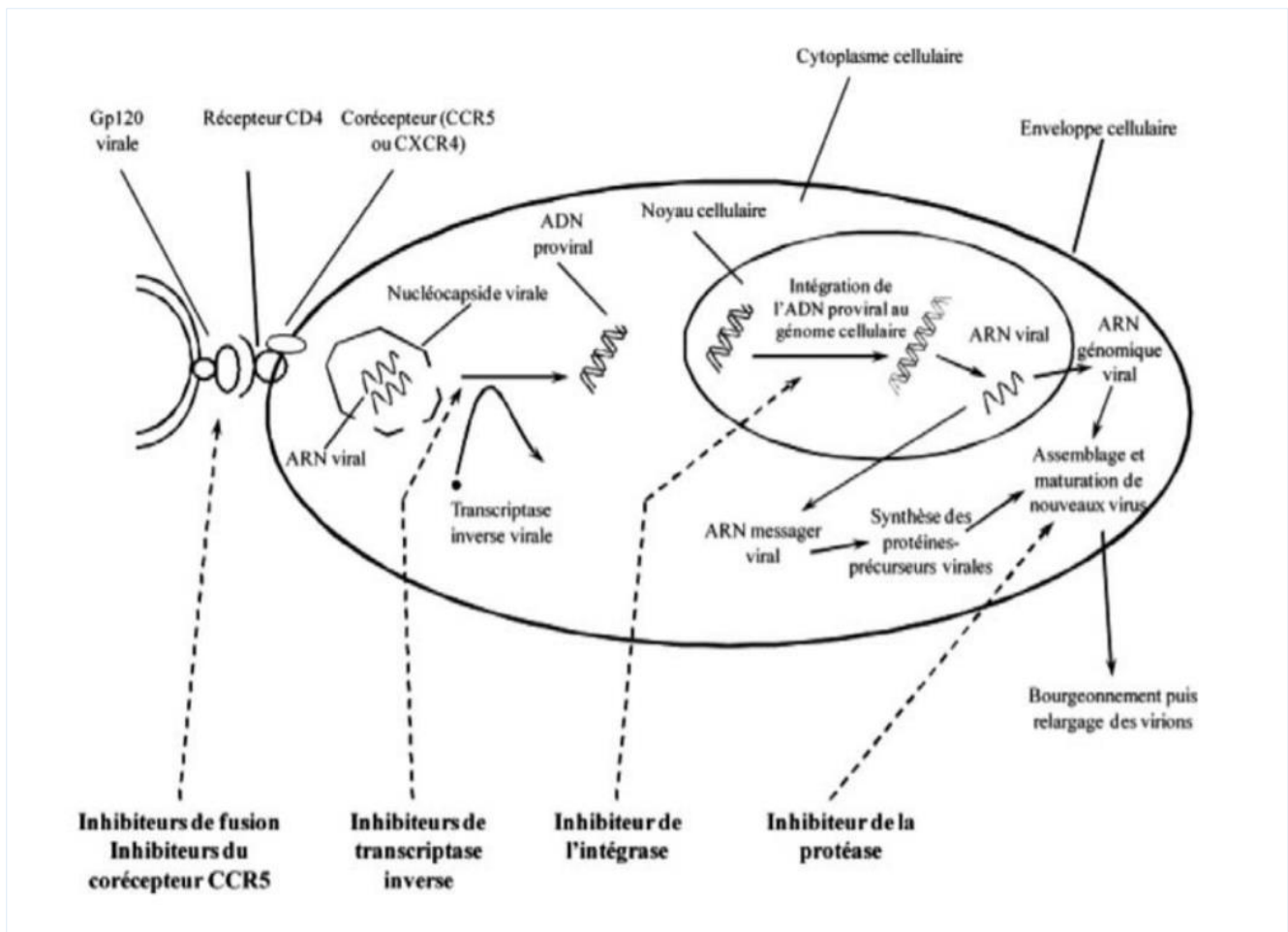


Figure 2 : Cycle de réplication virale et cibles thérapeutiques associées (12)

Plus de 20 ARV dans six classes médicamenteuses sont actuellement disponibles :

- **inhibiteurs de fusion (IF)** : ils inhibent la fusion des membranes virales et cellulaires par fixation compétitive à la glycoprotéine gp41 virale ;
- **antagonistes du CCR5 (anti-CCR5)** : ils inhibent de façon non compétitive la fixation virale sur le corécepteur d'entrée CCR5 de la cellule ;
- **inhibiteurs nucléosidiques/nucléotidiques de la transcriptase inverse (INTI)** : ils sont dérivés des nucléosides/nucléotides naturels avec lesquels ils entrent en compétition comme substrat de la TI virale et inhibent celle-ci par effet terminateur de chaîne ;
- **inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI)** : ils inhibent la transcription inverse en se fixant sur la TI de façon non compétitive ;
- **inhibiteurs de l'intégrase (INI)** : ils inhibent l'activité de l'intégrase et ainsi l'insertion de l'ADN viral au sein de l'ADN cellulaire ;
- **inhibiteurs de la protéase (IP)** : ils se lient compétitivement au site actif de la protéase et interfèrent ainsi avec la maturation des protéines virales néosynthétisées.

Les molécules antirétrovirales qui possèdent actuellement une autorisation de mise sur le marché français figurent dans le [tableau I](#) (adapté d'après (13)). Les spécialités commerciales correspondant aux présentations combinées n'y sont pas représentées à l'exception des molécules pour lesquelles il n'existe pas de spécialité sans association.

| Tableau I : Antirétroviraux commercialisés en France en Mars 2018 (13) | |
|---|---------------------------------|
| Dénomination commune internationale | Spécialités commerciales |
| INHIBITEURS NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRITASE INVERSE | |
| Abacavir | Ziagen® |
| Emtricitabine | Emtriva® |
| Didanosine | Videx® |
| Lamivudine | Epivir® |
| Zidovudine | Rétrovir® |
| INHIBITEURS NUCLEOTIDIQUES DE LA TRANSCRITASE INVERSE | |
| Ténofovir disoproxyl fumarate | Viread® |
| Ténofovir alafénamide fumarate | Descovy®* Genvoya®* |
| INHIBITEURS NON NUCLEOSIDIQUES DE LA TRANSCRITASE INVERSE | |
| Efavirenz | Sustiva® |
| Etravirine | Intelence® |
| Névirapine | Viramune® |
| Rilpivirine | Edurant® |
| INHIBITEURS DE LA PROTEASE | |
| Atazanavir/ritonavir | Reyataz® /Norvir® |
| Darunavir/ritonavir | Prezista® /Norvir® |
| Fosamprenavir/ritonavir | Telzir® /Norvir® |
| Lopinavir/ritonavir | Kaletra® |
| Saquinavir/ritonavir | Invirase® /Norvir® |
| Tipranavir/ritonavir | Aptivus® /Norvir® |
| INHIBITEURS DE L'INTEGRASE | |
| Raltegravir | Isentress® |
| Dolutegravir | Tivicay® |
| Elvitegravir | Stribild®* Genvoya®* |
| INHIBITEUR DE FUSION | |
| Enfuvirtide | Fuzéon® |
| INHIBITEUR DE CCR5 | |
| Maraviroc | Celsentri® |

* Formes combinées

En 2018, les recommandations françaises de traitement de première ligne reposent sur une trithérapie par l'association de deux INTI avec un troisième agent qui peut être soit un IP, soit un INNTI ou soit un INI (13). Il existe de nombreuses options ([tableau II](#), adapté d'après (13)) et le choix du premier traitement doit être individualisé tenant notamment compte de multiples facteurs intrinsèques au patient (niveau de la charge virale (CV), tolérance attendue du traitement, éventuelles interactions médicamenteuses, comorbidités, coût, ...).

Tableau II : Recommandations françaises thérapeutiques antirétrovirales de première ligne (13)

| 2 INTI | INNTI |
|--|-----------------------|
| Ténofovir alafénamide / Emtricitabine | Rilpivirine |
| Ténofovir disoproxyl fumarate / Emtricitabine | Rilpivirine |
| 2 INTI | INI |
| Ténofovir disoproxyl fumarate / Emtricitabine | Dolutégravir |
| Abacavir / Lamivudine | Dolutégravir |
| Ténofovir alafénamide fumarate / Emtricitabine | Elvitégravir |
| Ténofovir disoproxyl fumarate / Emtricitabine | Raltégravir |
| 2 INTI | IP |
| Ténofovir disoproxyl fumarate / Emtricitabine | Darunavir / Ritonavir |

II.3. Evaluation de la réponse virologique

L'objectif de la thérapie antirétrovirale vise à l'obtention et au maintien d'une répllication virale indétectable (CV < 50 copies/mL) en six mois. Ce contrôle de la répllication virale minimise ainsi le risque de transmission, de sélection de virus résistants et réduit la morbidité associée au VIH. Il convient donc de monitorer la CV plasmatique avant l'initiation thérapeutique (M0), puis après le premier (M1), troisième (M3), et sixième mois (M6) de traitement pour évaluer son efficacité (13) :

- à **M1** : la CV doit avoir baissé d'au moins 2 log copies/mL par rapport à M0 ;
- à **M3** : la CV doit être < 400 copies/mL ;
- à **M6** : la CV doit être < 50 copies/mL.

L'échec virologique est observé si ces critères susmentionnés ne sont pas respectés. Parmi les échecs virologiques, on distingue :

- la **non-réponse au traitement** qui se définit par une réduction de la CV inférieure à 2 log (copies/mL) à M1 par rapport à M0 ;
- l'**échec initial** qui se traduit par la persistance d'une CV > 50 copies/mL au-delà de 6 mois après l'instauration du traitement ;
- le **rebond virologique** qui correspond à l'apparition d'une CV > 50 copies/mL après une période de succès virologique, confirmé sur deux prélèvements consécutifs.

Depuis 2012, près de 90% des PVVIH traités observent un succès virologique d'emblée (13). Les échecs virologiques résultent souvent de facteurs pharmacologiques (problèmes d'observance, interactions médicamenteuses, malabsorption, ...) et/ou de l'apparition de souches virales mutantes résistantes aux traitements sélectionnées par la pression de la thérapie antirétrovirale (figure 3 (14)).

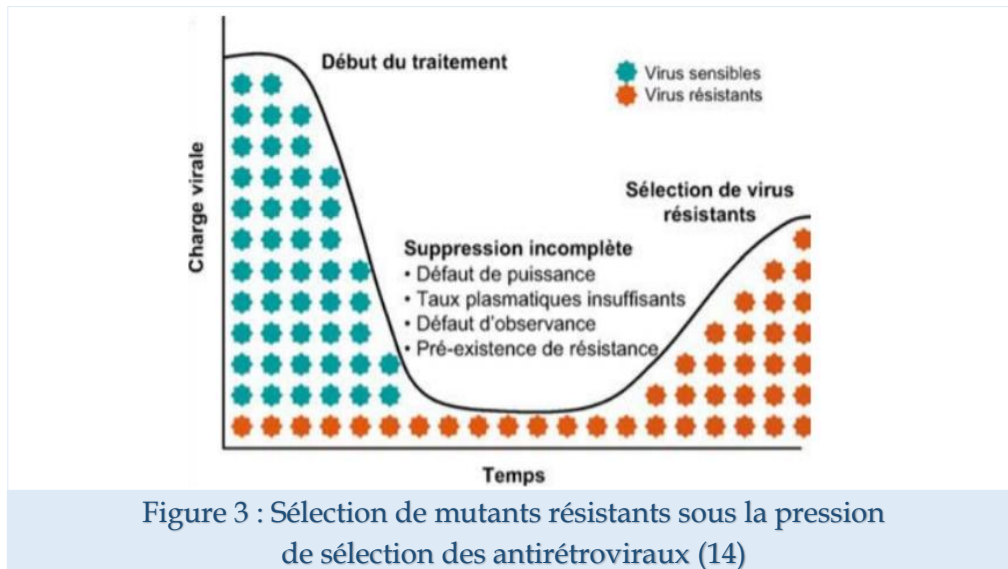


Figure 3 : Sélection de mutants résistants sous la pression de sélection des antirétroviraux (14)

II.4.Mécanismes de résistances aux antirétroviraux

La résistance du VIH peut se définir comme la capacité du virus à se répliquer en présence d'un ou plusieurs ARV à des concentrations inhibant la réplication d'un virus sauvage. Plusieurs catégories de résistances peuvent être distinguées :

- la **résistance acquise** émerge par pression de sélection exercée par la thérapie antirétrovirale ;
- la **résistance transmise** survient chez les patients ayant été directement infectés par une souche résistante ;
- la **résistance pré-thérapeutique** s'observe chez les patients initiant un traitement ARV et dont la population virale présente des résistances soit acquises au cours d'une exposition antérieure (prophylaxie pré ou post-exposition, prévention de la transmission du VIH de la mère à l'enfant), soit transmises ;
- la **résistance naturelle** survient chez des virus n'ayant jamais subi de pression thérapeutique (VIH-2 avec les INNTI par exemple).

Les mutations de résistances évoquées par la suite sont des mutations sur les séquences peptidiques et sont décrites de la manière suivante : « Code IUPAC acide aminé sauvage » puis « Position de la mutation » puis « Code IUPAC acide aminé muté ». Par exemple la mutation « M41L » sur le gène de la TI correspond au remplacement d'une méthionine par une leucine en position 41 du gène codant la TI. L'ensemble des codes IUPAC relatifs aux acides aminés sont résumés en [annexe 1](#). Seuls les mécanismes de résistance acquise aux INTI, INNTI, IP et INI du VIH-1 seront détaillés dans ce chapitre.

II.4.1. Résistance aux inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques de la transcriptase inverse

La résistance aux inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques est liée à deux mécanismes principaux. Le premier consiste en **l'excision de l'analogue nucléosidique incorporé**, ce qui permet ainsi la reprise de l'élongation de la chaîne. Celui-ci est conféré par des mutations appelées *Thymidine Analog Mutations* (TAM). Elles comprennent les mutations M41L, D67N, K70R, L210W, 215Y/F et K219Q/E et sont sélectionnées par les analogues de la thymidine (zidovudine et stavudine) (15,16).

Ces TAM, en fonction du nombre de mutations, peuvent également élargir leur spectre et être responsables de résistances croisées aux autres INTI. Le deuxième mécanisme est lié à la diminution de l'incorporation des analogues nucléosidiques ou nucléotidiques au profit des nucléosides naturels par **perte d'affinité du substrat**. L'incorporation des nucléosides/nucléotides artificiels est ainsi diminuée au profit des naturels. Ce mécanisme « discriminatoire » est essentiellement représenté par les mutations K65R et M184V/I, ainsi que les mutations K70E, L74V, Y115F, et Q151M (17-19). La barrière génétique des INTI, c'est-à-dire leur capacité à ne pas sélectionner des souches résistantes lorsqu'une faible virémie persiste, est variable au sein de cette famille, elle est faible pour la lamivudine (M184V seule suffit à conférer une résistance), élevée pour le ténofovir.

II.4.2. Résistance aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse

Les INNTI inhibent la TI de façon non compétitive en se fixant directement près du site actif de l'enzyme, au niveau d'une poche hydrophobe. Ainsi la présence d'une mutation située près de ce site de fixation (L100I, K101E/P, K103NS, V106A/M, E138K, Y181C/I/V, Y188C/L, G190G/S/A et M230L) entraîne généralement une **perte d'affinité de l'inhibiteur** vis-à-vis de la TI. Ce site de fixation étant identique pour tous les INNTI, cette résistance est croisée à l'ensemble des molécules de cette classe (sauf pour ceux de seconde génération) (20). Les INNTI sont des molécules dont la barrière génétique du VIH-1 est basse : une seule mutation suffit généralement pour conférer une résistance élevée.

II.4.3. Résistance aux inhibiteurs de la protéase

Les IP inhibent compétitivement l'activité de la protéase en se fixant au niveau du site actif de l'enzyme empêchant alors le clivage des polypeptides précurseurs et ainsi la maturation des néovirions. Sous ARV, les mutations majeures sont les premières à être sélectionnées, et **diminuent l'affinité des IP à leur cible enzymatique**. Elles sont généralement situées au niveau du site actif de la protéase (D30N, V32I, L33F, M46I/L, I47A/V, G48V/M, I50L/V, I54V/T/A/L/M, L76V, V82A/F/T/S/L, I84V, N88D/S et L90M) et provoquent une diminution de la capacité répliquative du virus (18). La plupart des mutations entraîne une résistance croisée aux autres molécules de la classe. Viennent ensuite les mutations dites « accessoires » qui renforcent la résistance acquise par les mutations primaires tout en **améliorant la capacité répliquative virale**. Leur barrière génétique est généralement élevée, l'accumulation de mutations étant nécessaire pour conférer un phénotype résistant. La potentialisation par le ritonavir augmente la barrière génétique initiale de l'IP en diminuant l'apparition de mutations de résistance.

II.4.4. Résistance aux inhibiteurs de l'intégrase

Les inhibiteurs de l'intégrase du VIH-1 bloquent l'intégration de l'ADN viral dans l'ADN chromosomique de la cellule en se fixant sur le complexe ADN viral-intégrase au niveau du site catalytique de l'enzyme. Les mutations de résistance les plus fréquentes (E92Q, G140A/S, Q148H/K/R, N155H/S/T et Q184H/K/R) (18,21,22) apparaissent ainsi au voisinage du site actif de l'enzyme et **réduisent l'affinité de fixation** du médicament.

La barrière génétique du VIH vis-à-vis du raltégravir et de l'élvitégravir (INI de première génération) est faible : une seule mutation peut induire d'emblée une résistance complète à ces molécules. Le dolutégravir (INI de seconde génération) présente une barrière génétique plus élevée que les INI de première génération (23).

II.5. Méthodes d'évaluation des résistances aux antirétroviraux

La détermination du meilleur traitement de « sauvetage » pour les patients en échec virologique constitue un véritable défi. L'évaluation des résistances aux ARV permet d'identifier de nouvelles stratégies thérapeutiques. Pour cela, deux approches différentes existent, l'une phénotypique, l'autre génotypique.

II.5.1. Méthode phénotypique

La première approche consiste à mesurer *in vitro*, en présence d'ARV, la réplication virale d'un virus recombinant pour lequel le gène cible *pol* (codant la transcriptase inverse, la protéase, et l'intégrase) a été remplacé par celui du virus du patient. Ce principe est onéreux, difficile à mettre en œuvre au sein d'un LBM (requiert un confinement de niveau 3), et ne permet pas de prendre en compte les phénotypes de résistance des populations virales minoritaires coexistantes au sein d'un même patient. Pour ces raisons, cette technique n'est pas utilisée en pratique courante et ne sera pas détaillée ici.

II.5.2. Méthode génotypique

II.5.2.a. Indications

Le tableau III (13) résume les différentes indications de réalisation d'un test génotypique de résistance aux ARV aujourd'hui en France. Cette analyse est cotée B1100 (soit 297€) à la nomenclature des actes de biologie médicale (24).

| Situations cliniques | Recommandations (niveau de preuve) |
|--|--|
| Lors de la découverte de l'infection, ou avant l'initiation du traitement si non fait antérieurement | Recommandé (AII)* Sans attendre les résultats pour débiter le traitement en cas de primo-infection* |
| Échecs thérapeutiques (2 CV > 50cop/ml) | Recommandé (AII)* |
| Prophylaxie post-exposition | Recommandé chez le sujet source (si charge virale détectable) sans attendre les résultats pour débiter le traitement du sujet exposé dont le choix devra également tenir compte des résultats des génotypages antérieurs disponibles (BIII)* |
| Enfants | Mêmes indications que chez l'adulte (AII)* |
| Grossesse | Recommandé (AII)* |
| Symptômes neurologiques avec ARN VIH dans le LCR | Recommandé dans le sang et le LCR (BIII)* |

*Seront analysés les gènes de la transcriptase inverse, de la protéase et de l'intégrase.

Dans le contexte d'échappement thérapeutique, le test de génotypage doit toujours être réalisé sans interruption de la thérapie antirétrovirale initialement mise en œuvre (13) afin de ne pas masquer la population virale résistante par une population sauvage qui pourrait prédominer en l'absence de pression de sélection (phénomène de « re-sensibilisation »).

II.5.2.b. Principe

L'approche génotypique permet, par séquençage du gène *pol* (mesurant environ 2900 paires de bases et codant la transcriptase inverse, la protéase, et l'intégrase (figure 4 (25)) du VIH-1 d'évaluer la sensibilité virale aux différents ARV en détectant les mutations de résistance.

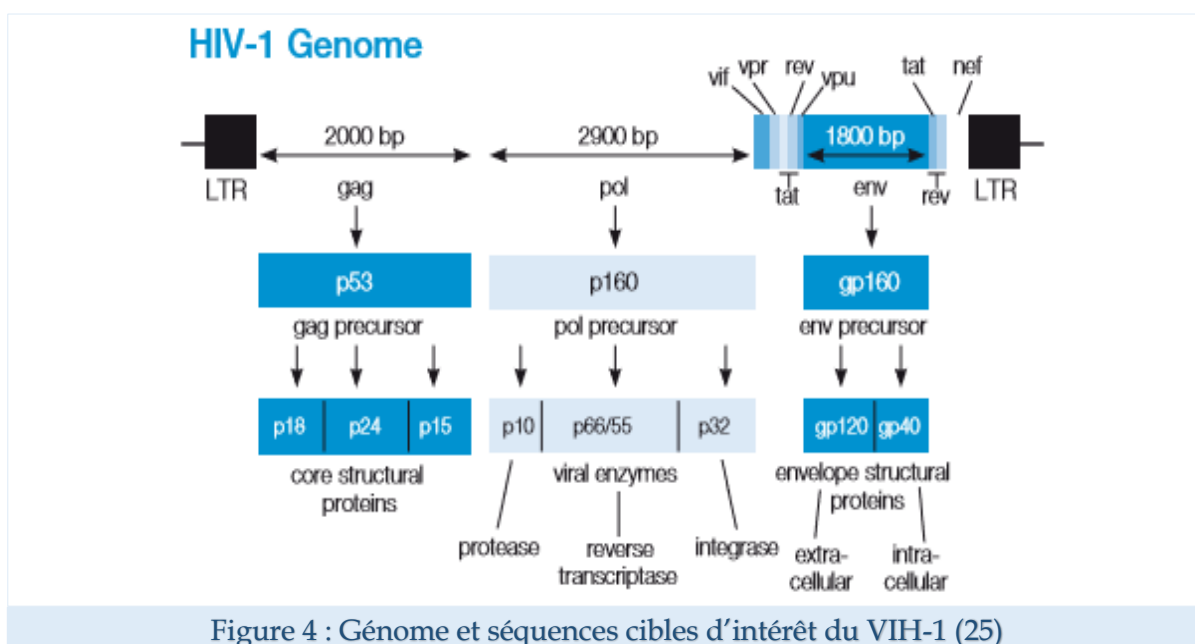


Figure 4 : Génome et séquences cibles d'intérêt du VIH-1 (25)

Le processus de séquençage (figure 5, adapté et modifié de (26)) reprend celui de la méthode de Sanger. Après extraction des acides nucléiques issus d'un plasma recueilli sur éthylènediaminetétraacétique (EDTA), le gène *pol* codant les protéines cibles des ARV (TI, Protéase, Intégrase) est alors amplifié par réaction en chaîne par polymérase après transcription inverse (RT-PCR). Les produits de réaction en chaîne par polymérase (PCR) obtenus sont ensuite séquencés à l'aide d'amorces (sens et anti-sens) en présence de terminateurs de chaîne marqués (didésoxyribonucléotides fluorescents). Les produits de séquençage sont enfin détectés après leur séparation par électrophorèse capillaire.

Ce processus analytique aboutit à un électrophorégramme, qui après alignement, lecture et corrections des différents contigs séquencés, permet d'obtenir la séquence nucléotidique d'intérêt et d'en déduire les éventuelles mutations associées par rapport à un virus sauvage de référence (souche K03455 (27)). Ces mutations sont ensuite interprétées à l'aide d'algorithmes pour déterminer s'il s'agit de mutations de polymorphisme ou de mutations spécifiques de résistances et ainsi d'en prédire le phénotype viral de sensibilité aux ARV. L'identification du sous-type viral par analyse phylogénique de la séquence de la TI est un élément indispensable à l'interprétation génotypique car certaines résistances sont propres à certains sous-types viraux.

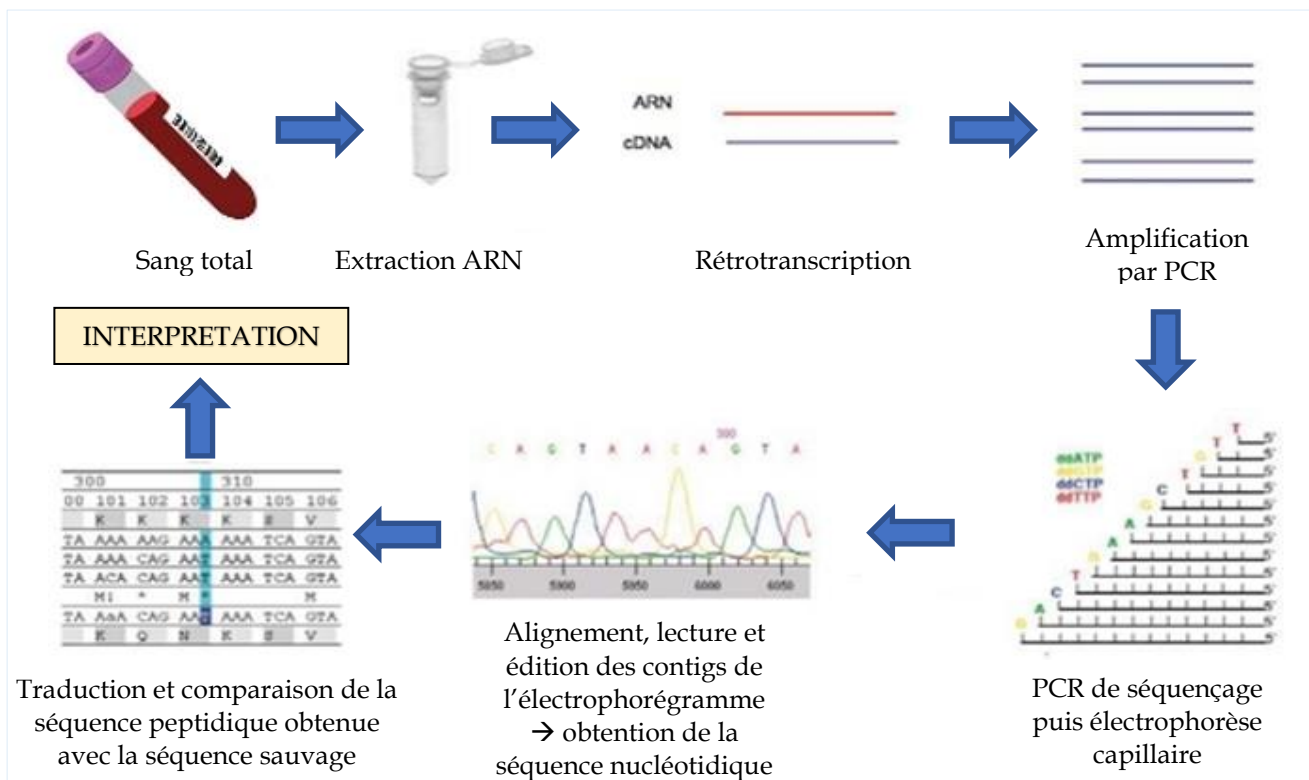


Figure 5 : Processus analytique de l'évaluation génotypique des résistances aux antirétroviraux (26)

Cette technique permet de prendre en compte les populations virales minoritaires (détectables si la proportion est supérieure à 20% de la population majoritaire) présentes au sein d'un même patient. Ainsi, la possible coexistence de plusieurs sous-populations virales différentes génétiquement provoque des ambiguïtés de lecture et donc la présence de bases dégénérées (figure 6). La prise en compte de ces dernières permet alors d'interpréter l'ensemble des mutations des différentes quasi-espèces virales présentes dans le plasma du PVVIH au moment du prélèvement sanguin sous une seule séquence nucléotidique. Cette technique requiert tout de même une CV minimale allant de 200 à 2000 copies/mL (variation selon les souches et les techniques utilisées) pour obtenir un résultat satisfaisant et ne détecte pas les populations minoritaires représentant moins de 20% de la population globale.

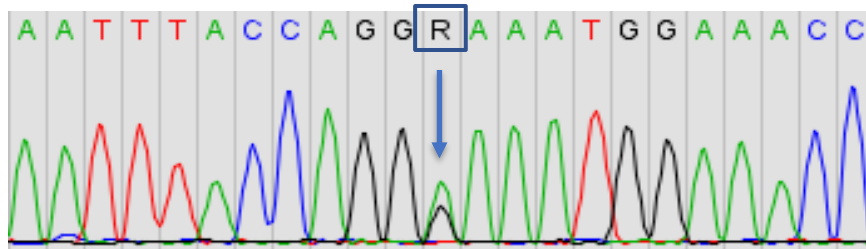


Figure 6 : Base dégénérée détectée sur électrophorégramme de Sanger

Deux souches virales différentes sont observées sur ce fragment dont les séquences sont :

AATTTACCAGG**A**AAATGGAAACC (souche majoritaire),

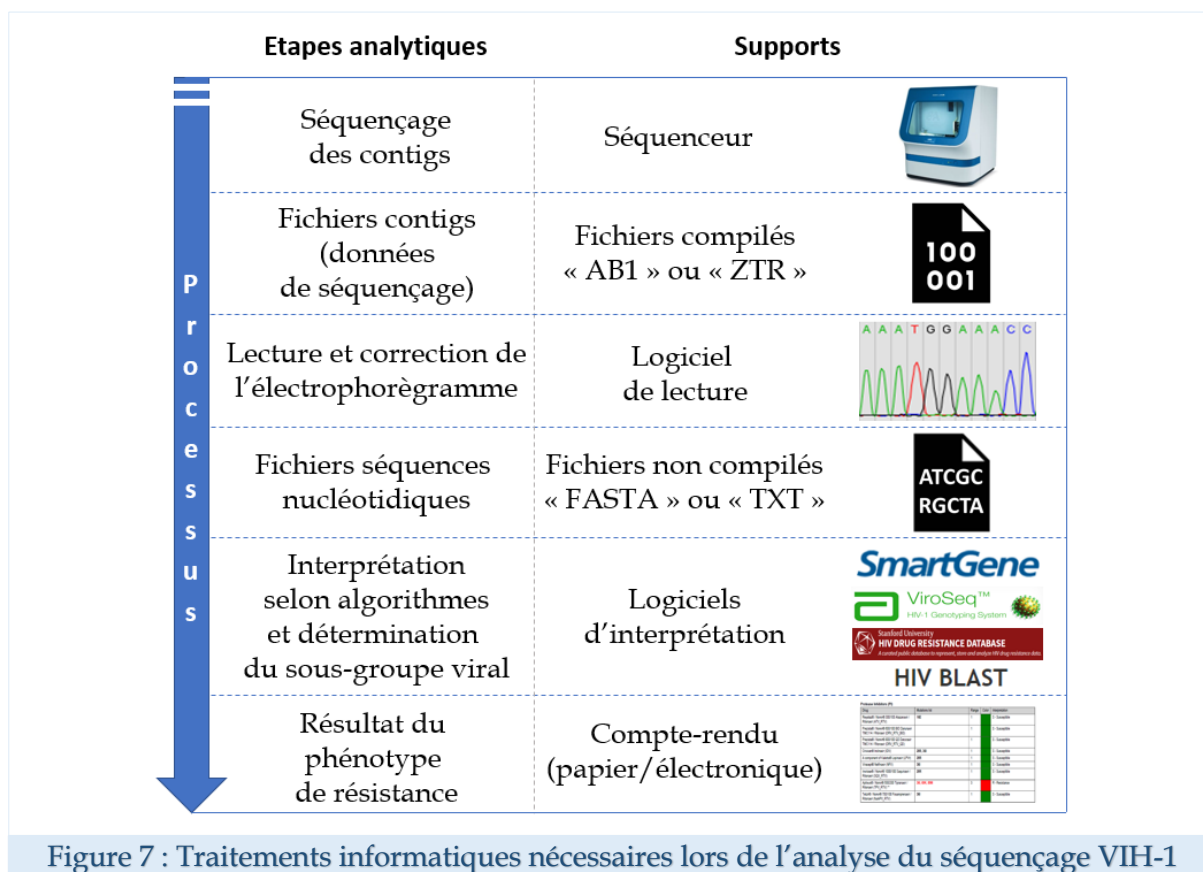
AATTTACCAGG**G**AAATGGAAACC (souche minoritaire).

La séquence consensus est donc :

AATTTACCAGG**R**AAATGGAAACC (où R est une base dégénérée correspondant aux bases A et G).

Les abréviations des bases dégénérées et leurs correspondances sont résumées dans l'annexe 2.

Les données issues du séquençage des différents contigs sont enregistrées sur fichiers compilés (contenant, entre autres, les signaux et résolutions de séquences, et ayant pour extension « AB1 » ou « ZTR ») par l'automate de séquençage. Ces derniers sont ensuite lus à l'aide de différents logiciels permettant la visualisation et les éventuelles corrections de l'électrophorègramme pour aboutir à la séquence nucléotidique du gène cible. Cette séquence nucléotidique est ensuite exportée sur fichiers non compilés (ayant pour extension « TXT » ou « FASTA ») et doit être analysée informatiquement dans le but de prédire le phénotype viral de sensibilité selon un algorithme d'interprétation défini. L'ensemble de ces différents traitements informatiques est illustré dans la *figure 7*.



Les techniques de séquençage de nouvelle génération (NGS) sont capables de détecter des variants minoritaires représentant moins de 20% de la population virale et de quantifier ces variants de façon simple, rapide et automatisée (28). Ces techniques sont actuellement en cours de développement et leur acquisition est encore onéreuse.

II.5.2.c. Algorithmes d'interprétation

Les algorithmes d'interprétation de séquences VIH-1 les plus utilisés sont ceux de l'agence nationale de recherche sur le sida et les hépatites virales (ANRS) (29) et Stanford HIVdb (30). Ceux-ci sont publics et régulièrement mis-à-jour. Ils sont composés de règles d'interprétations basés sur la séquence peptidique du gène cible (les mutations silencieuses sont écartées) et évaluent pour chaque ARV le phénotype de résistance. Les algorithmes publiés par l'ANRS discriminent ainsi la sensibilité virale aux ARV en trois phénotypes selon l'état actuel des connaissances : « résistance certaine », « résistance possible » ou « sensible ».

Afin d'appréhender les différents types de règles d'interprétations, plusieurs exemples issus de l'algorithme ANRS VIH-1 2018 v28 (29) seront commentés.

➤ *Les règles « simples »*

Ce premier type de règle prédit la résistance à un ARV donné par la présence d'une mutation identifiée. Par exemple, la présence de la mutation I50L et/ou N88S induit une résistance certaine à l'atazanavir boosté par ritonavir (ATV/RTV) (figure 8 (29)).

| | Mutations associated with resistance |
|----------------------------------|--|
| ATV/RTV 300/100 mg QD | <ul style="list-style-type: none"> • I50L • N88S |

Figure 8 : Premier exemple de règles d'interprétation « simples » de l'algorithme ANRS v28 (29)

D'autres règles sont construites sur le même modèle mais requièrent la coprésence de plusieurs mutations parmi un ensemble défini. Par exemple (figure 9 (29)), la souche virale est résistante au lopinavir boosté par ritonavir (LPV/r) si sont présentes sur le gène codant la protéase au moins 4 mutations parmi :

- L10F/I/R/V ;
- K20M/R ;
- L24I ;
- L33F ;
- M46I ;
- I50V ;
- F53L ;
- I54M/L/T/V ;
- L63P ;
- A71I/L/V/T ;
- V82A/F/S/T ;
- I84V ;
- L90M.

Il est à noter que le cumul d'éventuelles mutations sur un même locus n'est pas pris en compte, ce peut être notamment le cas lors de la présence de bases dégénérées, ou d'interprétation génotypique cumulée. Par exemple, la coprésence des mutations L10F, L10R et de L10V ne compte que pour une seule mutation de résistance parmi cet ensemble car logées sur un seul et même locus.

| | Mutations associated with resistance |
|--------------|--|
| LPV/r | <ul style="list-style-type: none"> • At least 4 mutations among: L10F/I/R/V, K20M/R, L24I, L33F, M46I/L, I50V, F53L, I54M/L/T/V, L63P, A71I/L/V/T, V82A/F/S/T, I84V, L90M |

Figure 9 : Deuxième exemple de règles d'interprétation « simples » de l'algorithme ANRS v28 (29)

➤ *Les règles « union »*

Ce deuxième type de règle nécessite l'association de la présence d'une mutation avec la coprésence de mutations parmi un ensemble défini. Comme précédemment, le cumul d'éventuelles mutations sur un même locus n'est pas pris en compte. Par exemple (figure 10 (29)), pour qu'une souche virale soit résistante à l'indinavir (IDV), celle-ci doit présenter la mutation L90M associée à au moins 2 mutations parmi l'ensemble suivant :

- K20M/R ;
- L24I ;
- V32I ;
- M36I ;
- I54V/L/M/T ;
- A71V/T ;
- G73S/A ;
- V77I.

| | Mutations associated with resistance |
|------------|--|
| IDV | <ul style="list-style-type: none"> • L90M and at least 2 among: K20M/R, L24I, V32I, M36I, I54V/L/M/T, A71V/T, G73S/A, V77I |

Figure 10 : Exemple de règles d'interprétation « union » de l'algorithme ANRS v28 (29)

➤ *Les règles « score »*

Un troisième type de règles fait intervenir la notion de score entre mutations de résistance et mutations de protection s'opposant aux mécanismes de résistance. La résistance virale pour un ARV est acquise si la différence de la somme des mutations de résistance et de la somme des mutations de protection est supérieure ou égale à un score défini. Par exemple (figure 11 (29)), une souche virale est résistante au tipranavir boosté par ritonavir (TPV/RTV) si elle présente un score supérieur ou égal à 3 où :

- ces mutations de résistance comptent pour « +1 » point :
 - M36I/L/V,
 - Q58E,
 - H69I/K/N/Q/R/Y,
 - L89I/M/R/T/V,
- ces mutations de protection comptent pour « -1 » point :
 - F53L/W/Y.

Comme précédemment, le cumul d'éventuelles mutations sur un même locus ne compte que pour une seule occurrence. Par exemple, une souche présentant les mutations M36I, M36L, F53W et Q58E présente un score de +2.

| | Mutations associated with resistance |
|-----------------------------------|---|
| TPV/RTV 500/200 mg BID | <ul style="list-style-type: none"> • At least a score of + 3*: M36I/L/V – F53L/W/Y + Q58E + H69I/K/N/Q/R/Y + L89I/M/R/T/V |

Figure 11 : Exemple de règles d'interprétation « score » de l'algorithme ANRS v28 (29)

➤ *Les règles associées à un sous-type viral*

Ce dernier type de règles ne s'applique qu'à certains sous-types viraux. C'est notamment le cas d'une règle (figure 12 (29)) conférant la résistance à la névirapine (NVP) si la souche virale est de sous-type C et présente la mutation A98S.

| | Mutations associated with resistance |
|------------|--|
| NVP | <ul style="list-style-type: none"> • A98S (for HIV-1 subtype C only) |

Figure 12 : Exemple de règles d'interprétation associées à un sous-type viral de l'algorithme ANRS v28 (29)

II.5.2.d. Génotypes cumulés

Il est aujourd'hui recommandé d'effectuer la réinterprétation des résultats des éventuels anciens tests génotypiques avec l'algorithme le plus récent et de tenir compte de l'analyse du génotype cumulé (c'est-à-dire de prendre en considération toutes les mutations présentes sur le dernier test de résistance mais également celles identifiées par les tests antérieurs) lors de la réalisation d'une nouvelle évaluation de la résistance aux ARV chez un PVVIH (13). L'intérêt du génotype cumulé a été démontré dans plusieurs études récentes et permet de prédire un phénotype de sensibilité global tenant compte des mutations de toutes les populations virales observées au cours de la vie d'un PVVIH. (31,32). Les génotypes cumulés sont construits sur l'ensemble des précédents tests génotypiques d'un même patient : les mutations observées lors de chaque test de génotypage sont cumulées (figure 13).

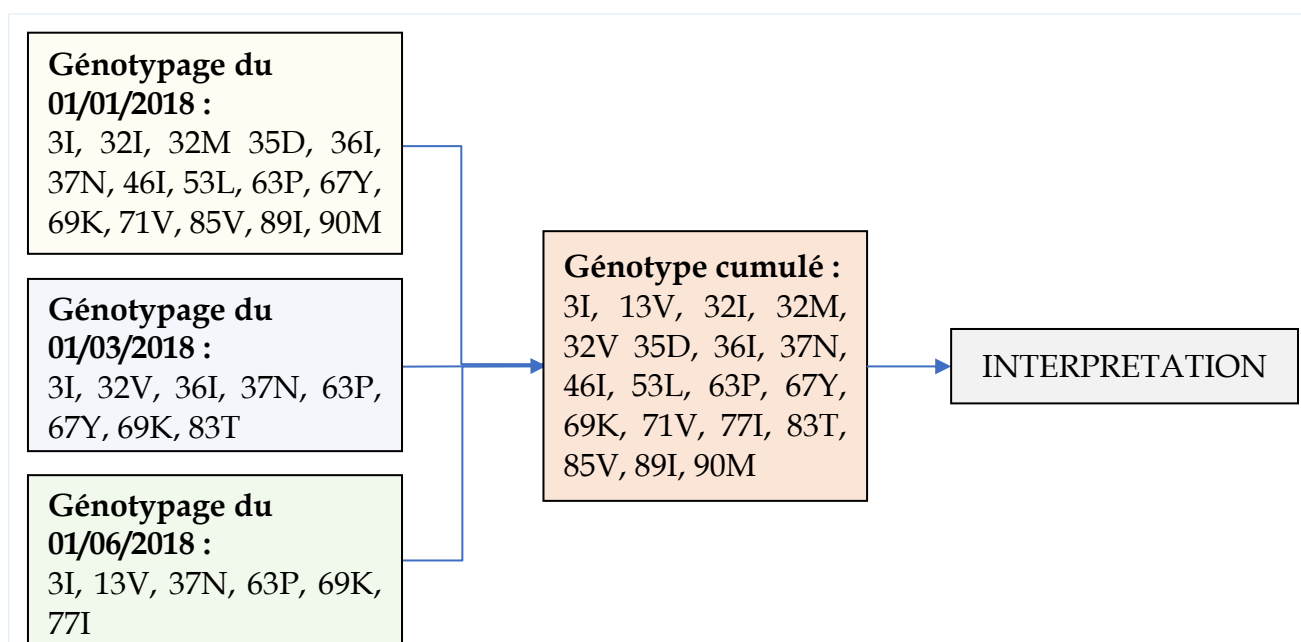


Figure 13 : Exemple de génotype cumulé sur la séquence de la protéase

Ce cumul de mutations à travers le temps permet de tenir compte des populations virales présentes par le passé mais potentiellement indétectables (proportion inférieure à 20% de la population majoritaire) au moment présent. Ces dernières pourraient effectivement réémerger en présence d'une pression de sélection exercée par un nouveau traitement antirétroviral et ainsi induire un échec virologique. Les mutations cumulées sont soumises aux mêmes algorithmes d'interprétation que précédemment.

A l'heure actuelle, il n'existe pas de solution logicielle permettant de construire et d'interpréter, de manière automatisée, un génotype cumulé à partir des antécédents d'un patient en respectant la réglementation de protection des données personnelles¹.

¹ L'application SmartGene© IDNS® offre la possibilité d'interpréter des génotypes cumulés. Cependant cette application n'est pas agréée à héberger des données de santé. Ainsi, l'identification du patient, nécessaire pour y confronter l'ensemble de ses antécédents, qu'elle soit de manière explicite (nom, prénom) ou implicite (numéro d'hospitalisation, numéro interne au LBM, ...) y est non réglementaire vis-à-vis du droit européen (33). Le biologiste médical français n'est donc pas autorisé à utiliser cette fonctionnalité.

II.5.2.e. Logiciel de lecture d'électrophorégramme et d'interprétation de séquences

De nombreux logiciels, libres ou commerciaux, existent (tableau IV) et peuvent se distinguer en deux groupes (certains possèdent la double fonctionnalité) :

- ceux dont la fonctionnalité est de lire, et d'éditer les données brutes issues du séquençage (fichiers AB1 ou ZTR) en permettant à l'utilisateur de visualiser/éditer l'électrophorégramme afin d'obtenir la séquence nucléotidique des gènes étudiés ;
- ceux chargés d'interpréter les séquences nucléotidiques (fichiers FASTA ou TXT) pour évaluer la résistance virale aux ARV selon un algorithme déterminé.

Tableau IV : Tableau comparatif des principaux logiciels relatifs au géotypage VIH-1 disponibles actuellement

| Logiciels | SmartGene® IDNS® | Abbott® Viroseq™ | Stanford HIVdb | Greg+ | ThermoFisher® SeqScape® | SeqTrace |
|----------------------------------|---------------------------------|---|---------------------|------------|-------------------------|-------------|
| Licence | Commerciale (annuelle) | Commerciale (fournie avec le kit réactif) | Gratuitiel | Gratuitiel | Commerciale | Libre (GNU) |
| Support / mise à jour | ✓ | ✓ | ✓ | ○ | ✓ | ✓ |
| Alignement des contigs | ✓ | ✓ | ○ | ○ | ✓ | ✓ |
| Visualisation des contigs | ✓ | ✓ | ○ | ○ | ✓ | ✓ |
| Edition des contigs | ✓ | ✓ | ○ | ○ | ✓ | ✓ |
| Bases dégénérées | ✓ | ✓ | ✓ | ○ | ✓ | ✓ |
| Traduction peptidique | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ○ | ○ |
| Interprétation géotypique | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ○ | ○ |
| Géotypes cumulés | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| Algorithmes disponibles | Selon licence (ANRS disponible) | Stanford uniquement | Stanford uniquement | Obsolètes | ○ | ○ |
| Personnalisation des algorithmes | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| Détermination du sous-groupe | ✓ | ○ | ✓ | ○ | ○ | ○ |
| Epidémiologie | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| Aide au management de la qualité | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ |

Légende : ✓ fonctionnalité présente ○ fonctionnalité absente

II.6. Surveillance française de la résistance aux antirétroviraux

L'infection à VIH est une maladie à déclaration obligatoire (DO). La surveillance française de l'épidémie repose principalement sur celle-ci. Néanmoins, la DO du VIH est incomplète (68% pour les biologistes médicaux et seulement 42% pour les cliniciens en 2015) (13). La surveillance épidémiologique des résistances du VIH aux ARV, non évaluée par la DO, est un élément indispensable de la stratégie de lutte contre le VIH et est essentiellement effectuée par des études multicentriques menées par l'ANRS. Il n'existe pas de solution automatisée permettant le suivi en temps réel à l'échelle du LBM de la fréquence des mutations de résistance et des phénotypes viraux de résistance ou de polymorphisme.

En 2014, sur une cohorte de 368 patients primo-infectés (< 6 mois) et naïfs de tout traitement, la prévalence d'isolats portant au moins une mutation de résistance (selon l'algorithme OMS 2009), était de 9,2%, soit respectivement 4,3%, 3%, 2,4% et 2,7% pour les INTI, INNTI, IP et INI (13).

La prévalence des résistances virales chez les patients ayant une infection chronique (> 6 mois) mais n'ayant jamais été traités est principalement suivie par les études « Odyssée ». Ainsi en 2010-2011, la prévalence globale de virus portant au moins une mutation de résistance aux ARV dans la protéase ou la TI était de 9% (13).

Depuis 2004, les résistances du VIH-1 aux ARV auprès des patients en échec virologique sont surveillées dans le cadre de l'étude « Multivir ». En 2014, 56% des virus présentaient une résistance à au moins un ARV (INTI : 36% ; INNTI : 32% ; IP : 20% ; INI : 12%). La proportion de patients comportant un virus résistant à tous les ARV d'une même classe était de 3,5% pour les INTI, 9,2% pour les INNTI et 1,6% pour les IP et 3,4% pour les INI (13).

Actuellement, la prévalence globale de la résistance aux ARV sous traitement tend à se stabiliser ou à diminuer (34). Les virus multi-résistants sont actuellement principalement retrouvés chez des PVVIH ayant des histoires thérapeutiques anciennes et complexes.

II.7. Management de la qualité au laboratoire de biologie médicale

Depuis le 16 janvier 2010 (35), la législation française relative à la biologie médicale impose la mise en place de l'accréditation de tous les LBM publics et privés. Ces derniers doivent être accrédités sur la totalité de leur activité au plus tard le 31 octobre 2020 selon les exigences de la norme NF EN ISO 15189 (36).

Celle-ci définit, entre autres, les exigences techniques auxquelles les LBM doivent se conformer et portent sur :

- le personnel ;
- les locaux et conditions environnementales ;
- le matériel de laboratoire (dont réactifs et consommables) ;
- les processus pré-analytiques, analytiques et post-analytiques ;
- la garantie de qualité des résultats ;
- le compte rendu des résultats et leur diffusion ;
- la gestion des informations de laboratoire.

Concernant l'analyse de l'évaluation génotypique des résistances aux ARV, seules les exigences relatives à la gestion des consommables, aux processus analytiques et à la garantie de qualité des résultats seront évoquées ici. Le LBM doit définir sa propre politique de gestion du management de la qualité permettant de se conformer à l'ensemble de ces exigences.

La maîtrise de la traçabilité des consommables critiques est indispensable. Pour les réactifs, la date de réception au LBM, ainsi que les dates, de première utilisation, de préparation ou de reconstitution, les dates de péremption avant et après ouverture, sont à enregistrer ainsi que les références des lots. Ces informations doivent être tracées et disponibles. Cela impose que pour chaque analyse de génotypage VIH-1, le LBM doit maîtriser l'ensemble de ces éléments pour tout réactif utilisé (mix de PCR, de séquençage, réactifs de purification, ...).

Les exigences relatives aux processus analytiques imposent la réalisation par le LBM d'une validation/vérification initiale dans le but de confirmer sur site les performances de la technique annoncée par le fabricant. Celle-ci est complétée tout au long de l'utilisation de la méthode. Certains paramètres critiques comme la température et les effets de bord sur plaque des thermocycleurs doivent être suivis. Par exemple, le LBM doit maîtriser la traçabilité des positions des échantillons sur les différents supports de thermocycleurs utilisées pour chaque série d'analyse de génotypage VIH-1.

La vérification continue des performances du couple équipements-réactifs lors de l'utilisation impose la mise en place de contrôles de qualité afin d'apporter une preuve permanente de la validité des résultats rendus et une vérification en temps réel de la maîtrise des processus analytiques. Le LBM met en œuvre des contrôles de qualité internes (CQI), à l'aide de matériaux de contrôle (virus issus de plasma internes, virus de référence, ...) associé à une évaluation externe de la qualité consistant en la comparaison interlaboratoire des séquences nucléotidiques de virus distribués à l'ensemble des LBM participants. Le CQI sera un virus de référence dont la séquence mesurée sera comparée avec celles obtenues lors des séries analytiques précédentes. La stricte concordance dans le temps des séquences mesurées du CQI permet de prouver en continu la maîtrise, la robustesse et la reproductibilité du processus analytique.

Le processus de génotypage VIH-1 est un processus complexe, principalement manuel. La démarche d'accréditation exige de multiplier les points à maîtriser en continu. Il n'existe actuellement aucun outil informatique capable de gérer dans un même environnement l'ensemble des exigences techniques mentionnées précédemment, rendant l'accréditation de la technique contraignante à mettre en œuvre.

III. OBJECTIFS

Ce travail a pour finalité la création, le développement et le déploiement d'une solution informatique open source capable de gérer l'activité du génotypage VIH-1 au sein du LBM.

Ses fonctionnalités ont été développées pour venir en soutien à l'activité du biologiste médical en permettant d'automatiser plusieurs processus relatifs à cette analyse pour lesquels aucune solution commerciale n'est pleinement satisfaisante.

Il s'agit notamment des interprétations de séquences génotypiques dans le but d'évaluer les résistances virales aux ARV, y compris des interprétations génotypiques cumulées, mais aussi de la mise en œuvre d'outils permettant une maîtrise du système de management de la qualité au LBM. Sont notamment possibles la gestion et le suivi des CQI, le suivi de réactovigilance, mais aussi le calcul d'indicateurs qualité, indispensables pour l'évaluation continue des performances de la méthode utilisée. Ce logiciel a également été conçu pour faciliter le suivi épidémiologique de manière poussée à l'échelle du LBM et ainsi permettre l'identification de nouvelles mutations de résistance.

Conformément aux exigences relatives au système d'information de laboratoire (SIL), l'application requiert une authentification de chacun des utilisateurs, et dispose d'une traçabilité complète de chacune des actions effectuées au sein du logiciel.

Une version de démonstration est accessible à l'adresse suivante : www.qualivih.fr en cliquant sur le bouton « Démonstration » du formulaire d'authentification.

L'application sera distribuée sous licence open source durant le premier trimestre de 2019.

IV. MATERIELS ET METHODES

Ce chapitre détaille le développement d'une solution informatique autonome, et originale, QualiVIH, créée dans le but d'automatiser certains processus liés à l'activité du génotypage VIH-1 au LBM. Comme tout logiciel, le processus de développement de l'application suit un cycle de vie. La conception du système débutera après la spécification des besoins et des exigences des clients. Une fois le cahier des charges établi, la programmation logicielle des différentes fonctionnalités pourra débuter pour aboutir à une première version du produit fini. Tout au long de ce cycle de développement, de nombreuses phases de tests permettront de valider la réponse apportée par le logiciel face aux besoins des clients. Enfin, le support et la maintenance permettront d'apporter les correctifs nécessaires à l'amélioration continue du logiciel.

IV.1. Cycle de développement

QualiVIH a été développé selon un cycle de vie « en V » (figure 14 (37)), considéré comme un standard de l'industrie logicielle depuis les années 1980 (38) dont les principales étapes sont :

- la **spécification** : définition des besoins et exigences ;
- la **conception préliminaire** : analyse et conception globale du système ;
- la **division du système en composants** pour lesquels on réalisera :
 - la **conception détaillée** : analyse et conception du composant,
 - le **codage** : programmation du composant,
 - les **tests unitaires** : tests isolés du composant,
- les **tests d'intégration** : tests globaux du système ;
- les **tests de validation** : validation du logiciel par le client et les utilisateurs ;
- la **maintenance** : suivi et support de l'application post déploiement.

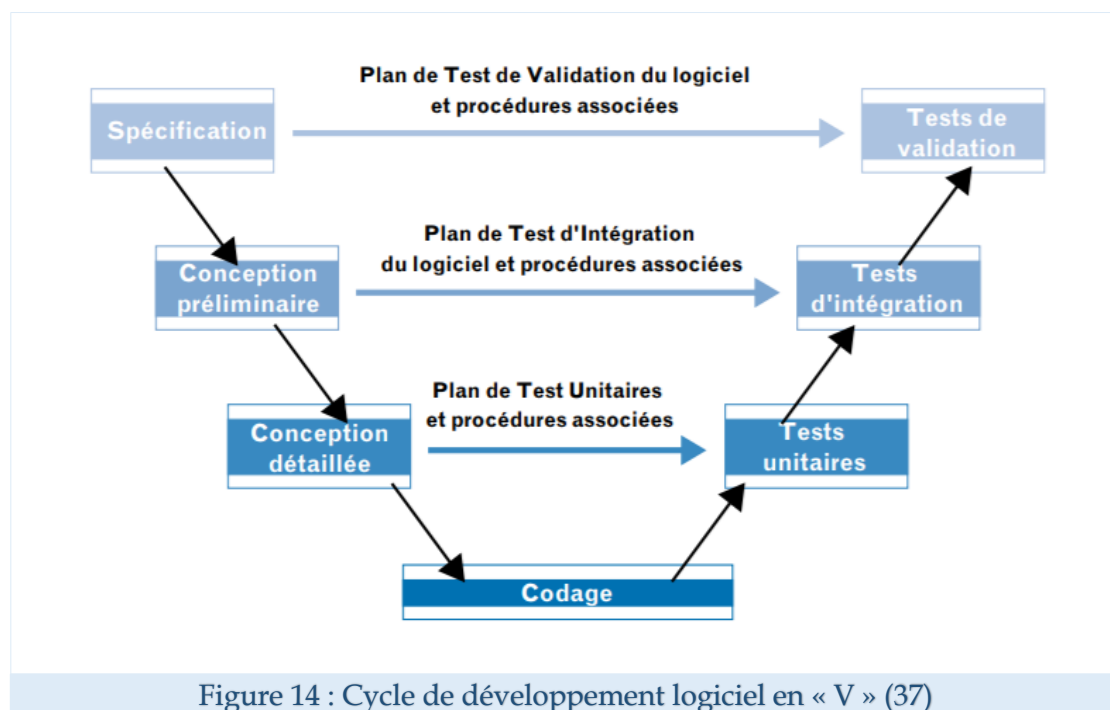


Figure 14 : Cycle de développement logiciel en « V » (37)

Les phases d'analyses des besoins seront restreintes ici à la description du cahier des charges et seront modélisées par des diagrammes de contexte, de paquetages et de cas d'utilisations selon le langage de modélisation unifié (UML) (39).

IV.2. Analyse des besoins et des contraintes

IV.2.1. Public cible

QualiVIH est destiné à être déployé au sein des LBM procédant à l'analyse du génotypage VIH-1 afin d'être utilisé par les équipes techniques et biologiques.

IV.2.2. Analyse des besoins

L'application doit permettre de répondre à de nombreux besoins, sous une interface graphique simple, ergonomique et sécurisée.

Le principal besoin exprimé est double :

- il est d'ordre médical : il s'agit d'interpréter isolément un génotype viral selon les algorithmes d'interprétations désirés, mais aussi de réinterpréter et de cumuler automatiquement l'ensemble des génotypes disponibles d'un même patient afin d'obtenir un phénotype unique de résistance ;
- il est relatif au management de la qualité au sein du LBM : l'accréditation de cette technique fastidieuse et manuelle nécessite un système efficient de suivi des CQI et de traçabilité analytique (consommables/équipements utilisés).

Il en découle alors des besoins secondaires tels que la nécessité :

- d'importer et de stocker en base de données (BDD) des données de séquençage sans retranscription humaine, par lecture directe de fichiers (séquences FASTA, ...), ou à défaut de façon manuelle lorsque seules des données sur support papier subsistent (il s'agit d'un fait récurrent relatif aux analyses réalisées il y a plusieurs années lorsque le support informatique faisait défaut, ou celles réalisées au sein d'un autre LBM) ;
- de suivre, en temps réel, l'épidémiologie virale rencontrée au sein des patients suivis au LBM et d'être capable de mettre en place des requêtes pertinentes pour mieux informer les prescripteurs sur la prévalence des résistances aux ARV ;
- de maîtriser la traçabilité concernant l'analyse de séquençage du génome viral VIH-1 de manière exhaustive et automatisée et ainsi d'être capable de mener des actions de réactovigilance rapidement ;
- de suivre, en temps réel, des indicateurs mis en œuvre par le LBM dans le but de mettre en place des actions préventives et/ou curatives ;
- d'offrir la possibilité de paramétrer, sous interface graphique, les différents algorithmes d'interprétation et les molécules d'ARV ;
- de tracer et de visualiser chaque action d'écriture en BDD au sein même de l'application ;
- de permettre la communication de résultats d'interprétations (par export de compte-rendu, par connexion au SIL du LBM, ...)
- d'authentifier chaque utilisateur, et de gérer leurs privilèges conditionnant leurs accès aux différents composants du logiciel.

IV.2.3. Problématique

A l'heure actuelle, le LBM du centre hospitalier régional de METZ-THIONVILLE (CHRMT) dispose des logiciels Abbott® ViroSeq HIV-1 Genotyping System et SmartGene© IDNS® et les besoins précédemment exprimés n'y sont pas entièrement satisfaits :

- La technique de séquençage VIH-1 (RT-Protéase et intégrase) n'est pas accréditée selon les exigences de la norme NF EN ISO 15189 imposée au LBM. La mise en œuvre de la traçabilité est incomplète et ne satisfait pas les exigences normatives.
- Les solutions commerciales interprétant les séquences VIH-1 ne permettent pas de rendre des génotypes cumulés. Ces dernières sont onéreuses et ne peuvent prendre en compte les archives « papiers » disponibles au LBM.
- Les génotypes « cumulés » et les réinterprétations d'anciens génotypages (absence de fichiers AB1) sont réalisés manuellement à l'aide de classeurs Microsoft® Office Excel (fichiers XLS). Leur mise en œuvre est fastidieuse, et le risque d'erreurs est omniprésent devant l'importance des saisies manuelles.
- L'épidémiologie ne peut être suivie que par saisie manuelle de l'ensemble des données. Aucune automatisation n'est possible en l'état.

IV.2.4. Contraintes matérielles

L'application doit pouvoir être installée sur tout type de réseau des LBM (hospitaliers ou libéraux). Cette condition contraint à limiter les dépendances logicielles de QualiVIH : elle doit ainsi être autonome, et doit pouvoir fonctionner sur un parc matériel et logiciel hétérogène voire parfois même obsolète (variation du système d'exploitation, navigateurs web non à jour, ...).

IV.2.5. Contraintes réglementaires vis-à-vis du traitement de données de santé

Bien qu'il n'y ait actuellement aucune donnée nominative enregistrée au sein de l'application QualiVIH, celle-ci traite néanmoins des données de santé, notamment l'identifiant patient et l'identifiant du dossier de l'analyse inhérent au LBM. Elle doit donc être stockée sur un hébergement agréé au traitement de données de santé, ce qui est le cas de l'intranet des LBM où est traité l'ensemble des dossiers médicaux des patients.

IV.3. Conception préliminaire

IV.3.1. Architecture logicielle

Afin de permettre un déploiement aisé au sein des LBM, il a été choisi de créer l'application sous un environnement client/serveur (figure 15 (40)) :

- l'environnement client/serveur est parfaitement adapté au milieu des LBM qui disposent d'un intranet, réseau agréé et sécurisé où sont hébergées des données médicales ;
- il est également robuste vis-à-vis de la configuration du parc informatique car seul un navigateur web est requis côté client ;
- de nombreux utilisateurs peuvent se connecter en même temps sur l'application et travailler sur une même BDD sans conflit de lecture/écriture de données ;

- il peut également être déployé à grande échelle sur l'internet afin de mettre en œuvre des études multicentriques sous réserve d'être hébergé par un organisme certifié pour l'hébergement de données de santé. Pour des raisons de sécurité, de confidentialité, de réglementation et de coût, cette possibilité est actuellement exclue.

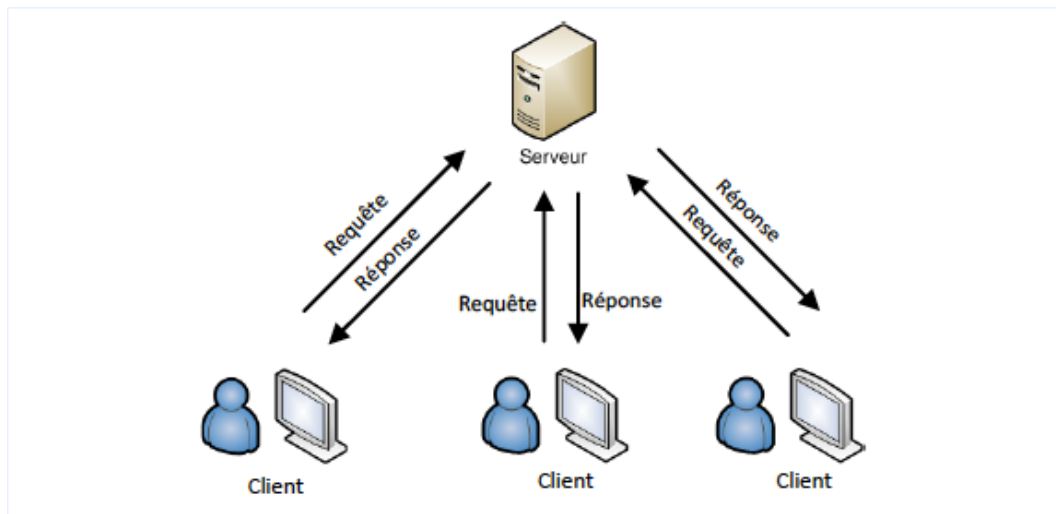


Figure 15 : Architecture simplifiée d'une application client/serveur (40)

Devant ce modèle, le choix du système informatique s'est ainsi porté sur une application web PHP/MySQL® :

- PHP est un langage de programmation libre majoritairement utilisé pour produire des pages web dynamiques (41) ;
- MySQL® est un des systèmes de gestion de base de données relationnelle (SGBDR) les plus utilisés au monde (42), il est également distribué sous licence libre ;
- PHP est un langage interprété toujours exécuté côté serveur, et permet d'interagir avec le système de gestion de bases de données MySQL® pour générer des pages web dynamiques sur le poste client (figure 16 (40)).

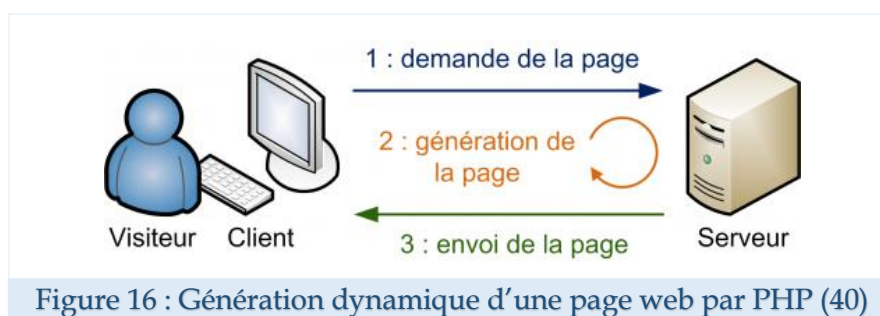
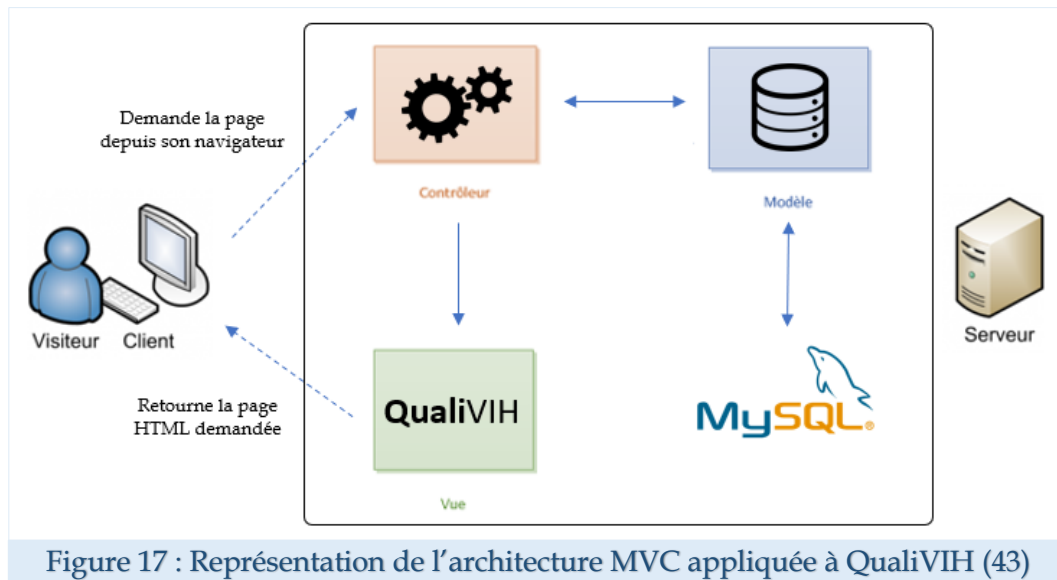


Figure 16 : Génération dynamique d'une page web par PHP (40)

Enfin, l'application se base sur une architecture Modèle-Vue-Contrôle (MVC) (figure 17 adaptée et modifiée de (43)) qui consiste en la séparation logique des données (modèle), de l'affichage (vue) et des actions (contrôle) au sein de l'application :

- Le modèle gère les données de l'application. Il lit les informations présentes en BDD, les organise et les assemble afin d'être ensuite traitées par le contrôleur. On y trouve donc les requêtes SQL servant à exploiter la BDD MySQL®.

- La vue se concentre sur l'affichage. L'ensemble des variables passé par le contrôleur est alors affiché. On y trouve essentiellement du code HTML/CSS associé à d'éventuels scripts PHP permettant l'affichage des variables.
- Le contrôleur gère la logique de l'application. Il joue ainsi le rôle d'intermédiaire entre le modèle et la vue : le contrôleur va demander au modèle les données, les analyser, prendre des décisions et renvoyer le texte à afficher à la vue. Le contrôleur contient exclusivement du langage PHP.



IV.3.2. Contexte de l'application

Différents types d'utilisateurs (dénommés acteurs) au sein du LBM ont accès à l'application (figure 18), chacun devant être authentifié et possédant des privilèges spécifiques :

- l'administrateur ;
- le visionneur ;
- le technicien ;
- le biologiste.

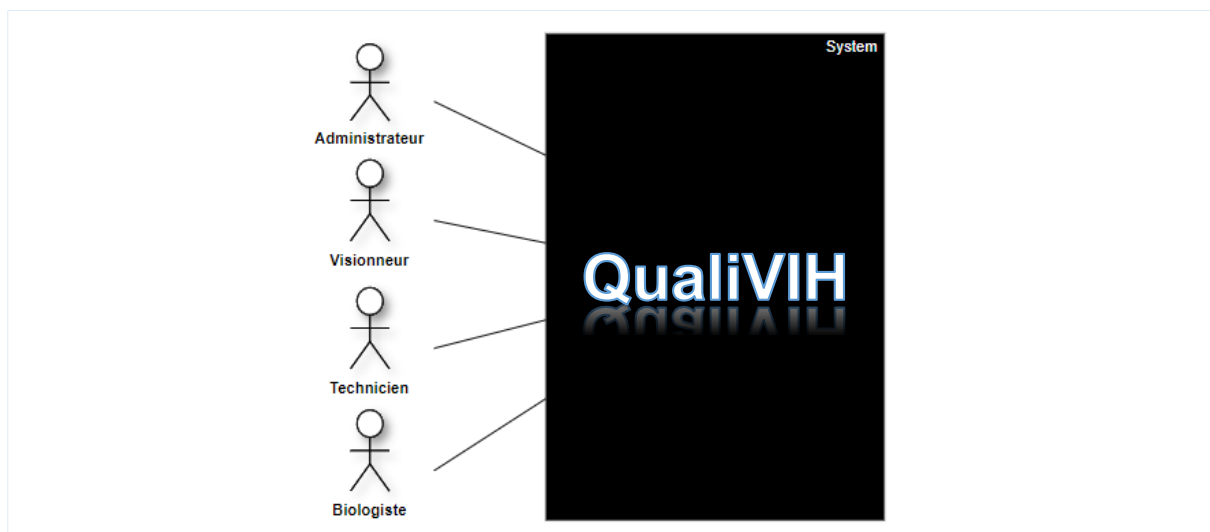


Figure 18 : Diagramme de contexte de QualiVIH

Le diagramme de contexte permet de modéliser les acteurs interagissant avec l'application selon les conventions UML. Il sera complété par le diagramme de paquets une fois ces derniers définis.

IV.3.3. Paquetages de l'application

Grâce à l'architecture MVC, chaque composant sera géré par un contrôleur spécifique. Ce contrôleur, en fonction de la requête client, traitera les données nécessaires à l'aide de son modèle et affichera le contenu dynamiquement dans la vue appropriée. L'architecture MVC permet un développement parallèle aisé de chacun des composants du logiciel.

L'application est ainsi segmentée en plusieurs modules :

- **Administration** : gestion des utilisateurs, sauvegarde BDD, communication avec les différents utilisateurs, fonctions de traçabilité avancée. Ce composant est accessible uniquement par l'administrateur.
- **Gestions des dossiers de génotypage** : import/modification/suppression de dossiers (saisie manuelle, import de fichiers de séquences, traductions de séquences, ...), interprétation de séquences (simples et cumulées). L'administrateur, le biologiste et le technicien ont accès à l'ensemble de ces fonctionnalités, le visionneur ne peut que consulter et interpréter les dossiers.
- **Epidémiologie** : création de requête statistiques et suivi de la population. L'administrateur, le biologiste et le visionneur peuvent utiliser ce module.
- **Gestion de la traçabilité** : import/modification/suppression de dossiers, gestion des CQI, visualisation des indicateurs qualité. Les accès sont ici identiques au composant de gestion des dossiers de génotypage.
- **Paramétrage** : gestion des algorithmes d'interprétations des ARV. Cet accès est réservé uniquement à l'administrateur et au biologiste.

Le diagramme de paquetages (figure 19) suivant permet de modéliser et d'explicitier les accès des acteurs authentifiés aux différents composants de l'application selon les conventions UML (39).

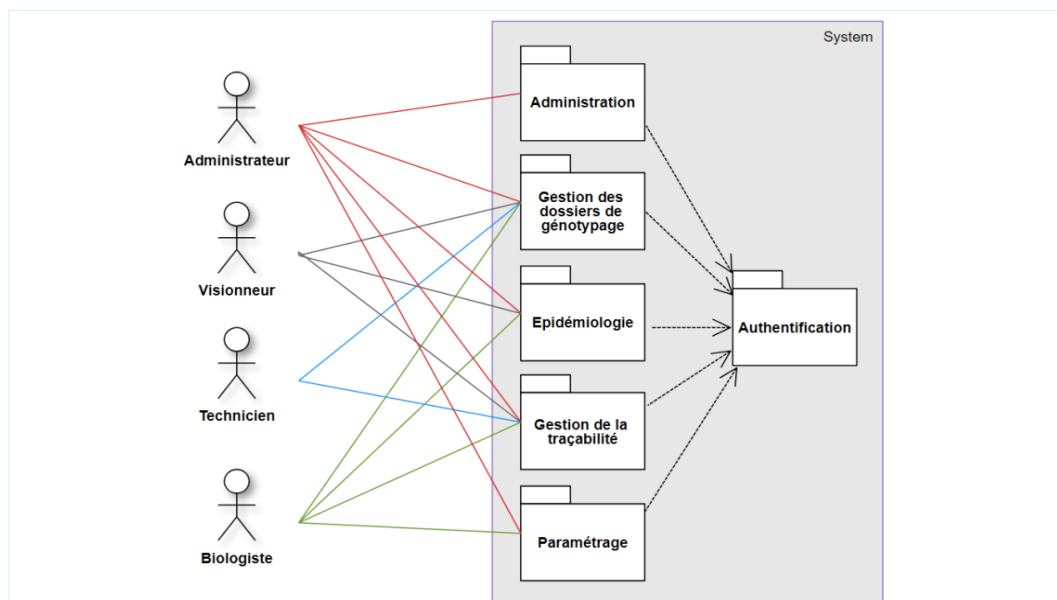


Figure 19 : Diagramme de paquetages de QualiVIH

Le diagramme de paquetages modélise les relations entre acteurs et composants selon le langage UML. Chaque acteur nécessite d'être authentifié pour pouvoir disposer des composants auxquels il a droit.

IV.4. Conception détaillée : exemple du composant de gestion des dossiers de génotypage

La conception détaillée des différents composants correspond à l'analyse logicielle puis à la programmation informatique de ceux-ci. Pour illustrer un exemple de la conception détaillée, le composant de gestion des dossiers de génotypage de l'application sera détaillé dans ce chapitre. Ce module comprend plusieurs fonctionnalités comme l'importation de dossiers, la consultation, modification, suppression et l'interprétation de ceux-ci. L'analyse et la programmation logicielles de ce composant seront décrites pour mieux appréhender l'algorithmique mise en œuvre au sein de l'application. Le codage informatique (figure 20), quant à lui, sera volontairement exclu par simplification (plusieurs dizaines de milliers de lignes de codes sont utilisées uniquement pour le module de gestion des dossiers de génotypage).

```
Genotype.php
1573 // Récupère les ARV paramétrés dans l'algorithme utilisé
1574 $molecule = array_unique($this->genotype_model->get_molecule($tablealgo));
1575
1576
1577 foreach($molecule as $value){ // boucle sur chaque ARV
1578     $famille[] = $this->genotype_model->get_arvname($value);
1579     if(in_array($this->genotype_model->get_arvname($value)['famille'],$present))
1580     {
1581
1582         $muta = $this->genotype_model->get_anrs($value, $tablealgo);
1583         $table = $this->genotype_model->get_cible($value);
1584         $table_arv = '';
1585
1586         if(isset($table[0]))
1587         {
1588             $table_arv = $table[0]; // cible de l'ARV
1589         }
1590
1591         //Initialisation des arrays contenant les mutations
1592         $mutarray = array(); // simple
1593         $scoreposarray = array(); // si score : +
1594         $scorenegarray = array(); // si score : -
1595         $union1array = array(); // si union : ensemble 1
1596         $union2array = array(); // si union : ensemble 2
1597
1598         foreach($muta as $regle){ // boucle sur chaque règle de l'ARV
1599             // variable de la règle
1600             $critere_mutation1 = $regle->mutation_1;
1601             $critere_mutation2 = $regle->mutation_2;
1602             $critere_protection = $regle->protection;
1603             $nb_requis = $regle->requis;
1604             $condition = $regle->score;
1605             $resistance = $regle->resistance;
1606             $gclade = $regle->clade; // sous-type global
1607
1608             // setup des arrays concaténisés
1609             $mut = "mut_{$value}";
1610             $mutcomptereel = array();
1611             $protectioncomptereel = array();
1612             $unioncomptereel = array();
1613             $array = "array_{$value}";
1614             $protection = "protection_{$value}";
1615             $array_protection = "array_protection_{$value}";
1616             $union = "union_{$value}";
1617             $array_union = "array_union_{$value}";
1618
1619             $array = explode(" ", $critere_mutation1); // alimentation de l'array classique (simple, union 1, score -)
1620             $array_protection = explode(" ", $critere_protection); // alimentation de l'array score +
1621             $array_union = explode(" ", $critere_mutation2); // alimentation de l'array union 2
1622
1623
1624
1625             if($table_arv === 'mutation_rt' && in_array('mutation_rt', $present)) // alimentation selon la cible ARV
1626
```

Figure 20 : Extrait de code informatique du contrôleur gérant le composant « Gestion des dossiers de génotypage » de QualiVIH

IV.4.1. Cahier des charges

IV.4.1.a. Importation de données de séquençage

L'importation de données est une fonctionnalité primordiale et critique pour l'application car elle conditionne l'intégrité de l'ensemble du contenu exploité en BDD. Les exigences définies sont :

- Chacune des données d'intérêt doit être renseignée et formatée uniformément de façon à être interprétée correctement au sein de l'application.

- La saisie manuelle étant, par nature, fastidieuse, source d'erreurs, de variabilités inter-opérateurs, et donc, coûteuse en ressource humaine, il a été décidé d'y recourir au minimum pour alimenter la BDD de l'application. Ainsi, plusieurs solutions ont été mises en place pour importer automatiquement des données :
 - importation directe de fichiers de séquences (extensions de fichiers FASTA et TXT). Ces dernières sont traduites puis comparées avec celle de référence (souche K03455 (27)) automatiquement et prennent en charge les bases dégénérées,
 - importation directe de fichiers de pages web enregistrées localement (extension HTML) en particulier de l'application SmartGene© IDNS® utilisée au LBM du CHRMT correspondant aux données à importer.
- A défaut, et notamment pour importer des données contenues sur supports non électroniques (comptes rendus papiers par exemple), il est également possible de saisir manuellement les données (en particulier les mutations observées en s'abstenant de saisir les séquences nucléotidiques). Ces derniers éléments sont en effet utiles à la constitution d'un génotype cumulé tenant compte de l'ensemble des antécédents pour un même patient.
- L'interprétation des séquences doit tenir compte des bases nucléotidiques dégénérées, afin de ne pas négliger le phénotype de résistance de populations virales minoritaires au sein d'un même individu. La traduction de la séquence nucléotidique et la comparaison à la séquence peptidique de référence doit donc tenir compte des bases dégénérées.
- L'importation est une étape sensible (écriture en BDD), elle doit donc nécessiter des privilèges préalablement accordés à l'utilisateur.

IV.4.1.b. Gestion des données importées

Chaque dossier importé doit pouvoir être manipulé simplement dans le but de garder une BDD cohérente. Les objectifs de cette fonctionnalité sont :

- l'accessibilité rapide et aisée pour chaque dossier importé présent en BDD ;
- la possibilité de consulter, modifier ou supprimer chacun des dossiers en fonction des privilèges accordés à l'utilisateur ;
- la possibilité de filtrer la liste des dossiers en fonctions d'éléments pertinents (dates, identifiants, ...).

IV.4.1.c. Interprétation de données

➤ Génotypes simples

Le cahier des charges pour l'interprétation de génotypes isolés est défini ainsi :

- chaque dossier de génotypage doit pouvoir être interprété selon l'algorithme désiré afin de documenter le phénotype de résistance correspondant ;
- la création de nouveaux algorithmes, la commercialisation de nouveaux ARV impose une génération dynamique extemporanée du compte rendu. Une modification de ces données est possible selon les privilèges de l'utilisateur ;
- l'ensemble des données saisies en base doit également être visible sur la même vue que les données d'interprétation.

➤ *Génotypes cumulés*

En plus des exigences définies pour l'interprétation de génotypes isolés, d'autres critères sont imposés pour l'interprétation de génotypes cumulés :

- Si plusieurs dossiers sont rattachés à un même identifiant patient, un accès doit alors être généré pour visualiser l'interprétation du génotype cumulé de ce patient.
- Les mutations de l'ensemble des antécédents doivent être cumulées, les mutations doublons éliminées (pour éviter d'interférer dans les règles d'interprétation), et les mutations différentes mais se produisant sur un même locus ne doivent pas s'additionner. Il est, de plus, nécessaire de prendre en considération l'ensemble des sous-types viraux mis en évidence auparavant afin de documenter certaines résistances propres à chaque sous-type viral.
- Il paraît judicieux de confronter sur une même vue l'ensemble des interprétations des antécédents de génotypes VIH-1 à celle du génotype cumulé et de suivre les apparitions/disparitions des mutations de résistances en fonction du temps et de la thérapie antirétrovirale mise en œuvre chez un même individu.

➤ *Algorithmes*

Les algorithmes utilisés pour les interprétations des génotypes sont régulièrement renouvelés :

- le système de paramétrage d'algorithmes doit donc être simple et ouvert (ne nécessitant aucune connaissance en programmation, et donc sous interface graphique directement au sein de l'application) ;
- l'utilisateur doit avoir la possibilité de créer, modifier, et supprimer des algorithmes librement ;
- l'apparition de nouvelles molécules antirétrovirales impose à l'application une certaine souplesse : il doit être possible de paramétrer dans l'application un nouveau médicament, pour ensuite pouvoir le lier à des règles d'interprétations, pour ensuite l'incrémenter automatiquement dans les différents comptes rendus phénotypiques et épidémiologiques ;
- le paramétrage est considéré comme une fonction critique et doit être restreinte aux utilisateurs responsables.

IV.4.1.d. Diagramme du cas d'utilisation

Le diagramme de cas d'utilisations (figure 21) modélise l'interaction entre les acteurs et les différentes fonctions du paquetage selon le langage UML. Trois acteurs principaux sont présents :

- **Paramétreur** (administrateur et biologistes) : il consulte, ajoute, modifie, supprime, filtre et interprète les dossiers. Il paramètre les algorithmes et sélectionne celui à utiliser.
- **Technicien** : il consulte, ajoute, modifie, supprime, filtre et interprète les dossiers mais n'a pas accès au paramétrage.
- **Visionneur** : il ne peut que consulter et/ou filtrer les dossiers.

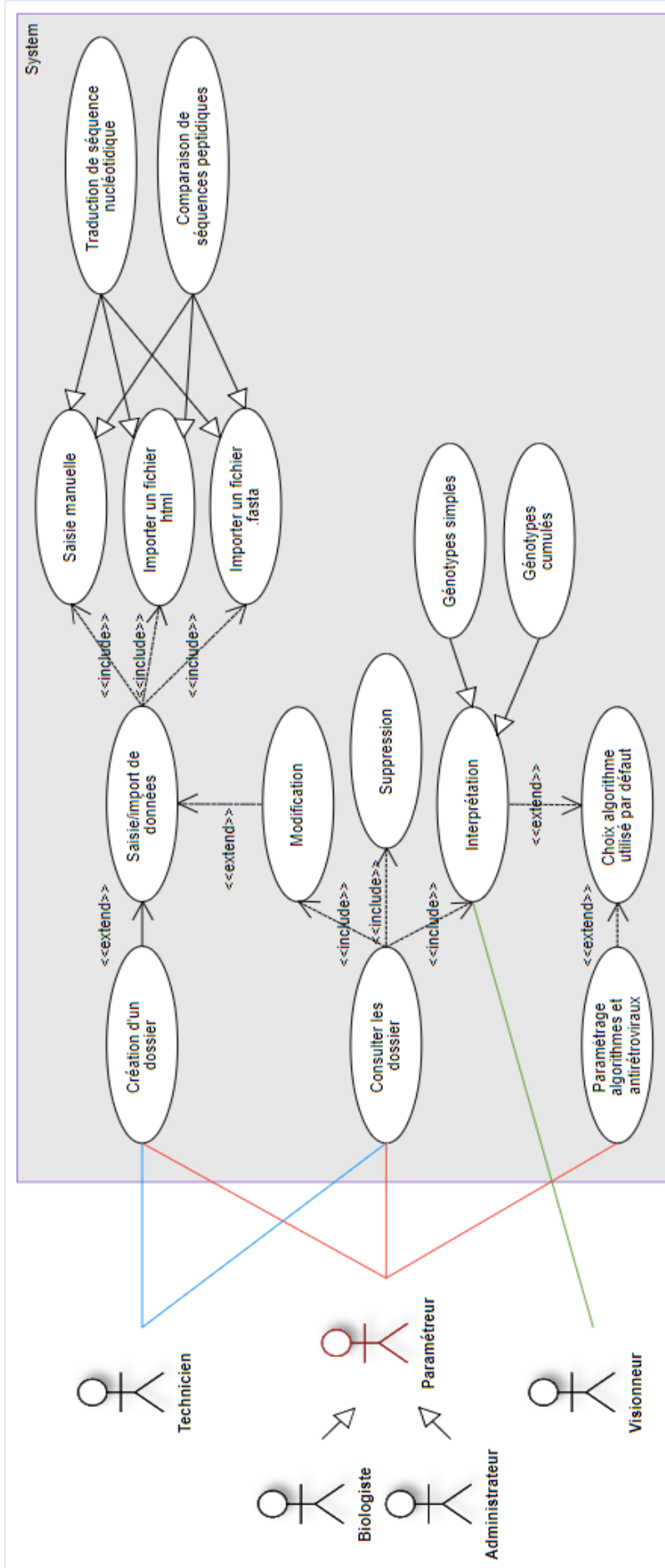


Figure 21 : Diagramme de cas d'utilisations « Gestion des dossiers de génotypage »

L'import ou la modification de dossiers par les acteurs « paramètreur » et « technicien » est possible par saisie manuelle ou par importation directe de données. Celle-ci est agrémentée par les cas d'utilisations internes « traduction de séquence nucléotidique » et « comparaison de séquences peptidiques ». L'interprétation de dossiers préalablement importés requiert la présence d'un algorithme paramétré et l'ensemble des utilisateurs peut choisir d'interpréter chaque dossier individuellement ou cumulativement le cas échéant. Le visionneur ne peut qu'interpréter des dossiers sans possibilité d'écriture en BDD. Enfin, seul le paramètreur peut modifier les algorithmes d'interprétation et choisir celui utilisé par défaut.

IV.4.2. Exemple illustré du codage de la fonctionnalité d'interprétation de génotypes cumulés

Le scénario logique du module d'interprétation de génotypes cumulés est illustré et commenté par la figure 22. Il permet également de schématiser le rôle de l'architecture MVC (le contrôleur et le modèle sont ici considérés comme une seule entité dans un souci de simplification). Il est à noter que ce logigramme est essentialisé et ne tient compte ni de la gestion des erreurs ni des procédures de sécurité mises en place au sein du logiciel.

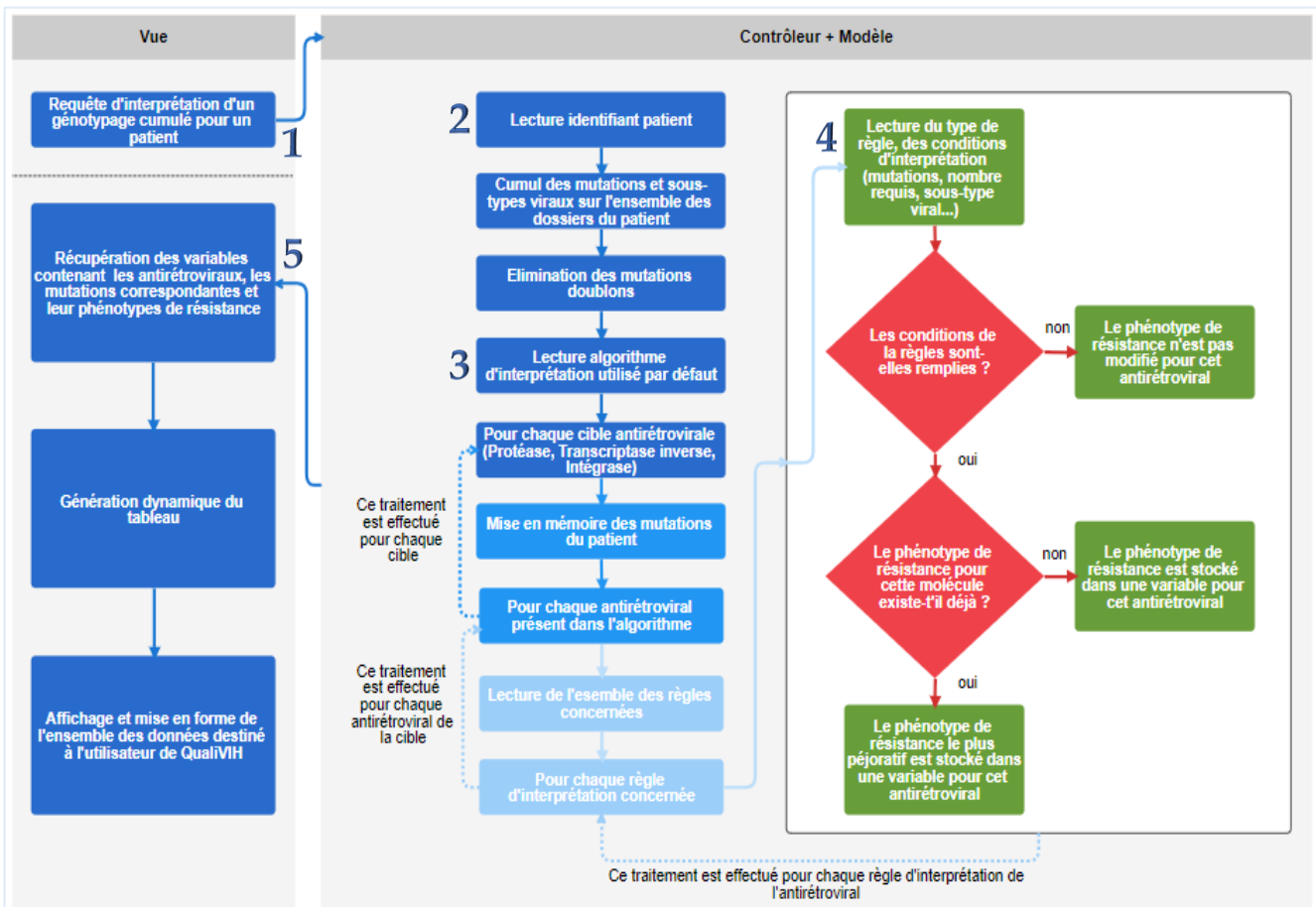


Figure 22 : Logigramme de l'interprétation du génotype cumulé par QualiVIH

1. L'utilisateur désire consulter une interprétation de génotypes cumulés, il exécute donc cette requête pour le patient désiré.
2. Le contrôleur lit alors l'identifiant patient et détecte tous les dossiers enregistrés en BDD qui présentent cet identifiant. Pour chaque dossier, les mutations sont alors cumulées par cible (protéase, transcriptase inverse et intégrase) et les mutations doublons éliminées. Le génotype cumulé est alors constitué et comprend donc toutes les mutations virales mises en évidence chez ce patient.
3. L'algorithme d'interprétation défini par défaut est ensuite lu. Pour chaque cible, chaque ARV présent dans l'algorithme est parcouru. Le cumul des mutations est soumis à l'ensemble des règles d'interprétations de l'algorithme.
4. La confrontation entre chaque règle d'interprétation et les mutations cumulées permet d'en déduire un phénotype de résistance (résistance certaine, résistance possible ou sensible). A chaque itération, et pour un même ARV, le phénotype le plus péjoratif sera retenu (« sensible » < « résistance possible » < « résistance certaine »).
5. Une fois l'ensemble des règles, des ARV et des cibles parcourus, le phénotype global est alors obtenu et sera chargé dans une nouvelle vue qui générera dynamiquement une mise en forme de ces données pour l'utilisateur.

IV.5. Tests logiciels

Après l'achèvement de leur conception, chaque composant est d'abord testé individuellement par des **tests unitaires**. Les tests unitaires permettent de valider de façon indépendante chaque objet élémentaire de l'architecture logicielle et d'évaluer la réponse exprimée aux besoins du cahier des charges. Par exemple, chaque résultat du module d'interprétation de données de séquençage a été vérifié par une étude d'intégrité des données et les résultats ont été comparés avec ceux des solutions commerciales et avec la méthode manuelle sur un nombre conséquent de dossiers (n = 150).

Les interactivités des différents composants entre eux sont ensuite testées, l'application est alors évaluée dans sa globalité par les **tests d'intégration**. Ceux-ci permettent de qualifier le produit fini tel qu'il sera distribué avant d'être déployé pour le faire fonctionner dans l'environnement de l'utilisateur. Il est alors évalué par le client (**test de validation**) avant d'être mis en exploitation.

A l'heure actuelle, QualiVIH est en phase de test de validation par l'équipe du LBM du CHRMT.

IV.6. Maintenance

Après sa mise en production, le système sera ensuite maintenu par le service support : de nouvelles fonctionnalités, des correctifs peuvent être ajoutées, afin de répondre au mieux aux évolutions des besoins clients.

Toute modification du code source d'un composant de l'application entraîne le déclenchement logique d'une nouvelle phase de tests.

V.RESULTATS

QualiVIH (figure 23) est une solution informatique autonome capable d'interpréter des génotypes VIH-1, isolés et cumulés, selon des algorithmes reconnus ou personnalisés. Elle permet également d'automatiser des études épidémiologiques complètes instantanément et de gérer toute la traçabilité inhérente à l'analyse du génotypage VIH-1 au LBM, pour répondre aux exigences de la norme NF EN ISO 15189 imposée aux LBM français. Ses fonctionnalités et sa souplesse en termes de modularité pour s'adapter aux modifications futures (nouvelles molécules antirétrovirales, nouveaux algorithmes d'interprétations) ont nécessité un design et une conception complexes répartis sur 4 langages de programmation (HTML/CSS, PHP, SQL, et Javascript).



Figure 23 : Logo de l'application QualiVIH

Chacune des fonctionnalités de l'application QualiVIH sera présentée dans ce chapitre. D'abord, l'utilisation de ses fonctions et l'interface utilisateur seront explicitées. Enfin l'évolution possible de chacun de ces modules sera évoquée. Une version de démonstration en temps réel est librement accessible à l'adresse www.qualivih.fr.

V.1. Licence

QualiVIH est pour l'instant une application propriétaire, protégée par les droits d'auteurs et déployée gratuitement au sein du CHRMT sous la forme d'un gratuitiel (freeware). L'application est en phase de test de validation par les utilisateurs et deviendra open-source au terme de celui-ci.

V.2. Configuration minimale requise

QualiVIH est une application client/serveur, celle-ci nécessite donc un réseau informatique (réseau intranet par exemple). Aucune spécificité d'installation par rapport à une quelconque application PHP n'est requise pour QualiVIH. Il n'y a pas de dépendance logicielle externe.

V.2.1. Configuration côté serveur

Seuls le SGBDR MySQL® et l'interpréteur de script PHP (5.6+) doivent être installés sur le serveur (à l'aide d'un serveur HTTP Apache par exemple). Le logiciel ne requiert pas de configuration matérielle ou logicielle particulière, et peut, au besoin, être installé sur une machine virtuelle reliée à l'intranet du réseau du LBM. A défaut de réseau informatique, QualiVIH peut également être déployé sur un poste unique en virtualisant le serveur sur un poste local (à l'aide d'un serveur local WAMPServer par exemple). Enfin, le serveur hébergeant l'application n'a aucune nécessité d'être connecté à l'internet.

V.2.2. Configuration côté client

Le système d'exploitation du poste client n'a pas d'impact sur le fonctionnement du logiciel, seule la présence d'un navigateur web installé sur celui-ci est requise. La plupart des navigateurs récents sont compatibles dont Firefox (Mozilla®), Chrome (Google®), Safari (Apple®), Edge/Internet Explorer 11+ (Microsoft®), ... L'activation

de Javascript sur ces derniers (activée par défaut) est requise. QualiVIH n'utilise pas de cookie et n'utilise aucune donnée à des fins commerciales (aucune donnée sortante). Seules sont enregistrées les informations de l'utilisateur visant à garantir la traçabilité interne du système (voir chapitre « V4.8.d Traçabilité »). Si l'intranet le permet, l'application est également compatible pour tablettes numériques et smartphones et possède une interface adaptative (« *responsive design* »), c'est-à-dire que l'agencement des sections affichées est fonction de la résolution de l'écran de l'utilisateur (figure 24).



Figure 24 : Interface adaptative de QualiVIH

V.3. Accès à l'application

QualiVIH est une application PHP/MySQL® actuellement destinée à être déployée sur les réseaux informatiques locaux (Intranet) des LBM. Celle-ci est ainsi accessible directement à partir d'un navigateur web ciblant l'adresse IP du serveur sur lequel est hébergée l'application. QualiVIH ne requiert aucune dépendance, ni aucune application tierce sur le poste client. Bien que compatible avec un déploiement à l'échelle nationale, QualiVIH n'est pas disponible sur l'internet devant les contraintes inhérentes aux traitements des données de santé.

V.4. Fonctionnalités

V.4.1. Accueil et navigation

L'accès à l'ensemble des fonctions de QualiVIH requiert une authentification de l'utilisateur (figure 25). QualiVIH propose différents types de compte (administrateur, biologistes, techniciens et visionneurs) et seul l'administrateur a la possibilité de créer/modifier/supprimer les comptes utilisateurs.



Figure 25 : QualiVIH - formulaire d'identification de l'utilisateur

Une fois connecté, l'utilisateur se voit présenter l'écran d'accueil appelé « Tableau de bord » (figure 26). Celui-ci permet de faire débiter l'expérience utilisateur et affiche les notes d'informations rédigées par l'administrateur. Il rappelle également les privilèges accordés à l'utilisateur au sein de l'application. Le menu principal, situé à gauche de l'interface, est généré dynamiquement en fonction du type d'utilisateur et est composé de multiples liens permettant l'accès à chacun des composants de l'application. Ce menu principal est présent sur toutes les vues de l'application et permet une navigation rapide.

Figure 26 : QualiVIH - écran d'accueil de l'utilisateur après authentification

L'écran d'accueil est composé :

1. du menu principal ;
2. d'une section rappelant le nom de l'utilisateur et le nombre de dossiers enregistrés en BDD ;
3. d'une section rappelant les privilèges de l'utilisateur ;
4. d'une section mentionnant des notes d'informations destinées à l'utilisateur ;
5. de raccourcis permettant d'accéder rapidement à certaines fonctionnalités.

V.4.2. Importation et gestion des données de génotypage

V.4.2.a. Utilisation et interface utilisateur

Le module d'importation (figure 27) est accessible depuis le menu principal en cliquant sur le lien « Importation ». Celui-ci repose sur un formulaire composé d'une section générale (permettant la saisie de l'identifiant patient, l'identifiant dossier SIL, la date de prélèvement, le sous-groupe viral, ainsi que d'éventuelles remarques) et d'un système d'onglets nommés « Protéase », « Transcriptase Inverse », « Intégrase » et « Traitement antirétroviral » (permettant la saisie des diverses données relatives au séquençage des gènes cibles et au traitement ARV actuel du patient).

Figure 27 : QualiVIH - import de données de génotypage

Le formulaire d'importation de dossiers est composé :

1. d'une section relative au patient (identifiants, date de prélèvement, sous-groupe viral et notes personnelles) ;
2. d'un système d'onglets (un pour chaque gène cible et un pour la thérapeutique antirétrovirale) ;
3. les onglets relatifs aux gènes cibles sont composés de trois champs :
 - a. séquence nucléotidique,
 - b. séquence peptidique,
 - c. mutations,
4. chaque onglet possède trois boutons : « Import fasta », « Traduction » et « Maj mutations » ;
5. d'un bouton permettant l'import de données depuis des pages web SmartGene© IDNS® enregistrées localement ;
6. de boutons permettant la sauvegarde et la réinitialisation des données contenues dans le formulaire. L'onglet relatif au traitement antirétroviral est composé de 6 menus déroulants permettant la saisie de la thérapeutique du patient (non représenté).

L'utilisateur peut importer des données selon plusieurs scénarios en fonction du choix d'importation :

- **Si l'utilisateur dispose de pages web enregistrées localement** (sous la forme de fichiers HTML) issues de l'application SmartGene© IDNS®, il peut alors importer directement le contenu de ces dernières dans le formulaire d'importation en cliquant sur le bouton « Import via SmartGene » afin d'en visualiser et éventuellement d'en modifier/sauvegarder le contenu. Dans ce cas, aucune saisie manuelle n'est requise.
- **Si l'utilisateur ne dispose que de séquences nucléotidiques enregistrées sous fichiers de type FASTA ou TXT**, il peut alors, pour chaque gène cible, importer le fichier de la séquence nucléotidique en cliquant sur le bouton « Import fasta »

du gène cible correspondant. La traduction en séquence peptidique et sa comparaison avec une séquence sauvage de référence (K03455) sont alors réalisées automatiquement (la présence d'éventuelles bases dégénérées est supportée par l'application). L'ensemble de ces données vient alors alimenter le formulaire et l'utilisateur est libre de sauvegarder le contenu, ou d'y apporter des modifications manuellement si nécessaire. Dans ce scénario, seules les informations de la section générale relative au patient (identifiant patient, identifiant dossier SIL, ...) sont à saisir manuellement.

- **Si l'utilisateur ne dispose d'aucune donnée sur support informatique** à importer dans le formulaire, il peut saisir manuellement les différents éléments. Des fonctions sont alors accessibles pour faciliter cette saisie :
 - le bouton « Traduction » permet de traduire la séquence nucléotidique en séquence peptidique. Si plusieurs possibilités de traduction sont possibles par la présence éventuelle de bases dégénérées, les différents acides aminés possibles sur un même locus seront écrits entre crochets ;
 - le bouton « Màj mutations » permet de déduire les mutations à partir de la séquence peptidique sans que la séquence nucléotidique ne soit renseignée.

Ces fonctions permettent ainsi à l'utilisateur, selon les informations dont il dispose (séquence nucléotidique seule ou séquence peptidique seule) de déduire les mutations présentes pour le gène cible d'intérêt :

- l'utilisateur peut saisir une séquence nucléotidique pour ensuite la traduire automatiquement et déduire les mutations correspondantes ;
 - l'utilisateur peut saisir une séquence peptidique et déduire automatiquement les mutations correspondantes.
- **Si l'utilisateur ne dispose que des mutations sans données de séquence**, il peut les saisir directement en respectant la structure suivante : « Position de la mutation sur la séquence peptidique » « Acide aminé muté (code IUPAC) » suivi d'une virgule et d'un espace (exemple : « 3I, 63P, 97F, 97I » pour trois mutations dont une portée par une base dégénérée : isoleucine en position 3, proline en position 63 et phénylalanine ou isoleucine en position 97).

Il est parfaitement possible d'utiliser plusieurs scénarios pour une même importation et de combiner importation par SmartGene© IDNS®, importation de fichiers FASTA et saisie manuelle. Enfin, l'utilisateur, pour sauvegarder la saisie en BDD, doit cliquer sur le bouton « Sauvegarder », un commentaire viendra alors avertir l'utilisateur de la réussite ou de l'échec de l'importation, en précisant le cas échéant, les causes de l'échec (des règles de validation internes permettent de vérifier la cohérence des données saisies).

Chaque saisie précédemment importée est ensuite accessible par l'utilisateur en cliquant sur le lien « Génotypes » du menu principal. L'ensemble des dossiers enregistrés est alors résumé dans un tableau (figure 28). Une section « Filtres » permet de discriminer le contenu affiché selon différents critères (identifiants patients et dossiers, dates de prélèvement, sous-groupes viraux). L'utilisateur, en fonction de ses privilèges, peut consulter, modifier et supprimer les différents dossiers en cliquant respectivement sur les boutons représentant une fusée, un crayon ou une corbeille. Si un identifiant de dossier de traçabilité analytique existe en BDD (voir chapitre « V.4.7

Aide au management de la qualité »), un bouton représentant une loupe apparait et permet ainsi de lier le dossier de génotypage avec le dossier de traçabilité (comprenant les dates de réalisations analytiques, les lots réactifs utilisés, le personnel ayant réalisé l'analyse, les positions sur thermocycleurs, ...). La fonctionnalité de modification reprend le même principe que celle d'import et ne sera donc pas évoquée ici. La suppression de dossier se contente de supprimer le dossier sélectionné après confirmation auprès de l'utilisateur.

The screenshot shows the QualiVIH interface for managing genotyping data. On the left is a sidebar menu with options like 'Tableau de bord', 'Qualité', 'Importation', 'Génotypes', 'Epidémiologie', 'A propos', 'ADMINISTRATION', 'Gérer les news', 'Algorithmes', 'Paramètres', 'Utilisateurs', 'Traçabilité', and 'Sauvegarde'. The main area is titled 'Les génotypes' and contains a 'Liste des dossiers' table. A filter panel on the left (callout 1) allows filtering by patient, dossier, sous-groupe, and date de prélèvement. An 'Importer un dossier' button (callout 2) is in the top right. The table (callout 3) has columns: Voir, Patient, Dossier, Date de prélèvement, Clade, Dernière modif., and Actions. Each row includes a green rocket icon, patient ID, dossier number, date, clade, and modification info, followed by search, edit, and delete icons.

| Voir | Patient | Dossier | Date de prélèvement | Clade | Dernière modif. | Actions |
|------|----------|---------|---------------------|-------|----------------------------|---------|
| | patient1 | 123456 | 01/01/2000 | B | Clément (28/07/2018 22:34) | |
| | patient1 | 2 | 01/02/2000 | B | Clément (04/06/2018 20:45) | |
| | patient1 | 3 | 01/03/2000 | B | Clément (04/06/2018 20:45) | |
| | patient1 | 4 | 01/04/2000 | B | Clément (15/06/2018 17:21) | |
| | patient1 | 5 | 01/05/2000 | B | Clément (04/06/2018 20:45) | |
| | patient1 | 6 | 01/06/2000 | B | Clément (06/06/2018 20:45) | |
| | patient1 | 7 | 01/07/2000 | B | Clément (04/06/2018 20:45) | |
| | patient1 | 8 | 01/08/2000 | B | Clément (04/06/2018 20:45) | |
| | patient2 | 9 | 01/09/2000 | B | Clément (06/07/2018 20:40) | |
| | patient2 | 10 | 01/10/2000 | B | Clément (06/07/2018 20:40) | |
| | patient3 | 11 | 01/11/2000 | A | Clément (04/06/2018 20:45) | |
| | patient2 | 12 | 01/12/2000 | B | Clément (06/07/2018 20:41) | |
| | patient2 | 13 | 01/01/2001 | B | Clément (06/07/2018 20:41) | |

Figure 28 : QualiVIH - gestion des données de génotypage

La vue de gestion des dossiers est composée :

1. d'une section permettant la mise en œuvre de filtres sur les dossiers affichés ;
2. d'un bouton permettant à la fonction d'importation de dossiers ;
3. d'un tableau présentant chaque dossier présent en BDD. Chaque ligne est constituée des éléments suivants (selon les privilèges utilisateurs) :
 - un bouton vert représentant une fusée permettant l'accès à l'interprétation génotypique,
 - un identifiant patient,
 - un identifiant dossier,
 - une date de prélèvement,
 - un sous-groupe viral,
 - une traçabilité de la dernière modification du dossier,
 - un bouton orange représentant une loupe (si un dossier de traçabilité avec le même identifiant existe) permettant de visualiser le dossier de traçabilité,
 - un bouton bleu représentant un crayon permettant la modification du dossier,
 - un bouton rouge représentant une corbeille permettant la suppression du dossier.

V.4.2.b. Evolution possible

QualiVIH ne peut importer, à l'heure actuelle, que des données à partir de séquences déjà lues et éditées par un logiciel tiers (Abbott® ViroSeq, Smartgene© IDNS®, SeqScape®, ...). Les fichiers bruts de séquençage de type AB1 ne sont pas exploitables

par l'application pour l'instant, ce qui constitue une priorité de développement pour l'application. L'arrivée de nouvelles techniques automatisées de séquençage permettra cependant de s'affranchir de la lecture d'électrophorégramme, propre aux techniques de séquençage par électrophorèse capillaire.

V.4.3. Visualisation et interprétation des génotypes simples

V.4.3.a. Utilisation et interface utilisateur

La visualisation et l'interprétation simple de dossiers (figure 29) sont accessibles depuis le lien « Génotypes » du menu principal. L'utilisateur doit alors cliquer sur le bouton représentant une fusée d'un dossier pour consulter son interprétation. L'interprétation des données de séquençage dans le but d'évaluer les résistances virales aux ARV est présentée directement à l'utilisateur dans l'onglet « Phénotype » qui est composé d'un tableau présentant trois colonnes :

- la première contient les différents ARV (DCI et/ou princeps) paramétrés dans l'application, regroupés par famille ;
- la deuxième décrit le phénotype de résistance : « Sensible », « Résistance possible », « Résistant » ou « Non testé » (en cas d'absence de donnée renseignée de la cible d'intérêt) ;
- la troisième renseigne les mutations observées qui ont eu un impact sur l'interprétation du phénotype de résistance (les mutations de polymorphisme sont ainsi écartées). Une mise en forme caractéristique est générée selon le type de règles d'interprétation (voir le paragraphe « Paramétrage des algorithmes et antirétroviraux ») :
 - police rouge sur fond rouge pour les règles « simples »,
 - police noir sur fond rouge avec « U » en exposant pour les règles « union »,
 - police bleue sur fond rouge avec « + » ou « - » en exposant pour les règles « score », « + » étant une mutation favorable à la résistance et « - » une mutation défavorable à celle-ci.

Parallèlement aux données d'interprétation, l'utilisateur peut retrouver sur cette vue l'ensemble des données du dossier ayant servi à cette interprétation :

- les onglets « Protéase », « Transcriptase inverse » et « Intégrase » sont chargés d'afficher les données (séquences nucléotidiques, peptidiques et mutations) contenues dans le dossier ;
- les identifiants patient et dossiers, la date de prélèvement, le sous-groupe viral, le traitement ARV sont également précisés ;
- l'algorithme d'interprétation, paramétré dans l'application, est rappelé systématiquement ;
- l'utilisateur peut exporter ces résultats sous fichier XLS.

Enfin, si d'autres dossiers enregistrés en BDD possèdent le même identifiant patient, l'application proposera, le cas échéant, à l'utilisateur de consulter l'interprétation du génotype cumulé en cliquant sur le bouton « Génotype cumulé ».

QualiVIH Clément

Les génotypes Visualisation de génotype - **Algorithme ANRS 2018 (v20)**

1 Patient information: patient2, N° dossier 17, Date de prélèvement 01/05/2001, Groupe B, Traitement ARV 3TC_FTC, RPV, DTG. Notes: Dernière modif.: Clément (06/07/2018 20:43).

2 7 génotypes: 01/09/2000 [9], 01/10/2000 [10], 01/12/2000 [12], 01/01/2001 [13], 01/02/2001 [14], 01/03/2001 [15], 01/05/2001 [17]. Buttons: Génotype cumulé, Modification, Retour.

3 Tab: Phénotype. **3a** Table of drug resistance:

| Molécules | Sensibilités | Mutations |
|---|---------------------|--|
| Inhibiteurs Nucléos(t)idiques de la Transcriptase Inverse | | |
| Zidovudine (Retrovir®) [ZDV] | Résistant | 67N, 215V, 219Q |
| Lamivudine/Emtricitabine (Epivir®/Emtriva®) [3TC_FTC] | Sensible | |
| Didanosine (Videx®) [DDI] | Résistant | 215V, 219Q * |
| Stavudine (Zerit®) [D4T] | Résistant | 67N, 215V, 219Q |
| Abacavir (Ziagen®) [ABC] | Résistance possible | 67N, 215V |
| Tenofovir Alafenamide (Viread®) [TDF_TAF] | Sensible | 67N, 215V |
| Inhibiteurs Non Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse | | |
| Efavirenz (Sustiva®/Stocrin®) [EFV] | Sensible | |
| Nevirapine (Viramune®) [NVP] | Sensible | |
| Etravirine (Intence®) [ETR] | Sensible | 101R |
| Rilpivirine [RPV] | Sensible | |
| Doravirine [DOR] | Sensible | |
| Inhibiteurs de la Protéase | | |
| Indinavir (Crixivan®) [IDV] | Résistant | 46L, 82A, 84V, 54V, 71V ^U |
| Saquinavir/Ritonavir (Invirase®/Norvir®) [SQV_RTV] | Résistant | 10V, 15V, 82A, 84V |
| Nelfinavir (Viracept®) [NFV] | Résistant | 84V, 82A ^U , 46L, 54V, 71V ^U |
| Lopinavir (Kaletra®) [LPVr] | Résistant | 10V, 46L, 54V, 71V, 71V, 82A, 84V |
| Fosamprenavir/Ritonavir (Telzir®/Norvir®) [FPV_RTV] | Résistant | 10V, 54V, 82A, 84V |
| Atazanavir/Ritonavir (Reyataz®/Norvir®) [ATV_RTV] | Résistant | 10V, 46L, 71V, 84V |
| Tipranavir/Ritonavir (Aptivus® / Norvir®) [TPV_RTV] | Sensible | |
| Darunavir/Ritonavir BID (Prezista®/Norvir®) [DRV_RTV_BID] | Sensible | 74P, 84V |
| Darunavir/Ritonavir QD (Prezista®/Norvir®) [DRV_RTV_QD] | Résistant | 74P, 84V |
| Inhibiteurs de l'Intégrase | | |
| Raltegravir (Isentress®) [RAL] | Non testée | |
| Elvitegravir (Genvoya®/Stribild®) [EVG] | Non testée | |
| Dolutegravir BID (Tivicay®) [DTG_BID] | Non testée | |
| Dolutegravir QD (Tivicay®) [DTG_QD] | Non testée | |
| Cabotegravir [CAB] | Non testée | |

3b Télécharger CR

Copyright © 2018 QualiVIH QualiVIH | Version 1.1

Figure 29 : QualiVIH - interprétation de données de génotypage VIH-1

La vue d'interprétation de génotype est composée :

1. d'une section rappelant les informations générales du dossier (identifiants patient et dossier, date de prélèvement, sous-groupe viral, traitement ARV et notes personnelles) ;
2. d'une section mentionnant si d'autres dossiers possédant un même identifiant patient existent, et permettant le cas échéant, d'accéder à l'interprétation du génotype cumulé ;
3. d'un système d'onglets :
 - a. l'onglet « Phénotype » présente dans un tableau, pour chaque ARV, la sensibilité virale ainsi que les éventuelles mutations associées,
 - b. un lien pour télécharger le compte rendu sous fichier XLS,
4. l'algorithme utilisé pour l'interprétation génotypique.

Les onglets « Protéase », « Transcriptase inverse » et « Intégrase » rappellent les données saisies pour ce dossier (non représentés).

V.4.3.b. Evolution

La possibilité d'injection de données de résultats directement dans le SIL du LBM est conditionnée par les caractéristiques de ce dernier et du choix d'installation de QualiVIH par le LBM (serveur physique, machine virtuelle, ...). La modularité de QualiVIH peut permettre de mettre en place ce procédé, l'application jouant alors le

rôle de *middleware*. La génération d'un fichier d'export au format XLS est complexe et fait appel à des fonctions avancées. Il n'est pas possible à l'heure actuelle d'offrir une interface graphique qui permet de personnaliser simplement le compte rendu. Chaque personnalisation doit être faite à la demande selon les besoins du client par l'administrateur.

V.4.4. Génotypes cumulés

V.4.4.a. Utilisation et interface utilisateur

Lorsque l'utilisateur exécute la requête d'interprétation de génotype cumulé pour un patient (voir chapitre précédent), l'application cumule les mutations présentes sur les différents gènes cibles et exécute ensuite l'algorithme de résistance. L'ensemble des données interprétées sont affichées à l'utilisateur dans une même vue. Les différents dossiers pris en compte dans l'élaboration du génotype cumulé, ainsi que les multiples thérapies suivies par le patient sont résumés dans la section « Patient » (l'« empreinte ARV » correspond à l'ensemble des ARV ayant été administrés au moins une fois au patient au cours de sa vie).

L'onglet « **Mutations cumulées** » (figure 30) documente le cumul des mutations observées pour l'ensemble des génotypages viraux d'un patient.

The screenshot displays the QualiVIH web application interface. On the left is a dark sidebar menu with options like 'Tableau de bord', 'Qualité', 'Importation', 'Génotypes', 'Epidémiologie', 'A propos', 'ADMINISTRATION', 'Gérer les news', 'Algorithmes', 'Paramètres', 'Utilisateurs', 'Traçabilité', and 'Sauvegarde'. The main content area is titled 'Génotype cumulé' and shows 'Patient : patient2' with '7 génotypes' listed with dates and ARV codes. A section 'Empreinte ARV' lists various ARV codes. The main area has four tabs: 'Mutations cumulées' (selected), 'Génotype cumulé', 'Génotypes comparés', and 'Mutations comparées'. Under 'Mutations cumulées', there are three panels: 'Mutations de la protéase' (with a list of mutations like 3I, 10I, 10V, etc.), 'Mutations de la transcriptase inverse' (with a list like 4H, 4P, 7A, etc.), and 'Mutations de l'intégrase'. Numbered callouts 1, 2, 3, and 4 point to the patient summary, the tabs, the 'Algorithme ANRS 2018 (v28)' label, and the mutation panels respectively.

Figure 30 : QualiVIH - mutations cumulées

La vue d'interprétation cumulée de dossiers est composée :

1. d'une section rappelant les différents dossiers pris en compte pour l'interprétation cumulée et le traitement ARV ;
2. d'un système d'onglets « Mutations cumulées », « Génotype cumulé », « Génotypes comparés » et « Mutations comparées » ;
3. l'algorithme utilisé pour l'interprétation génotypique ;
4. l'onglet « Mutations cumulées » comporte trois champs permettant de documenter le cumul des mutations pour chacun des gènes cibles des ARV.

L'onglet « **Génotype cumulé** » (figure 31) est de structure identique à l'onglet « Phénotype » relatif à l'interprétation d'un génotype simple (voir chapitre précédent «V.4.3 Visualisation et interprétation des génotypes simples»). On y trouve donc l'ensemble des données d'interprétation du génotypage (sensibilités aux ARV et mutations de résistance associées) ainsi que la possibilité de télécharger le compte rendu sous la forme d'un fichier XLS.

QualiVIH et antériorités comparées - Algorithme ANRS 2018 (v28)

Patient : patient2

7 génotypes :

- 01/09/2000 [9] (B)
3TC_FTC, EFV, DRV_RTU_BID
- 01/10/2000 [10] (B)
3TC_FTC, EFV, SQV_RTU
- 01/12/2000 [12] (B)
DDI, EFV, LPVr
- 01/01/2001 [13] (B)
ABC, RPV, TPV_RTU
- 01/02/2001 [14] (B)
ABC, RAL, FPV_RTU
- 01/03/2001 [15] (B)
ZDV, EFV, SQV_RTU
- 01/05/2001 [17] (B)
3TC_FTC, RPV, DTG_BID

Empreinte ARV :
3TC_FTC, ABC, DDI, DRV_RTU_BID, DTG_BID, EFV, FPV_RTU, LPVr, RAL, RPV, SQV_RTU, TPV_RTU, ZDV

[Retour](#)

| Mutations cumulées | Génotype cumulé | Génotypes comparés | Mutations comparées |
|---|-----------------|--------------------|---------------------|
| Molécules | | | |
| Inhibiteurs Nucléos(t)idiques de la Transcriptase Inverse | | | |
| Zidovudine (Retrovir®) [ZDV] | | | |
| Lamivudine/Emtricitabine (Epivir®/Emtriva®) [3TC_FTC] | | | |
| Didanosine (Videx®) [DDI] | | | |
| Stavudine (Zerit®) [D4T] | | | |
| Abacavir (Ziagen®) [ABC] | | | |
| Tenofovir Alafenamide (Viread®) [TDF_TAF] | | | |
| Inhibiteurs Non Nucléosidiques de la Transcriptase Inverse | | | |
| Efavirenz (Sustiva®/Stocrin®) [EFV] | | | |
| Nevirapine (Viramune®) [NVP] | | | |
| Etravirine (Intelence®) [ETR] | | | |
| Rilpivirine [RPV] | | | |
| Doravirine [DOR] | | | |
| Inhibiteurs de la Protéase | | | |
| Indinavir (Crivivan®) [IDV] | | | |
| Saquinavir/Ritonavir (Invirase®/Norvir®) [SQV_RTU] | | | |
| Nelfinavir (Viracept®) [NFV] | | | |
| Lopinavir (Kaletra®) [LPVr] | | | |
| Fosamprenavir/Ritonavir (Telzir®/Norvir®) [FPV_RTU] | | | |
| Atazanavir/Ritonavir (Reyataz®/Norvir®) [ATV_RTU] | | | |
| Tipranavir/Ritonavir (Aptivus® / Norvir®) [TPV_RTU] | | | |
| Darunavir/Ritonavir BID (Prezista®/Norvir®) [DRV_RTU_BID] | | | |
| Darunavir/Ritonavir QD (Prezista®/Norvir®) [DRV_RTU_QD] | | | |
| Inhibiteurs de l'Intégrase | | | |
| Raltegravir (Isentress®) [RAL] | | | |
| Elvitegravir (Genvoya®/Stribild®) [EVG] | | | |
| Dolutegravir BID (Tivicay®) [DTG_BID] | | | |
| Dolutegravir QD (Tivicay®) [DTG_QD] | | | |
| Cabotegravir [CAB] | | | |

[Télécharger CR](#)

Copyright © 2018 QualiVIH QualiVIH | Version 1.1

Figure 31 : QualiVIH - interprétation de génotypes cumulés

L'onglet « Génotype cumulé » comporte :

1. un tableau composé de trois colonnes permettant de documenter les sensibilités ainsi que les mutations associées à chaque ARV ;
2. un lien pour télécharger le compte rendu sous la forme d'un fichier XLS.

L'onglet « **Génotypes comparés** » (figure 32) présente à l'utilisateur un tableau où chaque colonne correspond à une antériorité de génotype du patient étudié. Chacune de ces antériorités est classée par ordre chronologique. La date de réalisation du génotypage ainsi que le traitement du patient sont précisés au début de chaque colonne. Les phénotypes de résistance interprétés isolément pour chaque ARV et pour chaque antériorité sont synthétisés dans ce tableau. Le suivi des résistances pour un ARV donné, en fonction du temps et du traitement antirétroviral est ainsi proposé à l'utilisateur. La dernière colonne correspond au phénotype de résistance basé sur le génotype cumulé et permet alors de le confronter rapidement à l'ensemble des antériorités. Il est à noter que le tableau est généré dynamiquement et variera selon le nombre de dossiers présentant un même identifiant patient, mais aussi selon les molécules paramétrées dans l'application.

QualiVIH et antériorités comparées - Algorithme ANRS 2018 (v28)

Patient : patient2

7 génotypes :

- 01/09/2000 [9] (B)
3TC_FTC, EFV, DRV_RTV_BID
- 01/10/2000 [10] (B)
3TC_FTC, EFV, SQV_RTV
- 01/12/2000 [12] (B)
DDI, EFV, LPVr
- 01/01/2001 [13] (B)
ABC, RPV, TPV_RTV
- 01/02/2001 [14] (B)
ABC, RAL, FPV_RTV
- 01/03/2001 [15] (B)
ZDV, EFV, SQV_RTV
- 01/05/2001 [17] (B)
3TC_FTC, RPV, DTG_BID

Empreinte ARV :

3TC_FTC, ABC, DDI, DRV_RTV_BID, DTG_BID, EFV, FPV_RTV, LPVr, RAL, RPV, SQV_RTV, TPV_RTV, ZDV

1

| Mutations cumulées | Génotype cumulé | Génotypes comparés | | | | | | | Mutations comparées |
|---|-----------------|---------------------------|-----------------------|----------------|-------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|--|
| Dates | Traitement | 01/09/2000 | 01/10/2000 | 01/12/2000 | 01/01/2001 | 01/02/2001 | 01/03/2001 | 01/05/2001 | Global |
| | | 3TC_FTC, EFV, DRV_RTV_BID | 3TC_FTC, EFV, SQV_RTV | DDI, EFV, LPVr | ABC, RPV, TPV_RTV | ABC, RAL, FPV_RTV | ZDV, EFV, SQV_RTV | 3TC_FTC, RPV, DTG_BID | 3TC_FTC, ABC, DDI, DRV_RTV_BID, DTG_BID, EFV, FPV_RTV, LPVr, RAL, RPV, SQV_RTV, TPV_RTV, ZDV |
| Inhibiteurs Nucléotidiques de la Transcriptase Inverse | | | | | | | | | |
| Zidovudine (Retrovir®) [ZDV] | | R | R | R | R | R | R | R | R |
| Lamivudine/Emtricitabine (Epivir®/Emtriva®) [3TC_FTC] | | S | R | R | S | S | S | S | R |
| Didanosine (Videx®) [DDI] | | S | S | S | S | S | S | R | S |
| Stavudine (Zerit®) [d4T] | | R | R | R | R | R | R | R | R |
| Abacavir (Ziagen®) [ABC] | | I | R | R | I | I | I | I | R |
| Tenofovir Alafenamide (Viread®) [TDF_TAF] | | S | I | S | S | S | S | S | I |
| Inhibiteurs Non Nucléotidiques de la Transcriptase Inverse | | | | | | | | | |
| Efavirenz (Sustiva®/Stocrin®) [EFV] | | R | S | S | R | R | R | S | R |
| Nevirapine (Viramune®) [NVP] | | R | S | S | R | R | R | S | R |
| Etravirine (Intence®) [ETR] | | R | S | S | I | R | R | S | R |
| Rilpivirine [RPV] | | R | S | S | S | R | R | S | R |
| Doravirine [DOR] | | R | S | S | S | R | S | S | R |
| Inhibiteurs de la Protéase | | | | | | | | | |
| Indinavir (Crixivan®) [IDV] | | R | R | R | S | R | R | R | R |
| Saquinavir/Ritonavir (Invirase®/Norvir®) [SQV_RTV] | | I | R | R | I | I | I | R | R |
| Nelfinavir (Viracept®) [NFV] | | S | R | I | S | S | S | R | R |
| Lopinavir (Kaletra®) [LPVr] | | R | R | R | R | R | R | R | R |
| Fosamprenavir/Ritonavir (Telzir®/Norvir®) [FPV_RTV] | | R | R | R | R | R | R | R | R |
| Atazanavir/Ritonavir (Reyataz®/Norvir®) [ATV_RTV] | | I | R | I | I | I | I | R | R |
| Tipranavir/Ritonavir (Aptivus® / Norvir®) [TPV_RTV] | | S | S | S | S | S | S | S | S |
| Darunavir/Ritonavir BID (Prezista®/Norvir®) [DRV_RTV_BID] | | S | S | S | S | S | S | S | R |
| Darunavir/Ritonavir QD (Prezista®/Norvir®) [DRV_RTV_QD] | | R | S | R | R | R | R | R | R |
| Inhibiteurs de l'Intégrase | | | | | | | | | |
| Raltegravir (Isentress®) [RAL] | | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Eltivitegravir (Genvoya®/Stribild®) [EVG] | | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Dolutegravir BID (Tivicay®) [DTG_BID] | | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Dolutegravir QD (Tivicay®) [DTG_QD] | | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |
| Cabotegravir [CAB] | | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT | NT |

3

Copyright © 2018 QualiVIH QualiVIH | Version 1.1

Figure 32 : QualiVIH - confrontations des interprétations génotypiques

L'onglet « Génotypes comparés » comporte un tableau permettant de comparer l'ensemble des antériorités d'un patient face à son génotype cumulé. Il comprend :

1. l'ensemble des ARV pour lesquels des règles d'interprétation existent dans l'algorithme utilisé ;
2. l'ensemble des antériorités réinterprétées ainsi que leur traitement ARV associé ;
3. l'interprétation du génotype cumulé.

L'onglet « **Mutations comparées** » (figure 33) propose le suivi des mutations de résistance dans le temps sous forme d'un tableau. La première colonne correspond à l'ensemble des dossiers d'un même patient classés par ordre chronologique. Les traitements antirétroviraux y sont également mentionnés. Les autres colonnes correspondent à chaque mutation de résistance observée au moins une fois sur l'ensemble des génotypes du patient (classée par ordre croissant en se basant sur la position de la séquence peptidique). Ces trois tableaux permettent de visualiser la chronologie d'apparition ou de disparition des mutations du patients et d'y confronter la pression de sélection antirétrovirale.

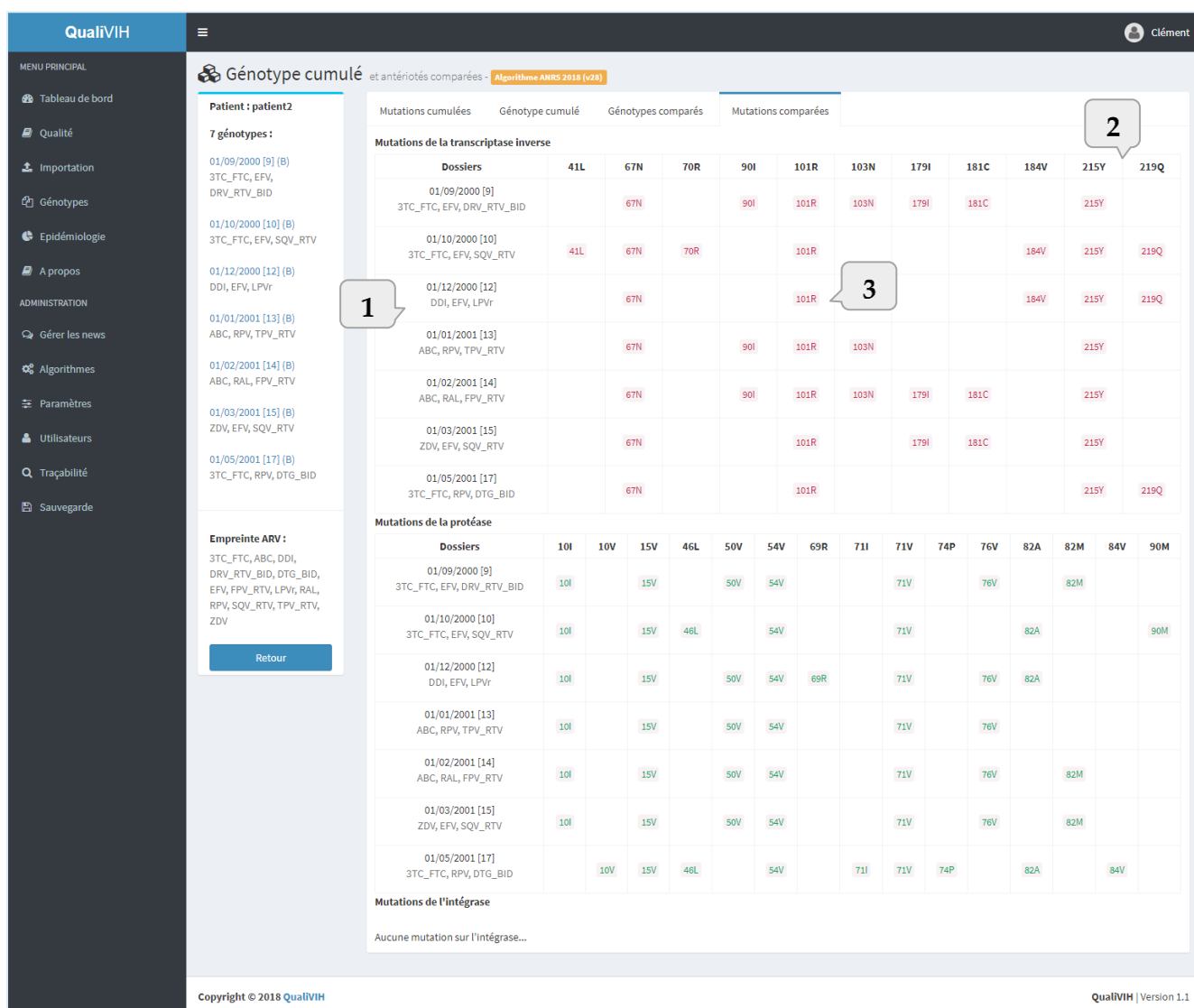


Figure 33 : QualiVIH - suivi des mutations virales en fonction du temps et de la thérapie antirétrovirale

L'onglet « Mutations comparées » comporte pour chaque gène cible un tableau permettant de suivre les apparitions/disparition des mutations de résistances en fonction du temps et de la thérapie antirétrovirale. Il comprend :

1. l'ensemble des antériorités et leur traitement ARV associé ;
2. l'ensemble des mutations de résistance observées au moins une fois parmi l'ensemble des génotypages effectués ;
3. la présence ou l'absence de chacune des mutations de résistance pour chacune des antériorités.

V.4.4.b. Evolution

Les perspectives d'évolution de cette fonctionnalité sont les mêmes que celles relatives à l'interprétation du génotype simple. Il apparaît cependant beaucoup plus complexe d'établir un transfert de données QualiVIH - SIL pour la comparaison des génotypes et des mutations devant la grande modularité de ces fonctionnalités et de l'hétérogénéité de structure des interprétations.

V.4.5. Paramétrage des algorithmes et des antirétroviraux

V.4.5.a. Utilisation et interface utilisateur

Afin d'actualiser les recommandations d'interprétation, QualiVIH offre la possibilité de mettre à jour et/ou de personnaliser les algorithmes d'interprétations et les ARV (figure 34) sous interface graphique et permet donc :

- de maintenir à jour l'application (sans compétences informatiques requises) ;
- de comparer les interprétations issues d'algorithmes différents ;
- d'étudier des mutations ou associations de mutations à l'aide du module épidémiologie (et de les corréliser avec une éventuelle thérapeutique antirétrovirale).

The screenshot shows the QualiVIH interface with a sidebar menu on the left. The main content area is titled 'Gérer les paramètres' and is divided into three sections:

- 1. Gestion des ARV:** A table listing antiretrovirals with columns for ISO, Molécule, Array concerné, Sous groupe compte rendu, and Actions. The table includes entries for Lamivudine/Emtricitabine, Abacavir, Stavudine, Didanosine, Tenofovir Alafenamide, Zidovudine, Efavirenz, Etravirine, Nevirapine, Rilpivirine, Doravirine, Atazanavir/Ritonavir, Darunavir/Ritonavir BID, Darunavir/Ritonavir QD, and Indinavir.
- 2. Gestion des algorithmes:** A section for managing algorithms, showing a table with columns for Intitulés algorithmes, FilterName, and Actions. It includes buttons for '+ Ajouter un algorithme' and 'en cours'.
- 3. Algorithme par défaut:** A section for choosing the default algorithm, with a dropdown menu and a 'Soumettre' button.

Figure 34 : QualiVIH - paramétrage des algorithmes et des antirétroviraux

La vue de paramétrage est composée de trois sections :

1. « Gestion des ARV » qui permet le paramétrage (ajout/modification/suppression) des ARV ;
2. « Gestion des algorithmes » qui permet de gérer les algorithmes (ajout/modification/suppression) ;
3. « Algorithme par défaut » qui permet de choisir de l'algorithme par défaut (parmi ceux déjà créés) qui sera utilisé pour l'interprétation génotypique (génotypes simples, cumulés, et épidémiologie). L'algorithme actuellement choisi par défaut apparaît en rouge.

➤ Paramétrage des antirétroviraux

L'ensemble des ARV paramétrés apparaît dans un tableau au sein de la section « Gestion des ARV » de la vue « Paramétrage » (figure 34). L'utilisateur peut alors choisir d'ajouter une nouvelle molécule en cliquant sur le bouton « Ajouter un ARV ». Un formulaire (figure 35) demande alors à l'utilisateur de renseigner :

- l'« **ISO** » : correspond à l'abréviation de la molécule d'intérêt. Celle-ci apparaîtra sur les différents comptes rendus d'interprétation et dans le module épidémiologie ;
- la « **molécule** » : correspond à l'intitulé de l'ARV qui s'affichera également dans les différents comptes rendus d'interprétation ;
- le « **gène cible** » : correspond à la cible de la molécule (exemples : « Transcriptase inverse », « Protéase » ou encore « Intégrase ») ;
- la « **famille sur compte rendu** » : permet de regrouper les molécules par groupes sur le compte-rendu (« Inhibiteur nucléos(t)idique de la RT », « Inhibiteur non nucléotidique de la RT », « Inhibiteur de protéase » et « Inhibiteur d'intégrase »).

The screenshot shows the QualiVIH interface. On the left is a dark sidebar with a 'MENU PRINCIPAL' and 'ADMINISTRATION' sections. The main content area is titled 'Gérer les antirétroviraux' with a sub-header 'Ajout d'une molécule'. Below this is a form with the instruction 'Renseignez les différents champs avant de soumettre l'ajout'. The form contains four fields, each with a numbered callout bubble: 1. 'ISO' field with the value '3TC_FTC'; 2. 'Molécule' field with the value 'Lamivudine/Emtricitabine (Epivir®/Emtriva®)'; 3. 'Gène cible' dropdown menu with 'Transcriptase inverse' selected; 4. 'Famille sur compte rendu' dropdown menu with 'Inhibiteur nucléos(t)idique de la RT' selected. At the bottom of the form are three buttons: 'Sauvegarder' (highlighted in blue), 'Remise à zéro', and 'Retour'. The footer of the interface shows 'Copyright © 2018 QualiVIH' on the left and 'QualiVIH | Version 1.1' on the right.

Figure 35 : QualiVIH - formulaire de création d'un nouvel antirétroviral

La vue de paramétrage des ARV est composée de quatre champs à saisir :

1. « ISO » qui correspond à l'abréviation de l'ARV ;
2. « Molécule » qui correspond au nom de l'ARV ;
3. « Gène cible » qui correspond au gène cible de l'ARV ;
4. « Famille sur compte rendu » qui permet de regrouper les ARV par classe sur le compte rendu.

Lorsque l'utilisateur désire modifier une molécule déjà existante en BDD, le même formulaire, cette fois-ci pré-rempli, sera généré. Lors de la suppression, un message d'alerte invitera l'utilisateur à confirmer son action.

➤ Paramétrage d'un nouvel algorithme

Avant de paramétrer des règles d'interprétation, l'utilisateur doit préalablement créer un algorithme. L'algorithme pourra ensuite être composé de règles qui seront rattachées à cet algorithme (une règle d'interprétation est obligatoirement liée à un algorithme). Pour cela, l'utilisateur doit cliquer sur le bouton « Ajouter un algorithme » de la vue « Paramétrage » (figure 34) permettant le chargement du formulaire (figure 36) de saisie. Un nom d'algorithme (qui est mentionné sur les différents comptes rendus d'interprétation) et un alias « FilterName » (qui est utilisé comme variable par l'application pour identifier l'algorithme) doivent alors être saisis par l'utilisateur.

Chaque algorithme nouvellement créé apparaît donc dans la liste de choix d'algorithmes, il est alors possible de le désigner comme algorithme par défaut (section « Algorithme par défaut » de la vue « Paramétrage » (figure 34)). Parmi l'ensemble des algorithmes créés, il est possible de modifier le nom et l'alias, ou de le supprimer. Seul l'algorithme en cours d'utilisation est verrouillé afin d'éviter des erreurs d'exécution. Pour modifier ce dernier, un autre algorithme par défaut doit être désigné.

The screenshot shows the 'Gérer les algorithmes' interface. The main content area is titled 'Gérer les algorithmes' with a sub-header 'Ajout d'un algorithme'. Below this, there is a prompt: 'Renseignez les différents champs avant de soumettre la modification'. The form contains three input fields: 'Id' (empty), 'Intitulé de l'algorithme' (containing 'Algorithme ANRS 2019 (v29)') with a callout '1', and 'FilterName' (containing 'tbl_anrs2019') with a callout '2'. At the bottom of the form are three buttons: 'Sauvegarder', 'Remise à zéro', and 'Retour'. The footer of the page shows 'Copyright © 2018 QualiVIH' and 'QualiVIH | Version 1.1'.

Figure 36 : QualiVIH - formulaire de création d'un nouvel algorithme d'interprétation

La vue de paramétrage d'algorithme permet de saisir :

1. l'« intitulé de l'algorithme » ;
2. le « FilterName » qui servira de nom de variable pour l'application.

➤ Paramétrage des règles d'interprétation d'un algorithme existant

Une vue spécifique (figure 37) permet de consulter, d'ajouter, de supprimer ou de modifier les règles d'interprétation des algorithmes présents en BDD et est accessible depuis le lien « Algorithmes » du menu principal. Celle-ci est composée d'un tableau résumant les principales caractéristiques de chaque règle présente. La section « Filtres » permet de discriminer des règles selon des critères définis (types de règles, de résistance, ARV, sous-groupes viraux). L'utilisateur a la possibilité de créer des règles d'interprétation, et de visualiser, éditer, ou supprimer celles déjà paramétrées.

Les algorithmes Ajouter, éditer, supprimer les règles d'interprétation

Filtres

Versions ANRS

Types de résistances

Tous

Types de règles

Tous

Molécules

Toutes

Sous-groupes associés

Tous

Go !

Algorithme ANRS 2018 (v28) - 72 règles

+ Ajouter une règle

| Molécules | Règle | Mutations (résistance) | Mutations (union) | Mutations (protection) | Occurrence | Sous-type viral | Résistance | Dernière modif. | Actions |
|-----------|--------|--|-------------------|------------------------|------------|-----------------|------------|-----------------------------------|---------|
| ZDV | simple | 215A, 215C, 215D, 215E, 215G, 215H, 215I, 215L, 215N, 215S, 215V, 215Y, 215F, 151M, Insertion69 | | | 1 | tous | certaine | Clément (15/06/2018 12:57) | |
| ZDV | simple | 41L, 67N, 70R, 210W, 219Q, 219E | | | 3 | tous | certaine | Administrateur (01/06/2018 00:36) | |
| 3TC_FTC | simple | 65R, 184V, 184I, insertion69 | | | 1 | tous | certaine | Administrateur (01/06/2018 00:36) | |
| DDI | score | 41L, 69D, 215Y, 215F, 219Q, 219E | | 70R, 184V, 184I | 2 | tous | certaine | Administrateur (01/06/2018 00:36) | |
| DDI | simple | 65R, 74V, 74I, 151M, insertion69 | | | 1 | tous | certaine | Administrateur (01/06/2018 00:36) | |
| D4T | simple | 65R, 75A, 75M, 75S, 75T, 215A, 215C, 215D, 215E, 215G, 215H, 215I, 215L, 215N, 215S, 215V, 215Y, 215F, 151M, insertion69 | | | 1 | tous | certaine | Clément (15/06/2018 12:58) | |
| D4T | simple | 41L, 67N, 70R, 210W, 219Q, 219E | | | 3 | tous | certaine | Administrateur (01/06/2018 00:36) | |
| ABC | simple | 65R, 74V, 74I, 115F, 151M, insertion69 | | | 1 | tous | certaine | Administrateur (01/06/2018 00:36) | |
| ABC | simple | 41L, 67N, 184V, 184I, 210W, 215A, 215C, 215D, 215E, 215G, 215H, 215I, 215L, 215N, 215S, 215V, 215Y, 215F | | | 3 | tous | certaine | Administrateur (01/06/2018 00:36) | |

Figure 37 : QualiVIH - paramétrage des règles d'un algorithme d'interprétation

La vue de gestion des règles d'interprétation est composée :

1. d'une section permettant la mise en œuvre de filtres sur les règles affichées ;
2. d'un bouton permettant la création d'une nouvelle règle ;
3. d'un tableau présentant chaque règle paramétrée en BDD pour l'algorithme en cours d'utilisation.

Chaque ligne est constituée des éléments suivants (selon les privilèges utilisateurs) :

- l'abréviation de l'ARV,
- le type de règle,
- les mutations de résistance,
- les mutations d'union,
- les mutations de protection,
- l'occurrence,
- le sous-type viral associé,
- le type de résistance,
- une traçabilité de la dernière modification du dossier,
- un bouton bleu représentant un crayon permettant la modification de la règle,
- un bouton rouge représentant une corbeille permettant la suppression du dossier.

Pour ajouter une nouvelle règle, le bouton « Ajouter une règle » présent sur la vue précédente (figure 37) permet de charger le formulaire (figure 38) reprenant l'ensemble des éléments à préciser :

- le **type de résistance** : « certaine » ou « possible » ;
- les **sous-types viraux** associés (certaines mutations ne sont associées à une résistance à un ARV que pour certains sous-groupes viraux) ;
- le **type de règles** : les règles issues des algorithmes ANRS seront prises pour exemples :
 - règle « **simple** » : la présence d'une mutation ou d'un ensemble de mutations induit une résistance, par exemple :
 - la présence d'une occurrence parmi les mutations 100I, 103N ou 103S induit une résistance à la rilpivirine,
 - la présence de 3 occurrences parmi les mutations 41L, 67N, 70R, 210W, 219Q, 219E induit une résistance à la zidovudine,
 - règle « **union** » : la présence d'une mutation associée à un ensemble de mutations induit une résistance, par exemple :
 - La présence d'une occurrence parmi les mutations 148H, 148K, 148R associée à deux occurrences parmi l'ensemble 74I, 138A, 138K, 138T, 140A, 140C, 140S induit une résistance au darunavir/ritonavir,
 - règle « **score** » : la présence de mutations de résistance, malgré la présence de mutations de protection, induit une résistance, par exemple :
 - 41L, 69D, 215Y, 215F, 219Q, 219E sont des mutations de résistances, 70R, 184V, 184I sont des mutations de protection vis-à-vis de la didanosine. Une différence de la somme des mutations de résistances et de celle des mutations de protections supérieure ou égale à 2 induit une résistance à la didanosine,
- **antirétroviral** : correspond à l'ARV concerné (un menu déroulant reprend l'ensemble des ARV saisis dans la vue « paramétrage ») ;
- **occurrence** : correspond au nombre requis de mutations conférant la résistance pour les règles simples, au nombre requis de mutations de l'ensemble n°1 pour les règles « union », ou au score total requis pour les règles « score » ;
- **mutation(s)** : correspond à l'ensemble des mutations de résistance des règles « simples », au premier ensemble des mutations de résistance des règles « union », ou à l'ensemble des règles de résistance des règles « score » ;
- **mutation(s) (si union)** : correspond au deuxième ensemble des mutations de résistance des règles « union » (champ laissé vide pour les autres règles) ;
- **mutation(s) (si score)** : correspond à l'ensemble des mutations de protection des règles « score » (champ laissé vide pour les autres règles).

L'utilisateur, s'il possède les privilèges adéquats, peut ainsi retranscrire les différents algorithmes recommandés (ANRS, Stanford HIVdb, ...) mais également créer ses propres règles d'interprétation. Cela peut notamment s'avérer utile pour étudier des mutations non documentées dans la littérature ou pour répondre aux requêtes épidémiologiques menées par l'ANRS.

QualiVIH Clément

Gérer les algorithmes Ajout d'une règle

Renseignez les différents champs avant de soumettre

1 **Type de résistance**: Résistance certaine

2 **Sous-types viraux associés**: Tous

3 **Type de règle**: Règle "score"

4 **Antirétroviral**: Didanosine (Videx®)

5 **Occurrence**: 2

6 **Mutation(s)**: 41L, 69D, 215Y, 215F, 219Q, 219E

7 **Mutation(s) (si union)**: Si union, mutations conférant la résistance

8 **Mutation(s) (si score)**: 70R, 184V, 184I

Sauvegarder Remise à zéro Retour

Copyright © 2018 QualiVIH QualiVIH | Version 1.1

Figure 38 : QualiVIH - formulaire de création de règles d'interprétation

La vue de création d'une règle d'interprétation permet de saisir :

1. le type de résistance (possible ou certaine) ;
2. les sous-types viraux associés à la règle ;
3. le type de règle (« simple », « union » ou « score ») ;
4. l'ARV concerné ;
5. l'occurrence, c'est-à-dire le nombre de mutations nécessaires (ou le score le cas échéant) pour conférer la résistance ;
6. l'ensemble des mutations de résistance (pour règles « simples », pour règles « union » et pour règles « score ») ;
7. le deuxième ensemble de mutations de résistance pour les règles « union » uniquement ;
8. l'ensemble des mutations de protection pour les règles « score » uniquement.

V.4.5.b. Evolution

Comme toute action de paramétrage dans le SIL, et conformément aux exigences de la norme NF EN ISO 15189, chaque LBM est tenu de maîtriser les risques inhérents à la saisie manuelle et de vérifier la cohérence et l'intégrité des données des algorithmes et de leurs applications interprétatives. L'ANRS ne publie ses algorithmes que sous la forme de fichiers non exploitables informatiquement (fichiers Adobe® PDF) (29). Une saisie manuelle semble donc obligatoire pour paramétrer chaque algorithme. L'application offrira prochainement la possibilité de télécharger des fichiers de configuration permettant au client d'importer automatiquement un algorithme préalablement paramétré.

V.4.6. Epidémiologie

V.4.6.a. Utilisation et interface utilisateur

Accessible par le lien « Epidémiologie » du menu principal, ce composant permet d'étudier les caractéristiques de l'ensemble des dossiers enregistrés en BDD. La vue est composée d'une section « Filtre » permettant de discriminer la population étudiée selon différents paramètres (patients, dates, sous-groupes viraux, ARV) associés à un système de 4 onglets chargés d'afficher l'ensemble des résultats. Le premier onglet « Général » (figure 39) contient les résultats ne nécessitant pas d'interprétations de séquences : il s'agit de la répartition des sous-groupes viraux, du nombre de tests de génotypage réalisés au LBM en fonction du temps, et du taux de prescription d'un ARV donné au sein de la population présente en BDD. L'ensemble des données est résumé dans différents graphiques et tableaux.

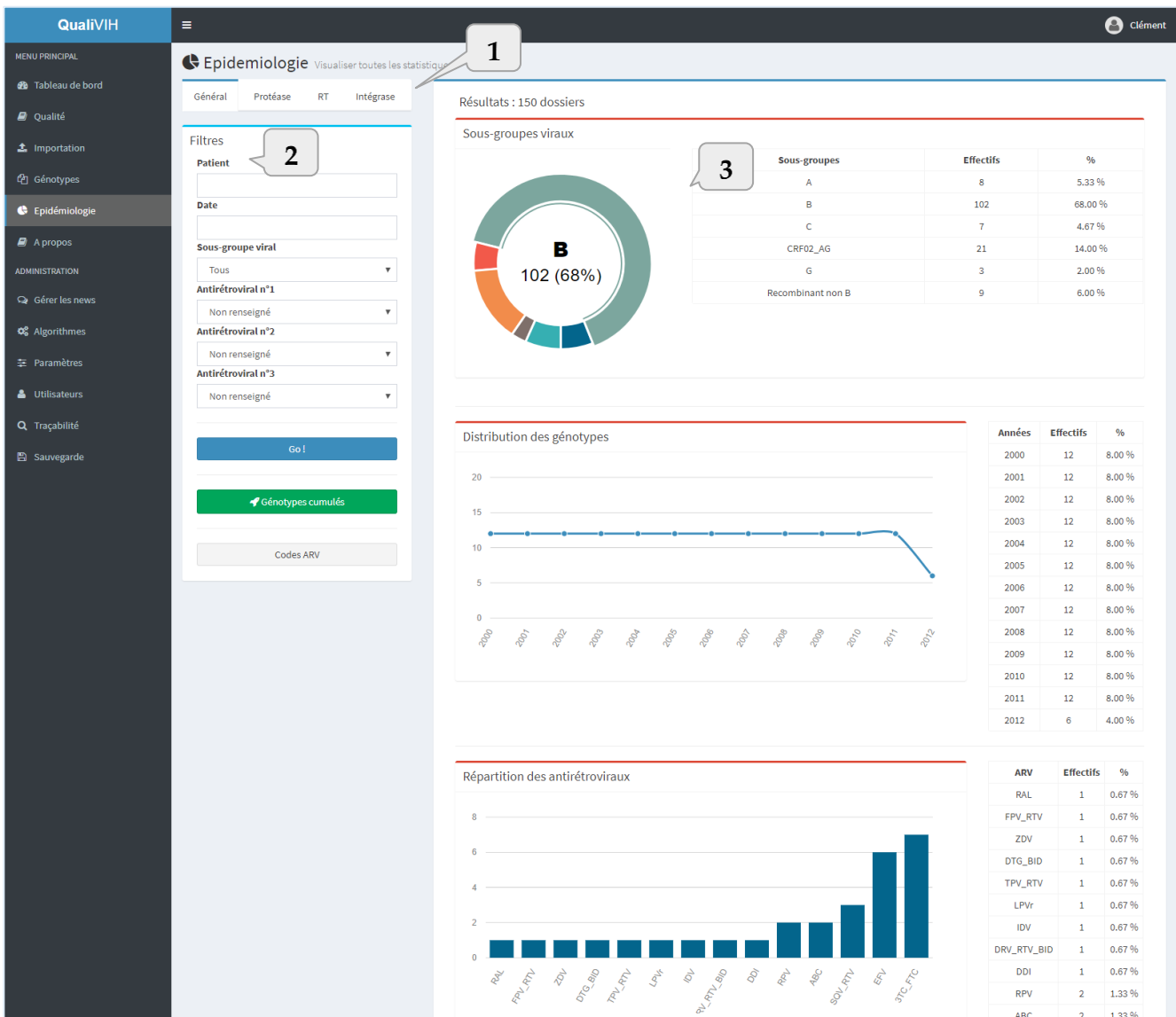


Figure 39 : QualiVIH - rapports épidémiologiques – données générales

La vue « Epidémiologie » est composée :

1. d'un système d'onglets permettant de choisir les informations à afficher ;
2. d'une section « Filtre » permettant de discriminer la population étudiée ou d'interpréter cumulativement les données ;
3. d'une section chargée d'afficher les données calculées (sous forme graphique et de tableaux).

Les trois onglets suivants « Protéase », « RT » et « Intégrase » (figure 40) possèdent une structure identique et détaillent respectivement les interprétations relatives à la séquence de la protéase, de la transcriptase inverse et de l'intégrase. Les fréquences des mutations de résistances (c'est-à-dire celles présentes dans l'algorithme d'interprétation utilisé) sont détaillées ainsi que les taux de résistances pour chaque ARV (c'est-à-dire ceux pour lesquels il existe au moins une règle d'interprétation dans l'algorithme utilisé).

Pour chacune de ces données, il est possible de discriminer les données d'intérêts par les filtres évoqués précédemment et/ou de cumuler les dossiers communs à un même patient en cliquant sur le bouton « Génotypes cumulés » et ainsi d'exploiter des résultats sans redondance de patient. L'utilisateur a donc la possibilité de consulter l'épidémiologie à l'échelle génotypique (par le suivi des mutations de résistance) et à l'échelle phénotypique (par le suivi des fréquences de résistances). Il peut également étudier les mutations (de résistance ou de polymorphisme) et leurs éventuelles sélections par les différents ARV grâce à la personnalisation des algorithmes d'interprétation. Les sous-types viraux peuvent également être associés à de telles requêtes.

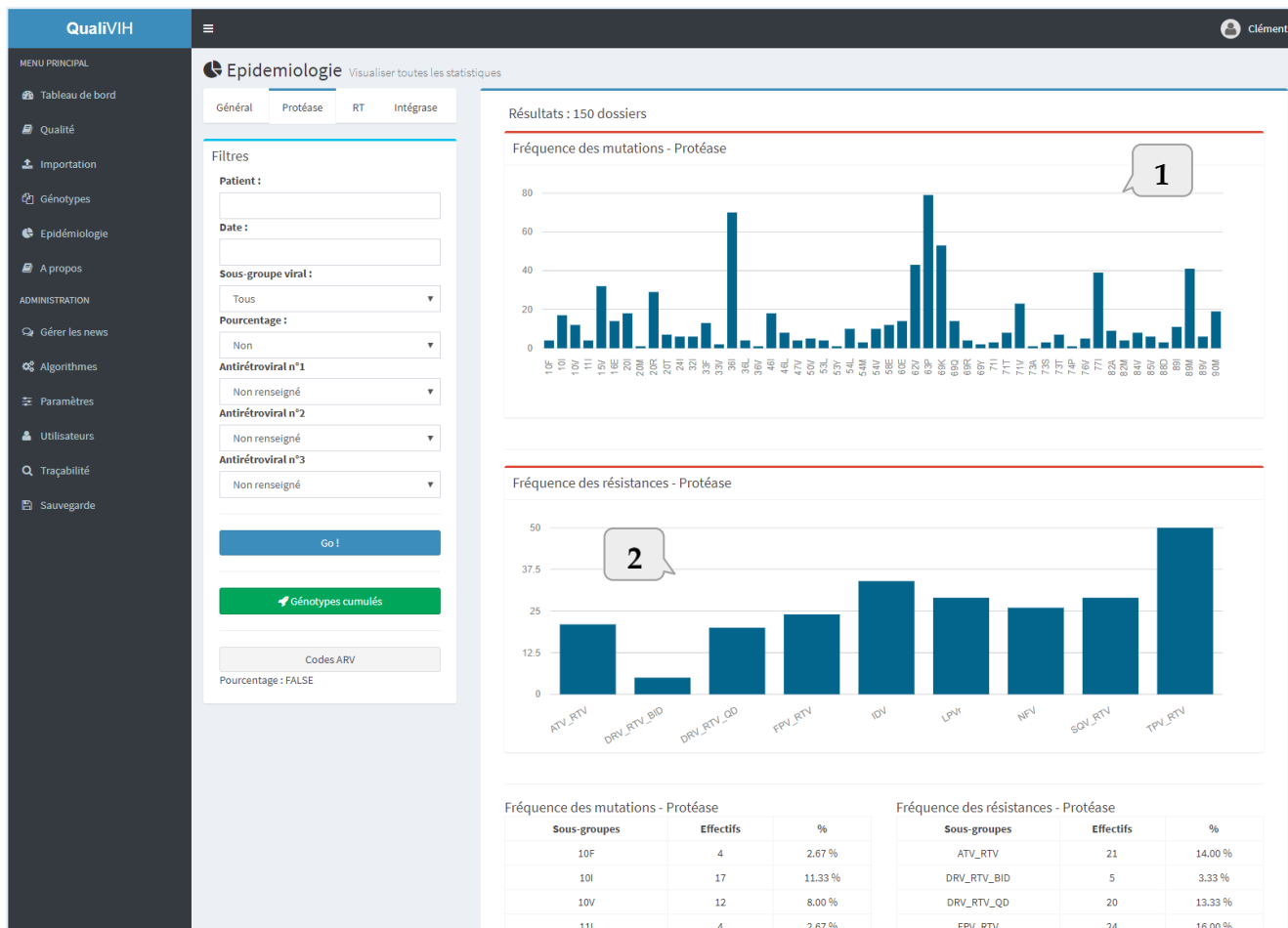


Figure 40 : QualiVIH - rapports épidémiologiques : mutations et résistances touchant les inhibiteurs de protéase

L'onglet « Protéase » de la vue « Epidémiologie » présente sous forme de graphiques et tableaux :

1. les répartitions des mutations de résistance paramétrées dans l'algorithme d'interprétation ;
2. la fréquence des résistances virales aux différents ARV.

Ces données sont présentées sous formes d'histogrammes et de tableaux.

V.4.6.b. Evolution

Contrairement aux comptes-rendus de génotypage, il n'est pas permis, à l'heure actuelle, d'exporter ces résultats sous la forme de fichiers XLS. Cette fonctionnalité sera disponible prochainement.

V.4.7. Aide au management de la qualité

V.4.7.a. Organisation générale

L'évaluation génotypique de la résistance du VIH-1 aux ARV utilisée au LBM du CHRMT est réalisée par la technique ViroSeq VIH-1 Genotyping System commercialisée par Abbott®. La traçabilité de l'utilisation des nombreux consommables aux multiples sous-processus techniques est difficile à maîtriser par l'absence d'automatisation. QualiVIH propose un module « Qualité » sur lequel le LBM peut s'appuyer dans sa démarche d'accréditation. Le processus de gestion de la qualité effectué par l'application est décrit dans la figure 41.

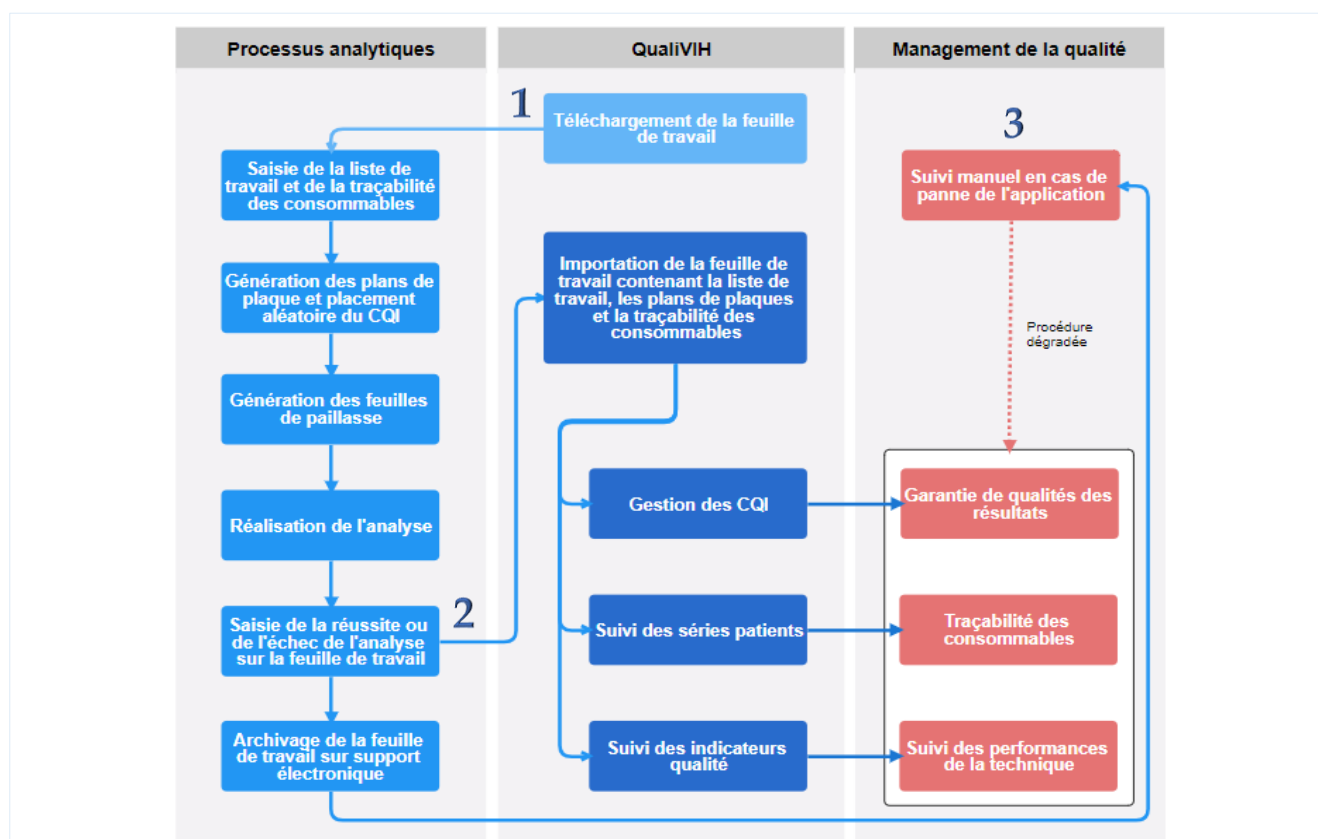


Figure 41 : Aide au management de la qualité proposée par QualiVIH

1. Le module d'aide au management de la qualité de QualiVIH fonctionne à l'aide de fichiers XLS capables de générer des feuilles de paillasse nécessaires au bon déroulement du processus analytique dès lors qu'une liste de travail y est saisie par l'équipe technique. Il se charge également d'imposer un plan de plaque (pour thermocycleurs et séquenceurs) et d'y placer aléatoirement le CQI (cela permet de valider la robustesse de la technique vis-à-vis des éventuelles variations métrologiques des thermocycleurs).
2. Une fois l'analyse réalisée, ce fichier XLS peut être importé directement dans l'application QualiVIH et permet la gestion des CQI, la maîtrise de la traçabilité des consommables utilisés pour chaque patient, la possibilité de réaliser des requêtes nécessaires aux actions de réactovigilance et de calculer de manière autonome des indicateurs qualité pour évaluer en continu les performances de la technique.
3. En cas d'indisponibilité de QualiVIH (en cas de panne serveur par exemple), les classeurs XLS archivés servent alors de base de travail pour répondre aux exigences normatives de l'accréditation de la technique (procédure dégradée).

V.4.7.b. Feuilles de travail pour le personnel technique

Le classeur XLS (figure 42) peut être téléchargé directement dans le composant « Qualité » de QualiVIH depuis le lien « Import feuilles de travail » du menu principal. Une fois l'ensemble des données requises (cellules en orange) saisi, les feuilles de paillasse contenant les informations nécessaires au bon déroulement de l'analyse (procédure technique simplifiée, volumes des réactifs nécessaires calculés, plan de plaques, placement du CQI dans la série...) peuvent être imprimées. Ce fichier XLS permet de réduire les saisies manuelles au strict nécessaire par l'équipe technique et sert de support d'importation de données dans QualiVIH car il contient l'ensemble des informations destinées à être tracées (liste des patients, CQI, positions sur plaques, références des lots de consommables, dates de réalisation et succès des différents sous-processus, opérateur technique, ...). Les feuilles de paillasse imprimées ont pour seule vocation d'être une aide lors de la réalisation technique et n'ont pas finalité à être conservées.

GENOTYPAGE HIV
Feuilles de travail

Schéma : 2

* = indispensable

| Dossier* | Nom | Date de naissance | Date de prélèvement | UF prescripteur | Charge (cp/mL)* | Série* |
|----------|-----------|-------------------|---------------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| 123456 | Patient 1 | 01/01/1910 | 01/01/2018 | UF 1234 | 830 | 1- RT-Pr + Inté |
| 234567 | Patient 2 | 01/01/1920 | 01/01/2018 | UF 1234 | 5080 | 1- RT-Pr + Inté |
| 345678 | Patient 3 | 01/01/1930 | 01/01/2018 | UF 1234 | 130587 | 1- RT-Pr + Inté |
| 456789 | Patient 4 | 01/01/1940 | 01/01/2018 | UF 1234 | 530670 | 1- RT-Pr + Inté |
| 567890 | Patient 5 | 01/01/1950 | 01/01/2018 | UF 1234 | 5080 | 1- RT-Pr + Inté |
| 678901 | Patient 6 | 01/01/1960 | 01/01/2018 | UF 1234 | 7605 | 2- RT-Protéase |
| 789012 | Patient 7 | 01/01/1970 | 01/01/2018 | UF 1234 | 45680 | 3- Intégrase |

| N° | Dossier | Nom | Date de naissance | Date de prélèvement | UF prescripteur | Charge (cp/mL) |
|----|---------|-----------|-------------------|---------------------|-----------------|----------------|
| 1 | 123456 | Patient 1 | 01/01/1910 | 01/01/2018 | UF 1234 | 830 |
| 2 | CQI | CQI | - | - | Laboratoire | 7500 |
| 3 | 234567 | Patient 2 | 01/01/1920 | 01/01/2018 | UF 1234 | 5080 |
| 4 | 345678 | Patient 3 | 01/01/1930 | 01/01/2018 | UF 1234 | 130587 |
| 5 | 456789 | Patient 4 | 01/01/1940 | 01/01/2018 | UF 1234 | 530 670 |
| 6 | 567890 | Patient 5 | 01/01/1950 | 01/01/2018 | UF 1234 | 5 080 |
| 7 | 678901 | Patient 6 | 01/01/1960 | 01/01/2018 | UF 1234 | 7 605 |

| N° | Dossier | Nom | Date de naissance | Date de prélèvement | UF prescripteur | Charge (cp/mL) |
|----|---------|-----------|-------------------|---------------------|-----------------|----------------|
| 1 | 123456 | Patient 1 | 01/01/1910 | 01/01/2018 | UF 1234 | 830 |
| 2 | CQI | CQI | - | - | Laboratoire | 7500 |
| 3 | 234567 | Patient 2 | 01/01/1920 | 01/01/2018 | UF 1234 | 5080 |
| 4 | 345678 | Patient 3 | 01/01/1930 | 01/01/2018 | UF 1234 | 130587 |
| 5 | 456789 | Patient 4 | 01/01/1940 | 01/01/2018 | UF 1234 | 530 67 |
| 6 | 567890 | Patient 5 | 01/01/1950 | 01/01/2018 | UF 1234 | 5 080 |
| 7 | 789012 | Patient 7 | 01/01/1970 | 01/01/2018 | UF 1234 | 45 680 |

| Etape | tps | date effective |
|------------|-----|----------------|
| Extraction | +1 | 07/07/2018 |
| RT | +2 | 09/07/2018 |
| PCR | +2 | 11/07/2018 |
| Séquençage | +3 | 14/07/2018 |

| Date | Tech |
|------------|-----------|
| 06/07/2018 | CK |
| | Version 1 |

| Traçabilité des lots réactifs | | | |
|-------------------------------|---------|-------------------------|---------|
| Lot ViroSeq RT-Protéase : | Lot 123 | Lot ViroSeq intégrase : | Lot 234 |
| Lot cleaUp Reagent : | Lot abc | Lot Acétate de sodium : | Lot bcd |

Figure 42 : Classeur XLS de gestion des feuilles de travail et destiné à être importé dans QualiVIH

Le personnel technique chargé de l'analyse saisit les différents champs pour lesquels la modification est autorisée (cellules colorées en orange), cela permet de générer les feuilles de paillasse et de servir de support d'importation dans QualiVIH :

1. pour chaque échantillon : identifiants dossiers et patients, date de prélèvement, UF prescripteur, CV VIH-1, série(s) concernée(s) : « RT-Protéase », « Intégrase » ou « RT-Pr + Inté » ;
2. les références de lots réactifs ;
3. les initiales de la personne réalisant l'analyse ;
4. les dates de réalisation de l'extraction, RT-PCR et séquençage ;
5. l'utilisateur est ensuite invité à cliquer sur le bouton « Générer (hasard) ». Les feuilles de paillasse sont générées, le CQI alors placé de manière aléatoire dans la série, et les plans de plaques, dessinés sur les feuilles de paillasse. Une fois l'étape analytique terminée, la réussite des étapes de RT-PCR et de séquençage doit être renseignée. Le classeur est ensuite archivé et est prêt à être importé ;
6. le bouton « Générer (prédéfini) » permet d'imposer la position du CQI dans la série ;
7. le bouton « Impression » permet d'imprimer les feuilles de paillasse configurées.

Le classeur est archivé et peut être importé à tout moment dans l'application QualiVIH afin d'automatiser les processus de suivis des séries de patients et de gestion des CQI.

V.4.7.c. Importation des données de la feuille de travail

Cette fonction (figure 43) est accessible depuis le lien « Qualité » puis « Import feuilles de travail » du menu principal. Pour importer un classeur préalablement rempli, il suffit à l'utilisateur de cliquer sur le bouton « Importer Excel » et de sélectionner le fichier désiré. Les données du classeur s'affichent alors dans le formulaire. L'utilisateur a ensuite la possibilité de modifier chacun des éléments, avant de sauvegarder le contenu en BDD. Cette fonctionnalité permet à l'utilisateur d'automatiser le traitement des données contenues dans les classeurs XLS tout en s'affranchissant de toute étape de saisie supplémentaire.

QualiVIH Clément

MENU PRINCIPAL

- Tableau de bord
- Qualité
- Importation
- Génotypes
- Epidémiologie
- A propos

ADMINISTRATION

- Gérer les news
- Algorithmes
- Paramètres
- Utilisateurs
- Traçabilité
- Sauvegarde

Import de feuilles de travail Manuel ou automatisé

2

RT-Protéase Intégrase

Patients inclus dans la série RT-Protéase du 06/07/2018

| Dossier | Charge virale (cp/mL) | Réussite PCR | Réussite séquençage | Dilution PCR | Position | Remarques |
|---------|-----------------------|--------------|---------------------|--------------|----------|-----------|
| 123456 | 830 | OUI | OUI | 1/2 | 1 | |
| CQI | 7500 | OUI | OUI | 1/2 | 2 | |
| 234567 | 5080 | OUI | OUI | 1/4 | 3 | |
| 345678 | 130587 | NOI | NON | 0 | 4 | |
| 456789 | 530670 | OUI | NON | 1/4 | 5 | |
| 567890 | 5080 | OUI | NON | 1/2 | 6 | |
| 678901 | 7605 | NOI | NON | 0 | 7 | |

3

1

4

5

6

Télécharger le classeur de travail (.xls)

Copyright © 2018 QualiVIH QualiVIH | Version 1.1

Figure 43 : QualiVIH - formulaire d'import du classeur de gestion des feuilles de travail

La vue d'importation de feuilles de travail est composée :

1. d'une section regroupant les champs relatifs aux dates de réalisation des sous-processus, à l'identification de l'opérateur et aux références des lots réactifs ;
2. d'un système d'onglet correspondant à chacune des deux trousse de réactifs (« RT-Protéase » et « Intégrase ») et permettant de renseigner les informations pour chaque échantillon de la série ;
3. les champs requis pour chaque dossier sont : identifiant dossier, CV, réussite PCR, réussite séquençage, dilution des produits de PCR, position sur le plan de plaque et d'éventuelles remarques ;
4. d'un bouton « Importer Excel » permettant à l'utilisateur de charger les données d'un classeur XLS déjà complété directement dans ce formulaire ;
5. d'un bouton « Sauvegarder » permettant l'enregistrement et d'un bouton « Remise à zéro » permettant la réinitialisation du formulaire ;
6. d'un lien permettant le téléchargement d'un exemplaire vierge du classeur XLS.

V.4.7.d. Gestion des séries de patients

La gestion de la traçabilité des séries de patients est accessible depuis le menu principal, lien « Qualité » puis « Gestion des séries ». L'ensemble des dossiers est résumé dans un tableau où l'utilisateur peut choisir d'en modifier, supprimer, ou filtrer le contenu (figure 44). Tout comme en gestion des dossiers de génotypage, si un identifiant dossier est commun entre un dossier de traçabilité et un dossier de séquençage, un bouton orange représentant une loupe permettra de faire le lien entre ces deux derniers. Cette fonctionnalité permet par exemple de réaliser les requêtes nécessaires relatives à une action de réactovigilance et ainsi d'identifier l'ensemble des patients impactés par un lot réactif défaillant.

| Dossier | Date série | Position | Charge virale (cp/mL) | Réussite PCR | Dilution PCR | Réussite séquençage | Lot ViroSeq | Lot CleanUp | Lot Acétate | Technicien | Dernière modif. | Actions |
|---------------------------|------------|----------|-----------------------|--------------|--------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|------------|----------------------------------|------------------------------|
| 123456 RT- Protéase | 06/07/2018 | 1 | 830 | OUI | 1/2 | OUI | Lot 123 | Lot abc | Lot bcd | CK | Clément (10/07/2018 11:54) | [Loupe] [Crayon] [Corbeille] |
| 234567 RT- Protéase | 06/07/2018 | 3 | 5080 | OUI | 1/4 | OUI | Lot 123 | Lot abc | Lot bcd | CK | Clément (10/07/2018 11:54) | [Crayon] [Corbeille] |
| 345678 RT- Protéase | 06/07/2018 | 4 | 130587 | NON | 0 | NON | Lot 123 | Lot abc | Lot bcd | CK | Clément (10/07/2018 11:54) | [Crayon] [Corbeille] |
| 456789 RT- Protéase | 06/07/2018 | 5 | 530670 | OUI | 1/4 | NON | Lot 123 | Lot abc | Lot bcd | CK | Clément (10/07/2018 11:54) | [Loupe] [Crayon] [Corbeille] |
| 567890 RT- Protéase | 06/07/2018 | 6 | 5080 | OUI | 1/2 | NON | Lot 123 | Lot abc | Lot bcd | CK | Clément (10/07/2018 11:54) | [Loupe] [Crayon] [Corbeille] |
| 678901 RT- Protéase | 06/07/2018 | 7 | 7605 | NON | 0 | NON | Lot 123 | Lot abc | Lot bcd | CK | Clément (10/07/2018 11:54) | [Loupe] [Crayon] [Corbeille] |
| 123456 Intégrase | 06/07/2018 | 1 | 830 | OUI | 1/2 | OUI | Lot 234 | Lot abc | Lot bcd | CK | Clément (10/07/2018 11:54) | [Loupe] [Crayon] [Corbeille] |
| 234567 Intégrase | 06/07/2018 | 3 | 5080 | OUI | 1/4 | OUI | Lot 234 | Lot abc | Lot bcd | CK | Clément (10/07/2018 11:54) | [Crayon] [Corbeille] |

Figure 44 : QualiVIH - gestion des séries de patients

La vue de gestion des séries est composée :

1. d'une section permettant la réalisation de filtres par de nombreux critères (identifiant dossier, trousse réactifs, opérateur ayant réalisé l'analyse, références des lots réactifs, date de la série, position, réussite PCR/séquençage et CV) ;
2. d'un bouton permettant l'importation d'un nouveau classeur XLS ;
3. d'un tableau présentant l'ensemble des dossiers présents où chaque ligne est constituée des éléments suivants (selon les privilèges utilisateurs) :
 - l'identifiant dossier,
 - la date de la série,
 - la position sur la plaque,
 - la CV,
 - la réussite de la RT-PCR,
 - la réussite séquençage,
 - les lots des réactifs,
 - l'opérateur ayant réalisé l'analyse,
 - la traçabilité de la dernière modification du dossier,
 - un bouton orange représentant une loupe pour accéder à l'interprétation génotypique si le dossier existe,
 - un bouton bleu représentant un crayon permettant l'édition du dossier,
 - un bouton rouge représentant une corbeille permettant la suppression du dossier.

V.4.7.e. Gestion des contrôles internes de qualité

L'interface, accessible à partir du menu principal, lien « Qualité » puis « Gestion des CQI », possède une structure similaire à celle du suivi de la traçabilité des dossiers patient (figure 45). Seule une colonne supplémentaire permet d'évaluer automatiquement la conformité de la séquence du CQI vis-à-vis de celle attendue, si cette dernière est renseignée. L'utilisateur a également la possibilité de filtrer le contenu comme dans la vue « Gestion des séries de patients » décrite précédemment. Cette fonctionnalité permet de suivre rapidement la conformité des différents CQI, celle-ci étant effectuée automatiquement dès lors que la séquence obtenue du CQI est renseignée. La saisie de celle-ci s'effectue par importation de fichiers FASTA disponibles dans l'édition du dossier du CQI.

The screenshot displays the 'QualiVIH' interface for managing internal quality control (CQI) series. The main area shows a table titled 'Liste des CQI - 6 résultats'. The table columns include: Série, Position, Réussite PCR, Dilution PCR, Réussite séquençage, Lot ViroSeq, Lot CleanUp, Lot Acétate, Technicien, Mismatch, Dernière modif., and Actions. The table contains six rows of data with status indicators like 'Conforme', 'Non conforme', and 'Non saisi'. A sidebar on the left provides various filters for the data. A 'Go!' button is located at the bottom of the filter panel. A callout box '1' points to the filter panel, '2' points to the '+ Importer une série' button, and '3' points to the table header.

| Série | Position | Réussite PCR | Dilution PCR | Réussite séquençage | Lot ViroSeq | Lot CleanUp | Lot Acétate | Technicien | Mismatch | Dernière modif. | Actions |
|---------------------------|----------|--------------|--------------|---------------------|-------------|-------------|-------------|------------|---|----------------------------------|-----------------|
| 15/07/2018 RT-Protéase | 2 | OUI | 1/2 | OUI | Lot 123 | Lot abc | Lot bcd | CK | Conforme ΔPr : 0 ΔRT : 0 | Clément (28/07/2018 22:45) | [Edit] [Delete] |
| 15/07/2018 Intégrase | 2 | NON | 1/3 | NON | Lot 234 | Lot abc | Lot bcd | CK | Conforme ΔInté : 0 | Clément (28/07/2018 22:45) | [Edit] [Delete] |
| 06/07/2018 Intégrase | 2 | NON | 1/3 | NON | Lot 234 | Lot abc | Lot bcd | CK | Non saisi | Clément (10/07/2018 11:54) | [Edit] [Delete] |
| 06/07/2018 RT-Protéase | 2 | OUI | 1/2 | OUI | Lot 123 | Lot abc | Lot bcd | CK | Non conforme ΔPr : 0 ΔRT : 1 [1-r] | Clément (10/07/2018 12:05) | [Edit] [Delete] |
| 01/06/2018 RT-Protéase | 2 | NON | 1/2 | NON | 481835 | 476829 | 0446225 | NK | Non saisi | Clément (15/06/2018 12:45) | [Edit] [Delete] |
| 01/06/2018 Intégrase | 4 | OUI | 1/5 | OUI | 478898 | 476829 | 0446225 | NK | Non conforme ΔInté : 1 [47-t] | Clément (08/07/2018 23:02) | [Edit] [Delete] |

Figure 45 : QualiVIH - gestion des séries de contrôles internes

La vue de gestion des CQI est composée :

1. d'une section permettant la réalisation de filtres par de nombreux critères (identifiant dossier, trousse réactifs, opérateur ayant réalisé l'analyse, références des lots réactifs, date de la série, position, réussite PCR/séquençage et CV) ;
2. d'un bouton permettant l'importation d'un nouveau classeur XLS ;
3. d'un tableau présentant l'ensemble des CQI présents où chaque ligne est constituée des éléments suivants (selon les privilèges utilisateurs) :
 - la date de la série,
 - la position sur la plaque,
 - la réussite de la RT-PCR,
 - la réussite séquençage,
 - les lots des réactifs,
 - l'opérateur ayant réalisé l'analyse,
 - la conformité du CQI,
 - la traçabilité de la dernière modification du dossier,
 - un bouton bleu représentant un crayon permettant l'édition du dossier et import de la séquence du CQI,
 - un bouton rouge représentant une corbeille permettant la suppression du dossier.

V.4.7.f. Indicateurs qualité

Cette fonctionnalité est accessible par le lien « Qualité » puis « Indicateurs qualité » du menu principal. L'ensemble des indicateurs est calculé au chargement de la vue (figure 46). L'utilisateur peut filtrer les dossiers, sur lesquels les indicateurs sont calculés, selon plusieurs critères : date de réalisation de l'analyse, lots réactifs, positions des échantillons, réussite PCR/séquençage et CV. Les indicateurs qualité calculés correspondent aux taux de remplissage des séries (la capacité maximale d'une série au LBM du CHRMT est de 8 échantillons), les taux de succès de la RT-PCR et du séquençage, la conformité des CQI, la distribution des charges virales et les fréquences d'occupation des différentes positions sur plaques (par patient et par CQI). Le LBM peut donc s'appuyer sur ces indicateurs et ainsi les suivre en temps réel sans étape intermédiaire de calcul pour évaluer en permanence les performances de la technique analytique.

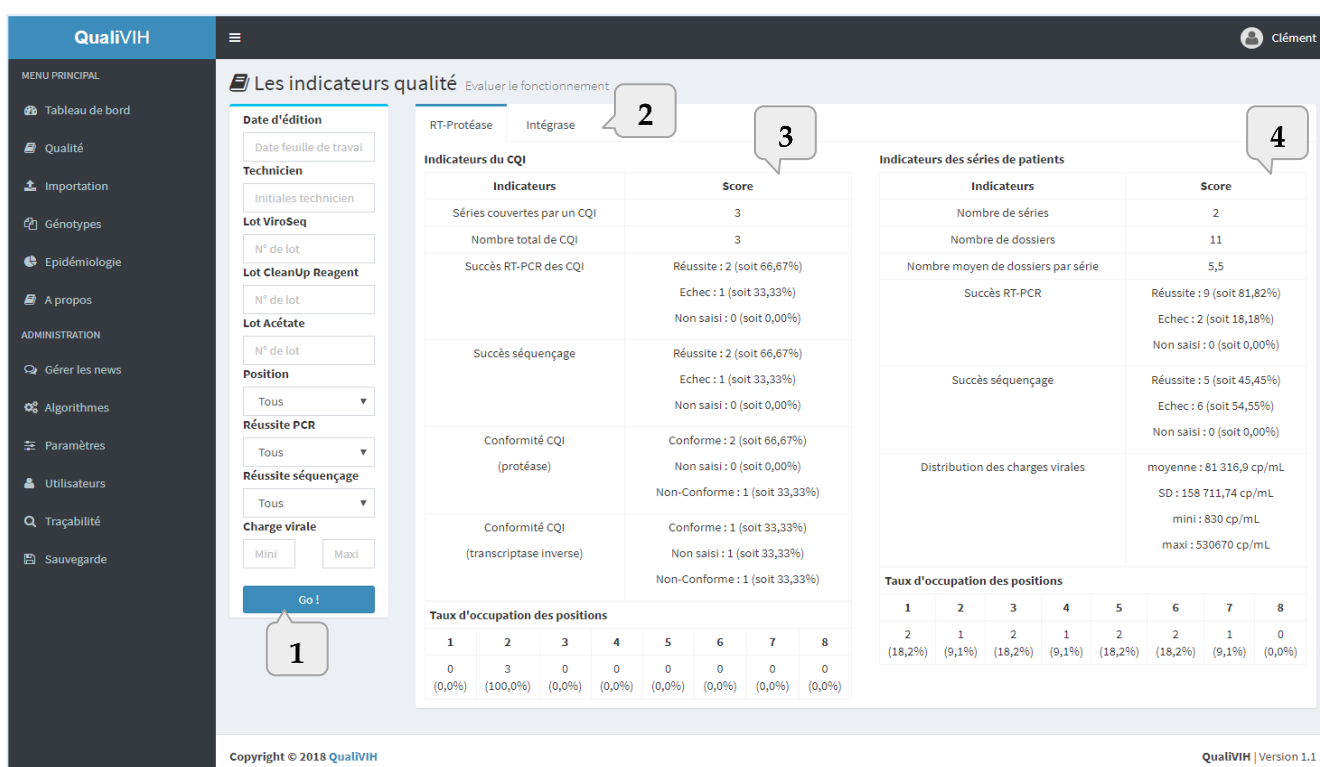


Figure 46 : QualiVIH - indicateurs qualité

La vue des indicateurs qualité est composée :

1. d'une section permettant la réalisation de filtres ;
2. d'un système d'onglets permettant l'étude des indicateurs qualité pour les trousse de réactifs RT-Protéase et Intégrase ;
3. d'un tableau présentant l'ensemble des indicateurs qualité calculés pour l'ensemble des CQI ;
4. d'un tableau présentant l'ensemble des indicateurs qualité calculés pour l'ensemble des patients.

V.4.7.g. Evolution

Le module qualité de QualiVIH a été développé pour venir en support à la démarche d'accréditation menée par le LBM du CHRMT. Celui-ci est intimement lié à la technique utilisée et l'organisation interne du LBM. Ce module devra évoluer avec un éventuel changement de technique et ne sera probablement plus nécessaire avec la mise en place d'une automatisation analytique notamment par le développement du NGS (l'ensemble de ces données serait alors disponible directement dans l'applicatif de l'automate). En attendant la démocratisation de ces nouvelles techniques, ce module procure au LBM un outil de gestion de traçabilité qu'il peut alors intégrer dans son système de management de la qualité.

La séquence de référence du CQI, attendue lors du génotypage n'est à l'heure actuelle pas paramétrable car elle est directement intégrée au code source de l'application. Celle-ci est propre aux CQI utilisés au LBM et devra donc être modulable par la suite. Enfin les critères de conformité du CQI sont, eux aussi, non paramétrables pour l'instant. Il a été défini une non-conformité du CQI dès lors qu'une discordance entre la séquence mesurée et la séquence de référence est observée. La personnalisation et la mise en place d'autres indicateurs nécessitent de modifier le code source de l'application et n'est donc pas accessible à l'utilisateur. La possibilité d'export de ces résultats (sous forme de classeur XLS par exemple) n'est pas encore disponible. Là encore, la nécessité de cette fonctionnalité sera réévaluée lors de l'automatisation future de la technique de séquençage viral.

V.4.8. Fonctions d'administration

Les fonctions d'administration sont des fonctions avancées et relatives à la gestion même de QualiVIH. Elles permettent de gérer tout l'écosystème logiciel régnant autour des fonctionnalités de l'application et d'assurer son autonomie. Leur rôle étant secondaire, celles-ci seront présentées brièvement.

V.4.8.a. Gestion des utilisateurs

L'application permet de gérer les comptes utilisateurs des différents opérateurs utilisant l'application. On y définit notamment l'identifiant, une adresse courriel, un mot de passe sécurisé, un lieu d'activité et les privilèges de l'utilisateur au sein de QualiVIH.

V.4.8.b. Gestion des messages d'accueil

Les messages apparaissant lors de la connexion de l'utilisateur sont paramétrables et permettent de l'avertir sur des faits divers tels que l'apparition d'une nouvelle fonctionnalité, la mise en place d'un correctif d'application ou encore la mise à jour d'un algorithme d'interprétation.

V.4.8.c. Sauvegarde

L'application offre la possibilité de sauvegarder le contenu de la BDD localement, côté client, sous la forme d'un fichier SQL. Il est à noter que le contenu de la BDD peut être enregistré automatiquement, côté serveur, selon la configuration de ce dernier.

V.4.8.d. Traçabilité

L'ensemble des écritures et modifications de données en BDD est tracé et visualisable directement (figure 47). Sont mentionnés l'identifiant de l'utilisateur, la date et heure de l'action, l'adresse IP et le détail de l'opération effectuée. La traçabilité des actions effectuées sur l'application se veut exhaustive, et peut également faire l'objet de requête par le biais de filtres pour retrouver une action d'intérêt effectuée.

| Utilisateur | Date | Adresse IP | Actions |
|-------------|---------------------|------------|--|
| Clément | 05/06/2018 15:50:08 | :::1 | login |
| Clément | 05/06/2018 15:50:22 | :::1 | Import d'un fichier SmartGene - dossier [création] Dossier : 123456 |
| Clément | 05/06/2018 15:50:22 | :::1 | Import d'un fichier SmartGene - protéase [création] Mutations : 3I, 36I, 37N, 62V, 63P, 93L |
| Clément | 05/06/2018 15:50:23 | :::1 | Import d'un fichier SmartGene - RT [création] Mutations : 49K, 49R, 122K, 181C, 211G, 214F, 245K, 288S, 297A, 313S, 329I, 329V, 333E, 334L |
| Clément | 05/06/2018 15:50:49 | :::1 | Import d'un fichier fasta - protéase [création] Séquence : CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAATAAGATAGGGGGCAACTAAAGGA |
| Clément | 05/06/2018 15:50:59 | :::1 | Traduction de séquence - protéase [création] Séquence : AQITLWQRPLVTIKIGGQLKEALLDGTADDTVLEEMSLPGRWPKMKMIGGIGFIKVRQYDQILII |
| Clément | 05/06/2018 15:51:08 | :::1 | Comparaison de séquences - protéase [création] Mutations : 1Z, 3I |
| Clément | 05/06/2018 15:51:21 | :::1 | Import d'un fichier fasta - RT [création] Séquence : CCCATTAGTCCTATTGAAACTGTACCAGTAAATAAGCCAGGAATGGATGCCCAAGAGTT |
| Clément | 05/06/2018 15:51:30 | :::1 | Traduction de séquence - RT [création] Séquence : [TA]SPIETVPVKLKPGMDGPRVKQWPLTEEKIKALVEICTELEKEGKISKIGPENPYNTPIFAIK |
| Clément | 05/06/2018 15:51:42 | :::1 | Comparaison de séquences - RT [création] Mutations : 1Z, 20R, 41L, 60I, 103N, 104R, 122K, 123E, 162A, 173R, 200I, 211K, 214F, 215C, 215G, |
| Clément | 05/06/2018 15:51:49 | :::1 | Import d'un fichier fasta - intégrase [création] Séquence : CCTCAGATCACTCTTTGGCAACGACCCCTCGTCACAATAAGATAGGGGGCAACTAAAGGAAGCTCTATT |
| Clément | 05/06/2018 15:52:01 | :::1 | Traduction de séquence - intégrase [création] Séquence : XQITLWQRPLVTIKIGGQLKEALLDGTADDTVLEEMSLPGRWPKMKMIGGIGFIKVRQYDQILII |

Figure 47 : QualiVIH - traçabilité interne de l'application

La vue de la traçabilité interne est composée :

1. d'une section permettant la réalisation de filtres (utilisateur, et type et date d'actions) ;
2. d'un tableau présentant l'ensemble des actions tracées en BDD où chaque ligne est constituée des éléments suivants :
 - l'identifiant de l'utilisateur,
 - la date de l'action,
 - l'adresse IP à partir de laquelle a été réalisée l'action,
 - le type d'actions : correspond à la thématique de l'action (par exemple : login, import, ...),
 - les détails de l'action tracée (par exemple : séquence FASTA importée).

VI. DISCUSSION

La conception avancée de QualiVIH permet de répondre, de façon simple et moderne, à de nombreux besoins tels que l'interprétation de génotypes cumulés, le suivi épidémiologique et l'optimisation du management de la qualité au sein du LBM. Néanmoins, l'application nécessite encore de nombreuses étapes de développement pour se voir parfaitement aboutie. Les nombreuses évolutions logicielles évoquées précédemment sont en effet encore en cours de développement.

VI.1. Evaluation

A l'heure actuelle, le logiciel QualiVIH est uniquement déployé au sein du CHRMT où il est en cours d'évaluation. Un déploiement sur d'autres LBM volontaires est envisagé à court terme où l'application gagnera encore en maturité et fonctionnalités. Afin de synthétiser l'intérêt des fonctionnalités de QualiVIH face aux solutions existantes, le tableau comparatif des solutions existantes présenté précédemment dans le contexte de ce travail est repris avec QualiVIH (tableau V).

| Tableau V : Comparaison entre QualiVIH et les principaux logiciels relatifs au génotypage VIH-1 disponibles actuellement | | | | | | | |
|--|---------------------------------|--|---------------------|------------|-------------------------|-------------|-------------|
| Logiciels | SmartGene® IDNS® | Abbott® Viroseq™ | Stanford HIVdb | Greg+ | ThermoFisher® SeqScape® | SeqTrace | QualiVIH |
| Licence | Commerciale (annuelle) | Commerciale (fournie avec kit réactif) | Gratuitiel | Gratuitiel | Commerciale | Libre (GNU) | Libre (GNU) |
| Support / mise à jour | ✓ | ✓ | ✓ | ○ | ✓ | ✓ | ✓ |
| Alignement des contigs | ✓ | ✓ | ○ | ○ | ✓ | ✓ | ○ |
| Visualisation des contigs | ✓ | ✓ | ○ | ○ | ✓ | ✓ | ○ |
| Edition des contigs | ✓ | ✓ | ○ | ○ | ✓ | ✓ | ○ |
| Bases dégénérées | ✓ | ✓ | ✓ | ○ | ✓ | ✓ | ✓ |
| Traduction peptidique | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ○ | ○ | ✓ |
| Interprétation génotypique | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ | ○ | ○ | ✓ |
| Génotypes cumulés | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ✓ |
| Algorithmes disponibles | Selon licence (ANRS disponible) | Stanford uniquement | Stanford uniquement | Obsolètes | ○ | ○ | Libres |
| Personnalisation des algorithmes | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ✓ |
| Détermination du sous-groupe | ✓ | ○ | ✓ | ○ | ○ | ○ | ○ |
| Epidémiologie | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ✓ |
| Aide au management de la qualité | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ○ | ✓ |

Légende : ✓ fonctionnalité présente ○ fonctionnalité absente

Pour devenir une solution complète, les fonctionnalités de lecture d'électrophorégrammes et de détermination du sous-typage viral restent à être développées. L'intégration et l'adaptation de l'application open source SeqTrace (codée en langage Python) (44) au sein de QualiVIH sont actuellement envisagées pour remédier à ce premier manque. Ensuite, l'application Stanford HIVdb propose la possibilité d'implanter localement dans toute application un script de sous-typage viral (codé en langage Perl) permettant l'accès à leur propre BDD directement depuis QualiVIH.

VI.2. Evolution

L'avènement de nouvelles techniques de séquençage entièrement automatisées constitue le principal futur défi auquel devra répondre l'application, et permettra à QualiVIH de gagner en efficacité. Jusqu'à présent, l'analyse, la conception, la programmation et les tests logiciels n'ont reposé que sur une personne unique, ce qui freine considérablement les évolutions futures de QualiVIH, tant sur le plan du développement de nouvelles fonctionnalités, que sur le plan du processus support.

Plusieurs perspectives ont été envisagées pour assurer au mieux le support de l'application :

- L'application est gratuite pour le client (licence de type gratuit ou freeware) mais le code source est propriétaire et protégé. Ce modèle limite toutefois l'évolutivité de l'application, ainsi que sa maintenance ce qui pourrait menacer le cycle de développement futur de l'application.
- L'application devient payante pour le client, soit sous la forme d'achat d'une licence initiale soit sous la forme d'abonnement, ce qui permettrait d'acquérir les moyens matériels et humains pour maintenir et faire évoluer le système avec des outils plus efficaces et plus performants.
- L'application devient open-source sous licence publique générale GNU (GNU *general public license* (GPL))² (45): l'accès aux codes sources est public et chaque individu est libre de utiliser et de modifier l'application, ce qui permettrait d'offrir la possibilité de développement par la communauté utilisatrice. Ce type de licence impose la distribution sous cette même licence de l'ensemble des versions modifiées. De solides connaissances en programmation informatiques sont tout de même requises et l'approche métier du génotypage VIH-1 est nécessaire pour répondre au plus près aux besoins qu'engendre une telle analyse. Ce modèle a été choisi pour faciliter le développement futur de QualiVIH. Un rapprochement avec l'ANRS est envisagé pour promouvoir l'application et former une communauté de développement active. Une proposition de communication orale (disponible en [annexe 3](#)) a également été soumise à la 38ème édition de la réunion interdisciplinaire de chimiothérapie anti-infectieuse (RICAI 2018).

² La licence GNU GPL permet de garantir à l'utilisateur les droits et les devoirs suivants :

- la liberté d'exécuter le logiciel quel que soit la finalité désirée ;
- la liberté d'accès aux codes sources de l'application ;
- la liberté d'étudier le fonctionnement d'un logiciel et de l'adapter à ses propres besoins ;
- la liberté de redistribuer des copies logicielles ;
- l'obligation de faire bénéficier la communauté des versions modifiées sous cette même licence.

Une fois la phase de test de validation effectuée (prévue au premier trimestre 2019), le code factorisé et commenté (permettant d'être compris plus aisément), l'application deviendra open-source sous licence GNU GPL.

La figure 48 permet de situer l'avancement du cycle de développement de l'application QualiVIH et reprend les différents axes d'améliorations évoqués précédemment.

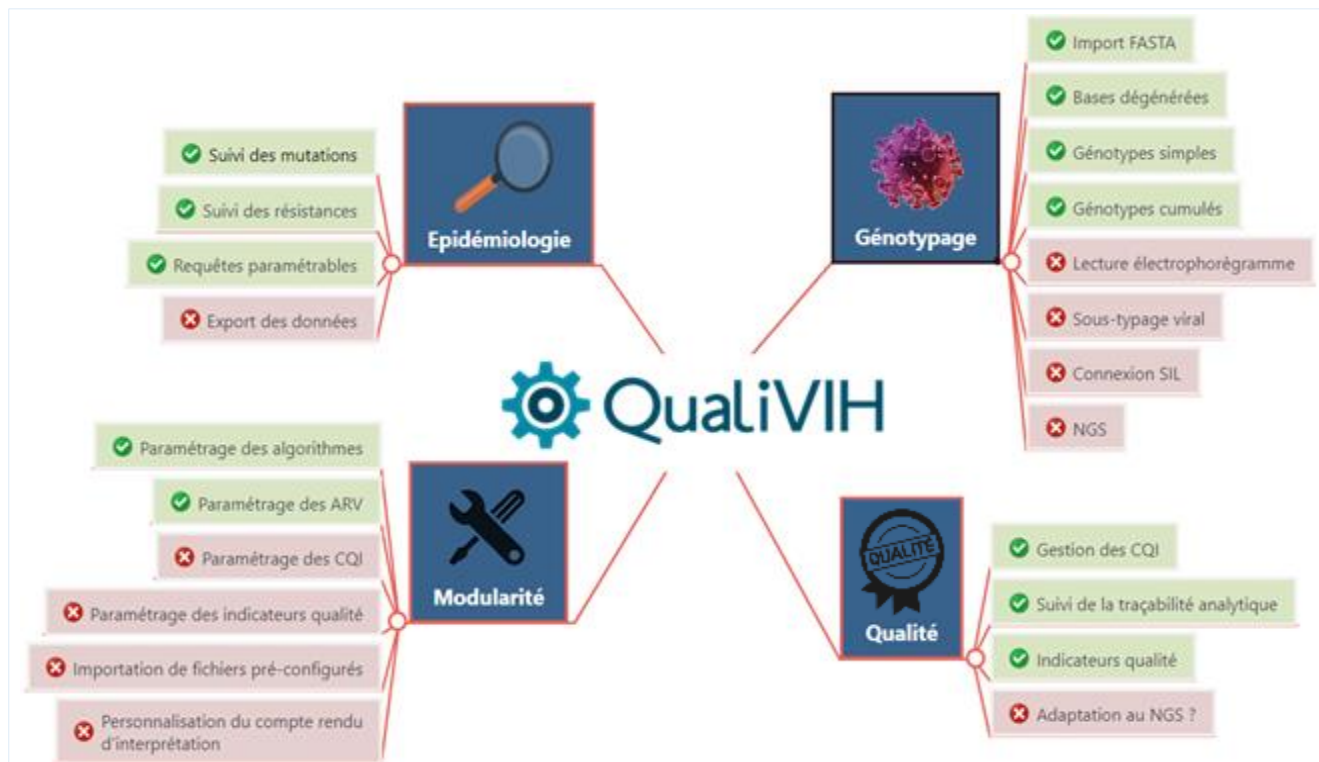


Figure 48 : Avancement du projet QualiVIH

Les fonctionnalités présentes dans un cadre vert sont d'ores et déjà fonctionnelles, celles dans un cadre rouge restent à développer et à tester.

Enfin, il est également envisagé de mettre à disposition sur l'internet, une version allégée de QualiVIH, permettant uniquement l'interprétation de données de séquençage viral. L'utilisateur aura la possibilité d'interpréter des génotypes simples ou cumulés (aucune donnée ne sera enregistrée en ligne, l'interprétation sera extemporanée) avant de télécharger le compte rendu d'interprétation anonyme sous fichier XLS.

VI.3. Financement

Le développement complet de l'application n'a pas été financé et n'a engendré aucun coût. Seuls l'achat du nom de domaine qualivih.fr et son hébergement (nécessaires pour l'accès à la version de démonstration) ont présenté un coût annuel de l'ordre d'une quarantaine d'euros. Le déploiement de l'application s'effectuant sur l'intranet, aucun coût d'hébergement ne sera à déplorer pour le LBM désirant utiliser QualiVIH. L'application est entièrement autonome et s'appuie sur des licences libres (SGBDR MySQL® par exemple), ce qui permet de n'engendrer strictement aucun coût de fonctionnement.

VI.4. Licences libres intégrées au projet

Quelques projets, tous open-source, ont été intégrés à QualiVIH. Le **tableau VI** résume les différents projets ayant aidé au développement de l'application. Une vue de QualiVIH accessible depuis le lien « A propos » du menu principal mentionne ces informations directement au sein de QualiVIH. Un remerciement et une reconnaissance particulière est faite à toute la communauté ayant participé à leur élaboration.

Tableau VI : Projets *open source* intégrés dans QualiVIH

| Nom du projet intégré | Fonctions | Lien officiel du projet |
|-----------------------------------|---|---|
| <i>CodeIgniter</i> | Framework PHP | https://codeigniter.com/ |
| <i>Bootstrap</i> | Collection d'outils utile à la création du design d'applications web | http://getbootstrap.com/ |
| <i>jQuery</i> | Bibliothèque JavaScript pour faciliter l'écriture de scripts côté client | http://jquery.com/ |
| <i>AdminLTE</i> | Template HTML/CSS | http://github.com/almasaeed2010/AdminLTE |
| <i>Ionicon</i> | Bibliothèques d'icônes | http://github.com/ionic-team/ionicons |
| <i>PhpSpreadsheet</i> | Lecture et écriture de classeur XLS | http://github.com/PHPOffice/PhpSpreadsheet |
| <i>PHP Simple HTML DOM Parser</i> | Lecture de fichier HTML | https://github.com/sunra/php-simple-html-dom-parser |
| <i>Morris.js</i> | Bibliothèque JavaScript pour faciliter la création de graphiques | http://github.com/morrisjs/morris.js |
| <i>Raphael.js</i> | Bibliothèque JavaScript pour faciliter le dessin vectoriel | http://github.com/DmitryBaranovskiy/raphael |
| <i>Date Picker</i> | Bibliothèque JavaScript pour faciliter la validation formulaire côté client | http://github.com/fengyuanchen/datepicker |
| <i>Date Range Picker</i> | Bibliothèque JavaScript pour faciliter la validation formulaire côté client | http://github.com/dangrossman/daterangepicker |
| <i>Input Mask</i> | Bibliothèque JavaScript pour faciliter la validation formulaire côté client | http://github.com/RobinHerbots/jquery.inputmask/ |
| <i>jQuery Filestyle</i> | Template de l'input=file | http://github.com/markusslima/jquery-filestyle |
| <i>CK Editor</i> | Editeur de texte | http://github.com/ckeditor |

VII. CONCLUSION

Le génotypage VIH-1, par séquençage selon la méthode de Sanger, est une analyse exigeante vis-à-vis des moyens du LBM. Exigeante d'un point de vue analytique : le processus de réalisation est long, principalement non automatisé, et nécessite du personnel qualifié et spécialisé. Exigeante également vis-à-vis du management de la qualité : cette analyse est un processus complexe comprenant de nombreux réactifs, avec de nombreuses distributions manuelles, multipliant les données à être tracées pour en maîtriser l'environnement. Enfin, exigeante d'un point de vue post-analytique : l'interprétation des données de séquençage est complexe et en perpétuelle évolution devant l'actualisation des connaissances scientifiques (nouveaux algorithmes d'interprétation, nouvelles molécules antirétrovirales, ...).

Ces nombreux besoins font pourtant face à une réponse logicielle insuffisante, et tout particulièrement pour l'interprétation cumulée de génotypes de résistance, mais aussi pour le traitement des données inhérentes à la démarche d'accréditation, où aucune solution n'est encore disponible sur le marché.

C'est donc dans ce contexte qu'a été créée l'application QualiVIH. Celle-ci facilite le management de la qualité et la démarche d'accréditation inhérente à cette analyse par l'automatisation de la traçabilité (lots réactifs, positions sur thermocycleurs, positions sur séquenceurs, ...), par la gestion complète des CQI et par le calcul d'indicateurs de performance analytique. Elle permet également d'automatiser l'interprétation des génotypages viraux de manière isolée et cumulée (en fonction des antériorités des patients) selon des algorithmes définis ou personnalisables. L'application permet en outre de suivre exhaustivement l'épidémiologie virale de l'ensemble des patients suivis au LBM.

QualiVIH est une application PHP/MySQL® gratuite, open-source, installable directement sur les intranets des LBM. Son ergonomie et sa facilité d'utilisation en font un outil accessible, simple et unique.

Ce logiciel est actuellement déployé au sein du LBM du CHRMT et est en phase de test de validation avant mise en production.

De nombreuses évolutions restent à venir (lecture d'électrophorogrammes de Sanger, détermination des sous-types viraux, ...) et l'adaptation aux techniques NGS constituera le prochain défi de QualiVIH, mais également une réelle opportunité de développement.

VIII. REFERENCES

1. World Health Organization. Data and statistics about HIV/AIDS [Internet]. 2017 [cité 10 sept 2018]. Disponible sur: <http://www.who.int/hiv/data/en/>
2. Palella FJ, Delaney KM, Moorman AC, Loveless MO, Fuhrer J, Satten GA, et al. Declining morbidity and mortality among patients with advanced human immunodeficiency virus infection. HIV Outpatient Study Investigators. *N Engl J Med.* 1998;338(13):853-60.
3. Barré-Sinoussi F, Chermann JC, Rey F, Nugeyre MT, Chamaret S, Gruest J, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS). *Science.* 1983;220(4599):868-71.
4. Roberts JD, Bebenek K, Kunkel TA. The accuracy of reverse transcriptase from HIV-1. *Science.* 1988;242(4882):1171-3.
5. Preston BD, Poiesz BJ, Loeb LA. Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase. *Science.* 1988;242(4882):1168-71.
6. Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, Chen W, Leonard JM, Markowitz M. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. *Nature.* 1995;373(6510):123-6.
7. Lucas É, Cazein F, Brunet S, Thierry D, Pillonel J, Lot F, et al. Types, groupes et sous-types de VIH diagnostiqués en France depuis 2003 : données de huit années de surveillance. *Bull Epidémiologique Hebd.* 2012;46-47:5.
8. Plantier J-C, Leoz M, Dickerson JE, De Oliveira F, Cordonnier F, Lemée V, et al. A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. *Nat Med.* 2009;15(8):871-2.
9. De Leys R, Vanderborcht B, Vanden Haesevelde M, Heyndrickx L, van Geel A, Wauters C, et al. Isolation and partial characterization of an unusual human immunodeficiency retrovirus from two persons of west-central African origin. *J Virol.* 1990;64(3):1207-16.
10. Ramirez BC, Simon-Loriere E, Galetto R, Negroni M. Implications of recombination for HIV diversity. *Virus Res.* 2008;134(1-2):64-73.
11. Los Alamos National Laboratory. HIV Circulating Recombinant Forms [Internet]. HIV sequence database. 2018 [cité 13 août 2018]. Disponible sur: <https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/HIV/CRFs/CRFs.html>
12. Roquebert B, Damond F, Brun-Vézinet F, Descamps D. Diversité génétique des VIH et ses conséquences. *Pathol Biol.* 2009;57(2):142-8.
13. Morlat P. Prise en charge médicale des personnes vivant avec le VIH. Recommandations du groupe d'expert. Actualisation 2018; Disponible sur: <https://cns.sante.fr/actualites/prise-en-charge-du-vih-recommandations-du-groupe-dexperts>
14. Katlama C. Les échecs thérapeutiques. *Médecine Thérapeutique.* 2002;8(1):52-8.
15. Marcelin A-G, Delaugerre C, Wirden M, Viegas P, Simon A, Katlama C, et al. Thymidine analogue reverse transcriptase inhibitors resistance mutations profiles and association to other nucleoside reverse transcriptase inhibitors resistance mutations observed in the context of virological failure. *J Med Virol.* 2004;72(1):162-5.

16. Taiwo B, Gallien S, Aga E, Ribaud H, Haubrich R, Kuritzkes DR, et al. Antiretroviral Drug Resistance in HIV-1–Infected Patients Experiencing Persistent Low-Level Viremia During First-Line Therapy. *J Infect Dis.* 2011;204(4):515-20.
17. Winand R, Theys K, Eusébio M, Aerts J, Camacho RJ, Gomes P, et al. Assessing transmissibility of HIV-1 drug resistance mutations from treated and from drug-naive individuals. *AIDS Lond Engl.* 2015;29(15):2045-52.
18. Wensing AM, Calvez V, Günthard HF, Johnson VA, Paredes R, Pillay D, et al. 2017 Update of the Drug Resistance Mutations in HIV-1. *Top Antivir Med.* 2017;24(4):132-3.
19. Garforth SJ, Lwatula C, Prasad VR. The Lysine 65 Residue in HIV-1 Reverse Transcriptase Function and in Nucleoside Analog Drug Resistance. *Viruses.* 2014;6(10):4080-94.
20. Delaugerre C. Résistance du VIH aux inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INNTI). 2006;10:12.
21. Menéndez-Arias L. Molecular basis of human immunodeficiency virus type 1 drug resistance: overview and recent developments. *Antiviral Res.* 2013;98(1):93-120.
22. Malet I, Delelis O, Valantin M-A, Montes B, Soulie C, Wirden M, et al. Mutations associated with failure of raltegravir treatment affect integrase sensitivity to the inhibitor in vitro. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008;52(4):1351-8.
23. Castagna A, Maggiolo F, Penco G, Wright D, Mills A, Grossberg R, et al. Dolutegravir in antiretroviral-experienced patients with raltegravir- and/or elvitegravir-resistant HIV-1: 24-week results of the phase III VIKING-3 study. *J Infect Dis.* 2014;210(3):354-62.
24. Caisse Nationale de l'Assurance Maladie des Travailleurs Salariés. Nomenclature des Actes de Biologie Médicale [Internet]. 2018. Disponible sur: http://www.codage.ext.cnamts.fr/f_mediam/fo/nabm/DOC.pdf
25. Abbot Molecular. ViroSeq HIV-1 Integrase Genotyping Kit. Abbott Molecular; 2009.
26. Bigaillon C, Mérens A, Rapp C. Intérêt des tests génotypiques de résistance du VIH aux antirétroviraux en pratique clinique quotidienne. *Rev Francoph Lab.* 2010;422:69-82.
27. Van Beveren CP, Coffin J, Hughes S. Human immunodeficiency virus type 1 (HXB2), complete genome; HIV1/HTLV-III/LAV reference genome [Internet]. 1982 [cité 29 juill 2018]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/K03455.1>
28. Gibson RM, Schmotzer CL, Quiñones-Mateu ME. Next-Generation Sequencing to Help Monitor Patients Infected with HIV: Ready for Clinical Use? *Curr Infect Dis Rep.* 2014;16(4):401.
29. Agence nationale de recherche sur le sida et les hépatites virales, AC11. Genotype interpretation: nucleoside and nucleotide reverse transcriptase inhibitors [Internet]. 2018 [cité 22 juill 2018]. Disponible sur: <http://www.hivfrenchresistance.org/2018/Algo2018-HIV1.pdf>
30. Shafer R, Rhee S-Y, Tzou P. HIV Drug Resistance Database [Internet]. 2018 [cité 22 juill 2018]. Disponible sur: <https://hivdb.stanford.edu/>

31. Punyacam P, Iemwimangsa N, Chantratita W, Sukasem C, Sungkanuparph S. HIV drug resistance interpreted by cumulative versus last genotypes in HIV-infected patients with multiple treatment failures. *Curr HIV Res.* 2012;10(3):271-4.
32. Garcia F, Alvarez M, Fox Z, Garcia-Diaz A, Guillot V, Johnson M, et al. Predicting antiretroviral drug resistance from the latest or the cumulative genotype. *Antivir Ther.* 2011;16(3):373-82.
33. Legifrance. Loi n° 2018-493 du 20 juin 2018 relative à la protection des données personnelles [Internet]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichLoiPubliee.do?idDocument=JORFDOLE000036195293&type=general&legislature=15>
34. Descamps D, Chaix ML, André P, Brodard V, Cottalorda J, Deveau C, et al. French national sentinel survey of antiretroviral drug resistance in patients with HIV-1 primary infection and in antiretroviral-naïve chronically infected patients in 2001-2002. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 2005;38(5):545-52.
35. Legifrance. Ordonnance n° 2010-49 du 13 janvier 2010 relative à la biologie médicale [Internet]. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000021683301&categorieLien=id>
36. Legifrance. Loi n° 2013-442 du 30 mai 2013 portant réforme de la biologie médicale [Internet]. 2013-442. Disponible sur: <https://www.legifrance.gouv.fr/affichTexte.do?cidTexte=JORFTEXT000027478077>
37. Charpentier P. Comment construire les tests d'un logiciel. *Cahiers de notes documentaires-Hygiène et sécurité du travail.* 2000;65-77.
38. Desmoulin N. Maîtriser le levier informatique: accroître la valeur ajoutée des systèmes d'information. Pearson Education France; 2009. 274 p.
39. Object Management Group. Unified Modeling Language Specification Version 2.5.1 [Internet]. 2017 [cité 27 août 2018]. Disponible sur: <https://www.omg.org/spec/UML/2.5.1>
40. OpenClassrooms. Concevez votre site web avec PHP et MySQL [Internet]. OpenClassrooms; 2018 [cité 29 juill 2018]. Disponible sur: <https://openclassrooms.com/fr/courses/918836-concevez-votre-site-web-avec-php-et-mysql>
41. The PHP Group. PHP: Hypertext Preprocessor [Internet]. 2018 [cité 29 juill 2018]. Disponible sur: <http://php.net/>
42. Oracle Corporation. MySQL : la base de données open source la plus populaire au monde [Internet]. 2018 [cité 29 juill 2018]. Disponible sur: <https://www.mysql.com/fr/>
43. OpenClassrooms. Adoptez une architecture MVC en PHP [Internet]. OpenClassrooms; 2018 [cité 29 juill 2018]. Disponible sur: <https://openclassrooms.com/fr/courses/4670706-adoptez-une-architecture-mvc-en-php>
44. Stucky BJ. SeqTrace: A Graphical Tool for Rapidly Processing DNA Sequencing Chromatograms. *J Biomol Tech JBT.* 2012;23(3):90-3.

45. Free Software Foundation. Licence publique générale GNU (version 3) [Internet]. 2007 [cité 16 août 2018]. Disponible sur: <https://www.gnu.org/licenses/gpl-3.0.fr.html>

IX. ANNEXES

ANNEXE 1 : CODES IUPAC DES ACIDES AMINES

| Codes IUPAC | Acides aminés |
|-------------|------------------|
| A | Alanine |
| R | Arginine |
| D | Acide aspartique |
| N | Asparagine |
| C | Cystéine |
| E | Acide glutamique |
| Q | Glutamine |
| G | Glycine |
| H | Histidine |
| I | Isoleucine |
| L | Leucine |
| K | Lysine |
| M | Méthionine |
| F | Phénylalanine |
| P | Proline |
| S | Sérine |
| T | Thréonine |
| W | Tryptophane |
| Y | Tyrosine |
| V | Valine |
| X | Inconnu |

ANNEXE 2 : CODES IUPAC DES BASES NUCLEOTIDIQUES DEGENEREEES

| Code IUPAC | Nucléotides |
|------------|----------------------|
| A | Adénine |
| C | Cytosine |
| G | Guanine |
| T (ou U) | Thymine (ou Uracile) |
| R | A ou G |
| Y | C ou T |
| S | G ou C |
| W | A ou T |
| K | G ou T |
| M | A ou C |
| B | C ou G ou T |
| D | A ou G ou T |
| H | A ou C ou T |
| V | A ou C ou G |
| N | A ou G ou C ou T |
| * | Codon STOP |

QualiVIH : développement d'un logiciel de gestion du génotypage VIH-1

C.Kebbabi, H.Hochard, C.Delamare, P.Perez. C.Jost

Introduction

Le VIH est un rétrovirus à génome complexe et son mécanisme de réplication lui confère une forte variabilité génétique. L'évaluation de la résistance virale aux antirétroviraux est une étape incontournable du suivi des patients VIH. Le processus analytique de séquençage génotypique est long, complexe, essentiellement manuel et exigeant vis à vis du management de la qualité. L'interprétation des résultats de génotypage nécessite des outils capables de s'adapter aux renouvellements des recommandations nationales, de gérer l'interprétation des génotypes cumulés mais également d'y participer activement en permettant le suivi épidémiologique des mutations virales observées. Ces différents enjeux ont conduit à développer une solution informatique autonome, sécurisée et open source : QualiVIH.

Matériels et méthodes

QualiVIH est une application web client/serveur conçue pour offrir un environnement ergonomique compatible sur la plupart des intranets hospitaliers. QualiVIH est codé en PHP et repose sur une architecture *Model-View-Controller* permettant sa modification aisée. L'analyse logicielle a été spécifiée en accord avec l'équipe médicale du laboratoire du centre hospitalier régional de METZ/THIONVILLE.

Résultats

L'application est capable d'interpréter les séquences nucléotidiques des gènes codant la transcriptase inverse, la protéase et l'intégrase du VIH-1 selon des algorithmes d'interprétations définis, reconnus ou personnalisés. Cette interprétation peut être réalisée de façon isolée ou cumulée pour l'ensemble des génotypes du patient. La prévalence des mutations de résistance et des résistances virales aux antirétroviraux sont suivies en temps réel. QualiVIH facilite en outre la démarche d'accréditation par l'automatisation de la traçabilité (lots réactifs, positions sur thermocycleurs, ...) et par la gestion de ses contrôles internes de qualité. Aucune discordance des résultats calculés par l'application n'a été relevée par rapport aux interprétations manuelles (n = 150 génotypes).

Conclusions

QualiVIH est une application open-source. Son ergonomie et sa facilité d'utilisation en font un outil accessible qui permet d'automatiser les processus d'interprétation de séquences virales du VIH-1 au sein d'une interface modulable. Une version de démonstration est disponible sur www.qualivih.fr.

Mots-clés

Bioinformatique, résistance virale, génotypage VIH, génotype cumulé, épidémiologie, accréditation.

TITRE

Développement d'un logiciel de gestion du génotypage VIH-1 au laboratoire de biologie médicale : interprétation, épidémiologie et aide au management de la qualité.

Thèse soutenue le 22 Octobre 2018
par KEBBABI Clément

RESUME

La biologie médicale compte parmi les professions de santé les plus informatisées. Pourtant, certaines analyses complexes et non automatisées ne sont pas encore pleinement maîtrisées par un système informatique efficient. C'est notamment le cas de l'évaluation génotypique de la résistance du VIH aux antirétroviraux qui constitue une étape critique de la prise en charge des patients vivant avec le VIH. Les besoins inhérents à cette analyse ont conduit au développement d'une application originale capable d'automatiser l'interprétation des données issues du séquençage viral (de manière isolée ou cumulée selon un algorithme défini) et le suivi épidémiologique des mécanismes de résistances associés. Cette application facilite également la démarche d'accréditation du laboratoire selon la norme NF EN ISO 15189 en permettant la gestion des contrôles internes de qualité, le calcul d'indicateurs de performance analytique et la maîtrise des consommables critiques. L'application, sécurisée, autonome et *open source*, offre également la possibilité aux biologistes médicaux de paramétrer sous interface graphique la plupart des éléments amenés à évoluer dans le temps (algorithmes d'interprétations, molécules antirétrovirales, ...) et possède un suivi complet de la traçabilité et de la gestion des utilisateurs.

Le cycle de développement de cette application, allant de sa présentation contextuelle à son analyse logicielle, ainsi que ses fonctionnalités sont présentés dans ce travail. Une version de démonstration est disponible sur le site <www.qualivih.fr>.

MOTS CLES : bioinformatique, virus de l'immunodéficience humaine, mutation génétique, résistance virale, séquençage Sanger, évaluation génotypique, génotypage, génotype cumulé, suivi épidémiologique, accréditation.

| Directeurs de thèse | Intitulé du laboratoire | Nature |
|---|--|--|
| M. Raphaël DUVAL M ^{me} Christelle JOST | Laboratoire de biologie médicale du CHR de METZ/THIONVILLE | Expérimentale <input checked="" type="checkbox"/> Bibliographique <input type="checkbox"/> Thème 5 |

Thèmes 1 - Sciences fondamentales
3 - Médicament
5 - Biologie

2 - Hygiène/Environnement
4 - Alimentation - Nutrition
6 - Pratique professionnelle

DEMANDE D'IMPRIMATUR

Date de soutenance : 22 Octobre 2018

**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE**

présenté par : **KEBBABI Clément**

Sujet : Développement d'un logiciel de gestion du génotypage
VIH-1 au laboratoire de biologie médicale : interprétation,
épidémiologie, et aide au management de la qualité.

Jury :

Président :

M. Raphaël DUVAL, Professeur (PU)

Directeurs :

M. Raphaël DUVAL, Professeur (PU)

Mme Christelle JOST, Pharmacien (PH)

Juges :

Mme Catherine DELAMARE, Pharmacien (PH)

Mme Bénédicte ROQUEBERT, Maître de conférences
(MCUPH)

Mme Evelyne SCHVOERER, Professeur (PUPH)

Vu,

Nancy, le 16/09/2018

Le Président du Jury

Directeurs de Thèse

M. DUVAL

M. DUVAL

Raphaël DUVAL
Doyen,



Mme JOST



Vu et approuvé,

Nancy, le 20.09.2018

Doyen de la Faculté de Pharmacie
de l'Université de Lorraine,


Pr. Raphaël DUVAL

Vu,

Nancy, le

Le Président de l'Université de Lorraine,



Pierre MUTZENHARDT

N° d'enregistrement : 10457