



**U.S.T.T-B**

**Ministère de l'Enseignement  
Supérieur et de la Recherche  
Scientifique**

**Université des Sciences, des Techniques  
et des Technologies de Bamako**

**Faculté de Médecine et d'Odonto-Stomatologie**

**DER de Santé Publique et Spécialités**

**N° ..... DERSP/FMOS/USTTB**



**REPUBLIQUE DU MALI  
Un Peuple – Un But – Une Foi**

# **Mémoire**

**Master en Santé Publique  
Option Epidémiologie**

**Année Universitaire 2018 - 2019**

**Expérimentation de Xpert HIV-1 VL dans la quantification de la charge virale du VIH-1 dans deux sites de prise en charge du VIH à Bamako (Service des maladies infectieuses du CHU Point-G et CESAC de Bamako).**

**Présenté et soutenu le .....**

**Par :**

**Dr Drissa GOITA**

**Président :**  
**Membre :**  
**Directeur :** Dr Mahamadou Soumana SISSOKO  
**Co-directeur :** Dr Yaya Ibrahim COULIBALY

**Sponsor :** Centre de Recherche et de Formation sur le VIH/SIDA et la tuberculose (SEREFO/UCRC) - Training Grant D43 TW10350/NIH/USTTB,

**Expérimentation de Xpert HIV-1 VL dans la quantification de la charge virale du VIH-1 dans deux sites de prise en charge du VIH à Bamako (Service des maladies infectieuses du CHU Point-G et du CESAC de Bamako).**

## **Remerciements**

Je remercie le bon Dieu, tout puissant, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés.

Je tiens à adresser mes remerciements les plus chaleureux à celles et ceux qui m'ont accompagnés le long de cette formation de master en santé publique:

Je tiens avant tout à exprimer ma reconnaissance au Docteur Mahamadou Soumana SISSOKO, Directeur de mémoire pour la confiance que vous m'avez faite en acceptant d'encadrer ce travail de recherche. Votre expertise et votre expérience professionnelle sont admirables.

Je remercie également le Docteur Yaya Ibrahim COULIBALY, Co-directeur de mémoire, pour votre disponibilité à échanger sur les aspects techniques et opérationnels de ce travail. Veuillez trouver ici l'assurance de mes sincères remerciements.

J'adresse mes sincères remerciements aux partenaires américains en particulier le Professeur Robert Murphy, Principal investigateur du Training Grant D43 TW10350/NIH/USTTB pour votre appui financier et matériel, indispensable à cette formation de Master.

Je remercie le Professeur Souleymane DIALLO, Principal investigateur du Training Grant D43 TW10350/NIH/USTTB au Mali de m'avoir donné l'occasion de réaliser les tests dans le laboratoire SEREFO-UCRC.

Je souhaite également remercier le Professeur Hamadoun SANGHO, Chef du département d'enseignement et de recherche en santé publique, coordinateur du master pour nous avoir donné l'opportunité d'acquérir des expériences techniques et opérationnelles dans le domaine de la santé publique. Veuillez trouver ici le témoignage ma gratitude.

Je remercie également le Professeur Seydou DOUMBIA, Doyen de la faculté de médecine et d'odontostomatologie, responsable de l'option épidémiologie du master pour la qualité de l'enseignement reçu.

Merci au Professeur Soukalo DAO pour le soutien et les encouragements.

Je suis reconnaissant à tous les professeurs, les intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions et ont accepté de répondre à mes questions durant cette formation.

Je remercie vivement le Docteur Daouda TRAORE, le Docteur Bocar BAYA, le Docteur Dramane SOGOBA, le Docteur Omar DOLO, le et Monsieur Bourahima KONE qui ont contribués techniquement à la collecte des échantillons et à la réalisation des tests de laboratoire. La réalisation de ce travail a été possible grâce à votre concours. Je voudrais vous témoigner toute ma reconnaissance.

Je remercie l'équipe SEREFO/UCRC, l'équipe du CESAC et l'ensemble des chercheurs du centre ICER Mali pour le soutien constant et les encouragements.

Je voudrais exprimer ma profonde reconnaissance à mes camarades de promotion (6<sup>ème</sup> promotion) de ce master de santé publique en particulier ceux de l'option épidémiologie, par votre large ouverture d'esprit de communication et surtout de la grande solidarité tout au long de la formation, vous m'avez rendu agréable cette formation.

J'adresse des remerciements particuliers aux personnes vivant avec le VIH, qui ont accepté de participer à cette étude. Je vous souhaite une meilleure vie.

Enfin, je remercie mes parents et toute ma famille pour le soutien incondtionnel et les encouragements.

## Plan du mémoire

<b>Liste des abréviations :</b>	iv
<b>Résumé :</b>	v
<b>Introduction :</b>	1
<b>Objectifs :</b>	3
<b>Question de recherche :</b>	4
<b>Revue de la littérature :</b>	5
<b>Méthodologie :</b>	13
<b>Résultats :</b>	21
<b>Discussion :</b>	28
<b>Conclusion:</b>	33
<b>Recommandations :</b>	34
<b>Références :</b>	35
<b>Annexes :</b>	39

## Liste des abréviations

**ARN:** Acide ribonucléique

**CESAC:** Centre d'Ecoute, de Soins, d'Animation et de conseils

**Cp:** copie

**ELISA:** Enzyme-linked immunosorbent assay

**IC:** Intervalle de confiance

**ICER:** International Center for Excellence in Research

**INTI :** Inhibiteur nucléosidique ou nucléotidique de la transcriptase inverse

**INNTI:** Inhibiteur non nucléosidique de la transcriptase inverse

**IP:** Inhibiteur de protéase

**II:** Inhibiteur d'intégrase

**ml:** millilitre

**NIH:** National Institute of Health

**OMS :** Organisation Mondiale de la Santé

**ONUSIDA:** Organisation des nations Unies pour Syndrome de l'immunodéficience acquise

**PCR:** Polymerase chain reaction

**SEREFO:** Centre de Formation et Recherche sur le VIH et la tuberculose

**SIDA:** Syndrome de l'immunodéficience acquise

**UCRC:** University Clinical Research Center

**USTTB:** Université des Sciences Techniques et des Technologiques de Bamako

**VL :** Viral Load (charge virale)

**VIH :** Virus de l'Immunodépression Humaine

**VIH-1:** Virus de l'Immunodépression Humaine type 1

## **RESUME**

### **Introduction**

L'accès à la charge virale du VIH reste limité dans les pays dont les ressources sont limitées en particulier dans les zones rurales. Pour un accès universel à la charge virale, il faut des alternatives plus simplifiées et moins contraignantes aux méthodes conventionnelles de mesure de la charge virale. L'objectif de cette étude était d'évaluer la performance, l'utilité et la fiabilité/reproductibilité de la technique Xpert HIV-1VL à celle de Roche TaqMan et Abbott m2000 RT dans la quantification de l'ARN plasmatique du VIH-1 chez les patients infectés par le HIV.

### **Méthodologie**

Nous avons mené une étude transversale sur 125 patients vus en consultation entre août et novembre 2018 dans deux sites de prise en charge du VIH à Bamako. La quantification de la charge virale par Xpert HIV-1 VL a été comparée à celui de Roche TaqMan et Abbott m2000 RT. La performance, l'utilité et la fiabilité/reproductibilité ont été vérifiées à l'aide de l'exactitude, la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives et négatives, le diagnostic Odds ratio (DOR), le coefficient Kappa, le coefficient de corrélation de Pearson et l'analyse de Bland-Altman.

### **Résultats**

Le Xpert HIV-1 comparé à Roche TaqMan avait une sensibilité de 93,18%, une spécificité de 97,30%, une exactitude de 95,06% et le coefficient de corrélation de Pearson (r) était de 0,99 ( $p = 0,001$ ). A l'analyse de Bland-Altman, la moyenne des différences de la charge virale était de  $-0,33 \log_{10} \text{ cp/ml} \pm 0,32$ ; IC à 95% de  $[-0,96 ; 0,31]$ . La sensibilité, la spécificité et l'exactitude du Xpert HIV-1 étaient respectivement de 97,92% ; 93,33% et de 95,55% comparé à Abbott m2000 RT. Le coefficient de corrélation (r) était de 0,985 ( $p = 0,001$ ). L'analyse de Bland-Altman a donné une moyenne des différences de la charge virale de  $-0,05 \log_{10} \text{ cp/ml} \pm 0,37$ ; IC à 95% :  $[-0,77 ; 0,67]$ .

### **Conclusion**

Le Xpert HIV-1 VL a montré une bonne performance comparé à Roche TaqMan et Abbott m2000 RT. La technique de Xpert HIV-1 VL pourrait être une alternative efficace pour la mesure de la charge virale dans les pays à ressources limitées.

**Mots clés:** Charge virale, Xpert HIV-1, Roche TaqMan, Abbott m2000 RT, Bamako.

## **ABSTRACT**

### **Background:**

Access to HIV viral load remains limited in resource-limited settings, especially in rural areas. Universal access to viral load requires more simplified and less restrictive alternatives to the conventional viral load methods. The objective of this study was to evaluate the performance, utility and reliability / reproducibility of the Xpert HIV-1VL technique compared to Roche TaqMan and Abbott RT m2000 for HIV-1 RNA quantification in HIV-infected patients.

### **Methods**

We conducted a cross-sectional study in 125 patients seen in consultation between August and November 2018 in two HIV care sites in Bamako. The Xpert HIV-1 VL was compared to Roche TaqMan and Abbott m2000 RT in HIV-1 viral load quantification. Performance, utility and reliability/reproducibility were verified using accuracy, sensitivity, specificity, positive and negative predictive values, diagnostic odds ratio (DOR), Kappa coefficient, Pearson correlation coefficient, and Bland-Altman analysis.

### **Results**

Xpert HIV-1 compared to Roche TaqMan had a sensitivity of 93.18%, a specificity of 97.30% and the correlation coefficient of Pearson ( $r$ ) was 0.99 ( $p = 0.001$ ). Bland-Altman analysis showed a mean difference of  $-0.33 \log_{10} \text{ cp/ml} \pm 0.32$ ; 95% CI of  $[-0.96; 0.31]$ . The sensitivity and specificity of Xpert HIV-1 were respectively 97.92% and 93.33% compared to Abbott m2000 RT. The correlation coefficient  $r$  was 0.985 ( $p = 0.001$ ) and Bland-Altman analysis showed a mean difference of  $-0.05 \log_{10} \text{ cp/ml} \pm 0.37$ ; 95% CI:  $[-0.77; 0.67]$ .

### **Conclusion**

Xpert HIV-1 VL showed a good performance compared to Roche TaqMan and Abbott m2000 RT. The Xpert HIV-1 VL technique could be an effective alternative for HIV viral load monitoring in resource-limited settings.

**Key words:** Viral load, Xpert HIV-1, Roche TaqMan, Abbott m2000 RT, Bamako.



## **1. Introduction - Enoncé du problème**

Le nombre de personnes vivant avec le virus de l'immunodépression humaine (VIH) dans le monde a été estimé à 36,9 millions de personnes [31,9 millions - 43,9 millions] en 2017 dont 21,7 millions de personnes [19,1 millions - 22,6 millions] avaient accès au traitement antirétroviral, soit une augmentation de 2,3 millions depuis 2016 et de 8 millions [7,1 millions - 8,3 millions] en 2010 (1).

Le nombre de personnes vivant avec le VIH ayant accès à un traitement antirétroviral augmente d'année en année. Avec les nouvelles recommandations de l'OMS en 2015 (diagnostiquer et traiter) (2) et l'accès gratuit au traitement dans la plus part des pays à ressources limitées, ce nombre pourrait continuer à croître.

La mesure de la charge virale permet schématiquement d'évaluer l'intensité de la multiplication du virus. On peut envisager intuitivement que plus la réplication virale est importante, plus les conséquences cliniques seront sévères. C'est par ce raisonnement que la mesure de la charge virale a été envisagée comme un marqueur virologique, afin de prédire l'apparition ou diagnostiquer certaines pathologies associées, de suivre l'évolution d'infections virales chroniques, de décider l'instauration de thérapeutiques adaptées ou d'en évaluer l'efficacité. On peut citer comme exemple de l'intérêt de cette approche quantitative, le suivi de l'évolution naturelle ou sous traitement de l'infection chronique par le virus de l'immunodéficience humaine (HIV) (3).

La quantification de la charge virale plasmatique du VIH est importante pour prédire l'évolution de l'infection à VIH mais aussi pour suivre l'efficacité du traitement antirétroviral. Elle permet aussi la détection précoce de la résistance virale (4-8). C'est pour cette raison que les nouvelles lignes directrices de l'Organisation mondiale de la santé (OMS) recommandent fortement l'utilisation de la quantification de l'acide ribonucléique (ARN) virale plasmatique pour le suivi du traitement antirétroviral (2). Beaucoup de pays ont adapté leurs directives de prise en charge des personnes vivant avec le VIH aux recommandations de l'OMS (6, 7).

En pratique, l'accès à la charge virale du VIH est limité dans les pays dont les ressources sont limitées en particulier dans les zones rurales pour plusieurs raisons (manque ou insuffisance d'équipement de laboratoire, rupture incessante des réactifs et des consommables, manque de maintenance biomédicale des appareils installés, manque de ressources humaines bien formées dans les laboratoires) (6, 7, 9).

La plupart des techniques de quantification de l'ARN plasmatique du VIH-1 actuellement disponibles sont plus compliquées, plus coûteuses et demandent aussi l'installation d'équipements sophistiqués. L'atteinte de l'objectif ambitieux 90-90-90 de l'ONUSIDA qui vise à atteindre la suppression virale chez 90% des personnes sous traitement antirétroviral avant 2020 reste un défi particulièrement pour les pays à ressources limitées car l'accès aux laboratoires effectuant la quantification de la charge virale est limité (10).

Il est donc nécessaire d'avoir une technique pratique plus simple et peu coûteuse "Point Of Care" de quantification de la charge virale en routine au chevet des patients sous traitement antirétroviral. La technique Xpert HIV-1 VL a l'avantage d'être décentralisée dans les zones rurales permettant ainsi un accès élargi au contrôle de la charge virale. La technique Xpert HIV-1 VL, en plus de son seuil de détection qui est plus bas ( $\geq 20$  copies/ml), il peut être utilisé individuellement chez les patients contrairement aux techniques actuellement utilisées. Pour déterminer la performance et l'utilité d'un test, il faut réaliser une évaluation comparative par rapport au test de référence et par rapport aux tests habituels (11). Nous nous proposons de comparer la performance d'un nouvel appareil plus simple et rentable en terme de quantification de la charge virale du VIH-1 (Xpert HIV-1VL) aux deux appareils classiques (Abbott m2000 RT et Roche Cobas TaqMan) à Bamako dans l'optique d'une éventuelle utilisation de la technique Xpert HIV-1VL pour la quantification de la charge virale en routine au Mali.

## **2. Objectifs**

### **2.1. Objectif général**

Comparer la performance de Xpert HIV-1VL à celle de Roche TaqMan et Abbott m2000 RT dans la quantification de l'ARN VIH-1 plasmatique chez les patients infectés par le VIH -1 à Bamako.

### **2.2. Objectifs Spécifiques**

- ✓ Déterminer l'exactitude, la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positive et négative, et les rapports de vraisemblance du Xpert HIV-1VL comparé aux techniques actuelles de références de quantification de la charge virale (Roche TaqMan et Abbott m2000 RT);
- ✓ Déterminer les DOR et les coefficients de concordance Kappa (Xpert HIV-1VL vs Roche TaqMan, Xpert HIV-1VL vs Abbott m2000 RT);
- ✓ Déterminer la corrélation entre les résultats de la charge virale obtenus par le Xpert HIV-1VL et les deux techniques de quantification de la charge virale (Roche TaqMan et Abbott RT m2000);
- ✓ Comparer la charge virale moyenne du Xpert HIV-1VL à celle des deux techniques (Roche TaqMan et Abbott m2000 RT);
- ✓ Identifier les limites de l'utilisation de la technique Xpert HIV-1 VL.

### **3. Question de recherche**

La technique Xpert HIV-1 VL a-t-elle la même performance que Roche Cobas TaqMan et Abbott m2000 RT dans la quantification de la charge virale du VIH-1?

#### **Hypothèse de recherche**

La technique Xpert HIV-1 VL a une performance au moins égale à celle de Roche Cobas TaqMan et d'Abbott m2000 RT dans la quantification de la charge virale du VIH-1.

## **4. Revue de la littérature**

### **4.1. Epidémiologie du VIH**

L'infection par le VIH continue à constituer un problème de santé publique majeur à travers le monde. Selon les statistiques de l'OMS, 36,9 millions de personnes dont 1,8 million d'enfants de moins de 15 ans vivaient avec le VIH dans le monde en 2017. Parmi ces personnes vivant avec le VIH 25% ne connaissaient pas leur statut VIH (1). Ces mêmes statistiques font état de 1,8 million [1,4 million - 2,4 millions] de personnes nouvellement infectées par le VIH dont 180 000 enfants et 940 000 [670 000 - 1,3 million] de décès par des maladies liées au sida dans le monde en 2017.

L'efficacité et la sécurité du traitement antirétroviral chez les patients infectés par le VIH-1 au cours de la dernière décennie a considérablement amélioré avec l'introduction de nouveaux agents antirétroviraux (12). L'Organisation mondiale de la santé avec sa nouvelle stratégie "dépister et traiter" recommande d'instaurer un traitement antirétroviral pour toutes les personnes séropositives, sans tenir compte du niveau nombre de cellules CD4 (9, 13). Ces nouvelles directives permettent ainsi à un nombre important de personnes vivant avec le VIH de bénéficier d'un traitement antirétroviral. En 2017, 21,7 millions soit 59 % de toutes les personnes vivant avec le VIH avaient accès au traitement antirétroviral (1).

Cependant, avec l'élargissement de la couverture des traitements antirétroviraux, en plus la surveillance clinique et immunologique, qui servent d'évaluations complémentaires, la réussite du traitement exige une surveillance systématique de la charge virale du VIH afin de garantir l'observance du traitement et le contrôle de la résistance aux médicaments (9, 12, 14). La charge virale en VIH correspond à la mesure du nombre de particules virales présentes dans le sang. La quantification de l'ARN du VIH-1 plasmatique chez les patients sous un traitement antirétroviral est actuellement considérée comme la principale approche pour surveiller la conformité et le succès du traitement antirétroviral. Le contrôle optimal de l'infection par le VIH-1 est atteint lorsque la suppression virale complète obtenue persiste dans le temps (12).

Par conséquent, les modèles de soins simples et rentables doivent être axés sur le maintien de la suppression virale et l'amélioration de la rétention des soins, sans alourdir la charge des prestataires de soins et des laboratoires de traitement du VIH. Les directives actuelles de l'OMS recommandent une surveillance de la charge virale plasmatique six mois après le début du traitement antirétroviral suivi d'une mesure par an, et l'échec du traitement est défini comme deux niveaux consécutifs de charge virale supérieurs à 1000 copies/ml, malgré des

interventions de soutien à l'observance continues. L'objectif ambitieux d'ONUSIDA 90-90-90 vise à supprimer le virus chez 90% des personnes sous traitement antirétroviral d'ici 2020. En pratique, effectuer la charge virale en routine pour les personnes recevant un traitement antirétroviral constitue un défi, en particulier dans les pays à ressources limitées. Dans les régions les plus durement touchées par l'épidémie du VIH, les services de laboratoire sont peu équipés et surchargés, les systèmes de gestion des résultats sont souvent faibles et beaucoup de patients n'ont pas accès aux tests de charge virale. Les conséquences de la faiblesse des systèmes de santé sont le diagnostic tardif des échecs virologiques, le retard de changement du traitement et la propagation de la résistance aux antirétroviraux (9).

Actuellement, pour la surveillance du traitement antirétroviral, il existe deux approches, il s'agit de la quantification de la charge virale VIH-1 dans le plasma qui indique une réplication virale chez les personnes infectées et le nombre de lymphocytes T CD4 + qui reflète la fonctionnalité du système immunitaire de l'hôte. Dans les pays développés, pour évaluer l'efficacité du traitement antirétroviral et gérer l'observance du traitement par le patient, la charge virale plasmatique et le taux de CD4 font l'objet d'une surveillance étroite (tous les 3 à 6 mois) (15).

#### **4.2. Plateformes de la quantification de la charge virale du VIH 1**

Les tests utilisés couramment dans les pays développés pour la quantification de la charge virale du VIH-1 sont des tests commerciaux qui nécessitent des laboratoires bien équipés, un matériel et des réactifs coûteux et du personnel bien formés. Ces exigences limitent leur utilisation dans les pays à ressources limitées, où vivent les personnes les plus touchées par l'épidémie de VIH. Des alternatives de tests peu coûteux telles que le test Ultrasensitive p24, le test de transcriptase inverse (RT) et la réaction en chaîne polymérase quantitative (RT-qPCR) ont été développées. Cependant, ces tests sont longs, techniquement complexes et inappropriés pour les laboratoires décentralisés en tant que tests au point des soins. Les progrès récents en micro-fluidique et en nanotechnologie offrent de nouvelles stratégies pour développer des systèmes simples, rapides, robustes et à faible coût de surveillance de la charge virale du VIH-1 (15).

Les commerciaux largement utilisés comme «Gold standard» pour quantifier l'ARN du VIH-1 dans le plasma sont: Roche COBAS®, Abbott Real Time, Siemens Versant™ et bioMérieux NucliSens®. Les tests commerciaux ont été développés par quatre grandes sociétés de diagnostic (Roche, Abbott, Siemens et bioMérieux). Ces sociétés ont adapté les techniques en temps réel basées sur la fluorescence pour réaliser simultanément une amplification et une

détection. Les techniques en temps réel offrent une quantification plus précise, une plage dynamique plus large et un débit plus élevé. En outre, ces sociétés ont inclus la préparation automatisée d'échantillons afin de réduire le temps manuel et d'empêcher les contaminations. Plus important encore, ces tests permettent d'élargir la couverture des sous-types par la détection un nombre croissant de souches non-B reportée dans les pays développés. (14, 15).

- **Système Roche COBAS®**

Le test COBAS® AmpliPrep® / COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0.36 est un test PCR en temps réel. Le test utilise l'instrument AmpliPrep® pour l'extraction automatisée d'acides nucléiques viraux et les analyseurs COBAS® TaqMan® (TaqMan®48 ou TaqMan®96), pour l'amplification et la détection automatisées de la cible d'acide nucléique viral. Le test COBAS® AmpliPrep® / COBAS® TaqMan® HIV-1 v2.0 est un test d'amplification in vitro d'acide nucléique permettant de quantifier l'ARN du VIH-1 dans le plasma. Il est destiné à être utilisé conjointement avec la présentation clinique et d'autres marqueurs de laboratoire de l'évolution de la maladie pour la gestion clinique des patients atteints du VIH. Afin de traiter spécifiquement les mutations du VIH-1, une approche à double cible est utilisée. La technologie à double cible renforce la confiance dans les résultats en cas de mutation. Le test est capable de co-amplifier deux régions cibles du VIH-1 (connues sous le nom de régions gag et LTR), qui ont été spécifiquement choisies car elles ne sont pas des cibles de médicaments anti-VIH actuelles. En ciblant simultanément les deux régions du génome, le test augmente la probabilité de détection des particules virales. Il est capable de quantifier le groupe M du VIH-1 (sous-types A à H) et le groupe O du VIH-1, et présente une Limite de détection allant jusqu'à 20 cp/ml. À l'autre extrémité du spectre, il peut également quantifier la quantité de VIH-1 dans un échantillon de patient jusqu'à 10 millions de copies/ml. La performance du test s'est avérée être en bonne corrélation avec le test AMPLICOR HIV-1 MONITOR™ v1.537 (ci-après, le test MONITOR), qui avait été considéré comme la référence (14).

- **Abbott RealTime VIH-1** (14, 15)

Le test Abbott m2000 RT HIV-1 peut être entièrement automatisé sur le m2000sp pour la préparation des échantillons et sur le m2000rt pour l'amplification et la détection. Le test utilise un contrôle interne qui est une séquence d'ARN non compétitive, non liée à la cible du VIH-1. Cette séquence d'ARN non apparentée est ajoutée à chaque échantillon, contrôle et étalonneur et elle est surveillée afin que l'échantillon ait été correctement traité via l'extraction et l'amplification / détection. La quantité de séquence cible de VIH-1 présente à chaque cycle

d'amplification est mesurée par l'utilisation de sondes oligonucléotidiques marquées par fluorescence sur l'instrument m2000rt. Les sondes ne génèrent de signal que si elles sont spécifiquement liées au produit amplifié. Le cycle d'amplification auquel le signal fluorescent est détecté par le m2000rt est proportionnel au log de la concentration d'ARN du VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. Le test RealTime HIV-1 a une plage linéaire de 40 cp / ml à 10 millions de cp/ml et peut détecter le groupe M du VIH-1 (sous-types A à H, y compris les formes recombinantes), le groupe O et le groupe N. Une publication est disponible pour la détection du groupe P (100). La sensibilité du test dépend du volume de l'échantillon. La limite de détection est de 40 cp / ml pour une entrée de 0,6 ml et de 150 cp / ml pour une entrée de 0,2 ml. La performance a été évaluée avec de bons résultats.

- **BioMérieux NucliSENS® VIH**

La solution NucliSENS® HIV est fabriquée par bioMérieux. Le test NucliSENS® EasyQ® HIV-1 v2.0 cible une région bien conservée du gène gag et est basé sur la technologie NASBA®. Après l'extraction des échantillons avec la technique BOOM® magnétique exclusive, la réaction d'amplification NASBA en temps réel hautement efficace garantit des résultats de test très sensibles en 60 minutes seulement. NASBA est une méthode d'amplification isothermique basée sur la transcription qui amplifie l'ARN. Les amplicons produits au cours de ce processus sont détectés en temps réel par des balises moléculaires, qui sont des molécules en forme d'épingle à cheveux avec un fluorophore désactivé interne dont la fluorescence est restaurée lors de la liaison à un acide nucléique cible. L'analyse cinétique des signaux fluorescents révèle les taux de transcription de la cible d'ARN du VIH et d'un ARN d'étalonnage ajoutés au cours de l'étape d'extraction. Ce taux de transcription est utilisé pour déterminer la quantité d'ARN du VIH-1 dans l'échantillon d'origine.

Le NucliSENS® EasyQ® HIV-1 v2.0 (automatisé) est un test d'amplification d'acide nucléique destiné à la détermination quantitative de l'ARN du VIH-1 dans le plasma. Il est destiné à être utilisé pour l'amplification basée sur NASBA et la détection en temps réel de l'ARN isolé du VIH-1. Le test peut être utilisé pour évaluer le pronostic du patient en mesurant le taux initial d'ARN du VIH-1 ou pour surveiller les effets du traitement antirétroviral en mesurant les variations des taux plasmatiques.

La plage linéaire du test EasyQ® HIV v2.0 va de 10 à 10 millions de cp / ml. Le test peut détecter le VIH-1 groupe M (sous-types A à J) ainsi que CRF01\_AE et CRF02\_AG. Les performances du test sont bien corrélées avec les tests de Roche, Abbott et Siemens (14).



- **Système moléculaire VERSANT® kPCR (Siemens)**

Le système moléculaire VERSANT® kPCR et le test VERSANT® HIV RNA 1.0 (kPCR) sont fabriqués par Siemens. Le test Siemens HIV est une méthode d'amplification automatisée basée sur la technique de la transcription inverse et de la PCR en temps réel. Le système se compose de deux modules: le module de préparation d'échantillons utilisé pour extraire à la fois l'ARN et l'ADN du plasma ainsi que de nombreux autres échantillons; et le module de détection d'amplification, avec le logiciel VERSANT® MiPLX.

Le kit de réactifs comprend des nanobilles magnétiques brevetées recouvertes de silice qui permettent une extraction efficace et de haute qualité des acides nucléiques. L'extraction consiste en une étape de lyse utilisant de la protéinase K et un tampon chaotrope, ainsi que plusieurs lavages pour éliminer les composants acides non nucléiques de l'échantillon et de l'élution (14).

- **Tests alternatifs de la charge virale du HIV-1 pour les pays à ressources limitées**

Pour assurer une surveillance de la charge virale dans les pays à ressources limitées, des alternatives peu coûteuses, telles que Test ExaVir™ RT (Cavidi), le test Ultrasensitive p24 (Perkin Elmer) ont été développées (12).

- **ExaVir™ Load (Cavidi AB) (14)**

ExaVir™ Load (version 3.0), est un test quantitatif du VIH-RT conçu pour mesurer l'activité plasmatique du VIH-RT liée au virus afin d'estimer la charge virale du VIH. Le principe repose sur la synthèse d'un produit pouvant être détecté par un anticorps conjugué à la phosphatase alcaline. L'avantage de ce test réside dans le fait qu'étant donné que ExaVir™ Load détermine la charge virale sur la base de la quantification de l'activité de la RT et ne cible pas une séquence d'acide nucléique spécifique. Il peut mesurer tout type ou sous-type de VIH avec une grande précision, y compris les groupes O et N du VIH-1 et VIH-2. La plage de mesure du test est l'équivalent d'environ 200 à 600 000 cp / ml. Il existe des données de performance disponibles pour ExaVir™ Load montrant une bonne corrélation avec le test Roche AMPLICOR. Dans la première phase du test, les particules virales sont séparées du plasma et lavées afin d'éliminer tous les facteurs perturbants présents dans le plasma, tels que les anticorps ou les ARV. Ensuite, un test ELISA est utilisé pour détecter et quantifier l'activité de la RT par comparaison avec un standard d'enzyme RT recombinant de concentration connue. Il s'agit d'un test manuel réalisé avec un équipement ELISA standard ainsi que l'équipement ExaVir™ Séparation.

- **Kit ELISA VIH-1 p24 (PerkinElmer)**

Le test Perkin Elmer HIV-1 p24 ELISA est un kit de dosage immuno-enzymatique sensible destiné à la détection de l'antigène p24 dans le sérum humain ou les surnageants de cultures cellulaires. Le protocole comprend une étape de dissociation du complexe immunitaire pour les échantillons de sérum et de plasma, augmentant ainsi la sensibilité du procédé de détection de faibles niveaux de l'antigène en présence d'anticorps p24. La sensibilité analytique pour le dosage du sérum et du plasma est d'environ 26 pg / ml (ou environ 430 000 cp / ml) et de 4,3 pg / ml pour les surnageants de culture cellulaire (ou environ 71 000 cp / ml). En combinant le test ELISA p24 avec le système d'amplification PerkinElmer ELAST®, la sensibilité de la méthode peut être multipliée par 25, permettant ainsi la mesure de niveaux de femtogramme de p24 ou bien inférieurs à 10 000 cp / ml.<sup>40</sup>

Un protocole d'analyse d'échantillons DBS avec le kit p24 ELISA est également disponible. Le procédé comprend une étape d'élution et de dissociation du complexe immun avant le test p24 réel, ainsi qu'une étape d'amplification à l'aide du kit du système d'amplification ELAST™. Plusieurs études ont été publiées dans lesquelles le protocole DBS a été utilisé avec succès pour les tests EID et pour les tests VL. Le kit ELISA du VIH-1 p24 et le kit du système d'amplification ELAST® sont actuellement disponibles à des fins de recherche uniquement et non pour les résultats des patients.

• **Tests internes de RT-qPCR (12)**

La RT-qPCR étant couramment utilisée dans les tests commerciaux de la charge virale, certains chercheurs ont mis au point une RT-qPCR interne à faible coût pour la quantification de l'ARN du VIH-1. Ces tests ciblent une région hautement conservée dans la séquence du LTR afin de maximiser la couverture des sous-types, qui sont plus diversifiés dans les pays à ressources limités en que dans les pays développés.

• **Plateformes “Point of Care” de la charge virale (14)**

- **Plateformes SAMBA I et II**

Les tests SAMBA VIH utilisent 200 µL de plasma ou 120 µL de sang total pour le dosage semi-quantitative de la charge virale. Le processus d'amplification et de détection est intégré dans une cartouche hermétiquement scellée afin d'empêcher toute contamination par l'amplicon. L'amplification cible la région LTR du génome du VIH, qui est détectée sur une bande de flux latéral à l'aide de la technique SAS. Le test SAMBA VIH permet de détecter tous les sous-types de VIH-1.

### - **Test de charge virale Céphéid Xpert® HIV-1**

Le test de charge virale Xpert® HIV-1 cible une région génomique du VIH-1 dont il a été prouvé qu'elle détectait in silico et in vitro la grande majorité de toutes les souches de VIH-1, indépendamment du groupe et du sous-type. L'amorce directe et inverse et la sonde TaqMan® sont situés dans la région la plus conservée du LTR. Pour pouvoir détecter le VIH du groupe O avec une efficacité égale à celle des groupes M et N, une sonde supplémentaire Roche TaqMan® a été conçue. L'amorce directe cible du génome du VIH et les deux sondes incluses dans l'analyse incorporent la chimie spéciale exclusive de Céphéid afin de maximiser l'inclusivité et l'exclusivité au niveau de la séquence. Le test détecte toutes les souches de VIH-1, y compris les sous-types A, B, C, D, F, G, H, J, K, AB, AE, AG, du groupe N et du groupe O du groupe M du VIH.

Le test Xpert® HIV-1 VL a une limite de détection de 18,3 cp / ml (méthode de référence de l'OMS) et une limite de quantification de 40 cp / ml avec un volume d'échantillon de plasma prélevé de 1 ml. Le test inclut deux standards de quantification internes: Standard quantitatif interne haut et bas (IQS-H et IQS-L). Les normes IQS-H et IQS-L sont des étalons calibrés par rapport à la troisième norme internationale de l'OMS. Ils sont utilisés pour la quantification en utilisant des paramètres spécifiques au lot pour le calcul de la concentration en ARN du VIH-1 dans l'échantillon. De plus, IQS-H et IQS-L détectent l'inhibition de la réaction de RT-PCR associée à l'échantillon. IQS-H et IQS-L réussissent s'ils répondent aux critères d'acceptation validés. Le contrôle de vérification de la sonde (PCC) vérifie la réhydratation du réactif, le remplissage du tube PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du colorant.

### - **Progrès dans le développement des tests “Point of care” de la charge virale VIH 1 pour les pays à ressources limitées**

Les investissements dans les services de santé dans les pays à faible revenu ou intermédiaire ont considérablement augmenté ces dernières années. Ces investissements ont été motivés par des efforts sans précédent dans la lutte contre les principales maladies, rendus possibles par la disponibilité de schémas thérapeutiques moins coûteux et efficaces pour le traitement et la prophylaxie. Au fur et à mesure du développement des services de santé, la demande de tests de diagnostic indispensables pour identifier les patients, déterminer le pronostic, surveiller le traitement et évaluer l'efficacité de la prévention a également augmenté. Les technologies de diagnostic classiques ne sont pas bien adaptées pour répondre aux besoins dans les pays à faible revenu. Les tests de laboratoire nécessitent une infrastructure complexe, des techniciens

qualifiés et un approvisionnement en électricité stable, qui sont tous rares, en particulier dans les zones rurales. Les tests traditionnels sont généralement effectués dans des laboratoires éloignés, ce qui augmente les coûts et les inconvénients liés à l'accès aux soins de santé et conduit à un nombre élevé de patients qui quittent le système avant qu'un diagnostic ne soit établi. Ces limitations constituent un obstacle majeur à l'équité dans les services de santé. Bien que les tests de laboratoire conventionnels soient toujours nécessaires, on s'attend à ce que des tests de diagnostic plus rapides et plus précis ne nécessitant pas d'infrastructure de laboratoire complexe sur les sites de traitement dans les pays à revenu faible (16).

La mesure de la charge virale est indispensable pour le diagnostic précoce de l'échec virologique et la prise de décision concernant le traitement antirétroviral, il est nécessaire de réaliser la charge virale du VIH-1 sur place dans les zones rurales. Des tests de charge virale peu coûteux pouvant être réalisés dans des laboratoires centralisés sont très difficiles à mettre en œuvre dans les zones rurales en raison de l'insuffisance d'instruments de laboratoire de base. Pour relever ce défi, l'une des options consiste à stocker les plasmas ou les échantillons de sang en utilisant du papier filtre et à les transporter vers des laboratoires centralisés. Cependant, le délai d'attente des résultats peut prendre plusieurs semaines. Donc l'idéal est d'avoir un système portable ou instrument plus simple de quantification de la charge virale pouvant être utilisé par le personnel de la santé ayant une formation minimale et permettant une lecture des résultats en un temps court. Ces systèmes faciliteront les prises de décisions cliniques pendant que le patient est sur place.

Pour faire face à ces défis, de nouvelles approches basées sur la nanotechnologie et les techniques microfluidiques ont été développées pour la détection virale sur les sites de prise en charge des patients. Ces nouvelles approches incluent les tests basés sur l'amplification de code-barres biologiques (BCA), les puces de PCR miniaturisées et les tests immunologiques et systèmes d'amplification miniaturisés. Ces approches présentent des caractéristiques similaires, telles que le faible coût, le délai d'exécution réduit, la procédure simple et une grande sensibilité (13).

## **5. Méthodologie**

### **5.1. Cadre d'étude**

Le Centre de Recherche et de Formation sur le VIH/SIDA et la tuberculose «SEREFO/UCRC» est un centre de recherche issu de la collaboration entre l'Université des Sciences Techniques et des Technologiques de Bamako (USTTB) et les Instituts Nationaux de la santé des Etats-Unis d'Amérique (NIH). SEREFO est l'un des programmes de recherche de "International Center for Excellence in Research" du Mali (ICER-Mali) de l'USTTB qui travaille sur le VIH, la tuberculose et les virus hémorragiques.

Le Centre de Formation sur le VIH et la Tuberculose dispose trois plateformes de quantifications de la charge virale plasmatique: un appareil Abbott m2000 RT avec un extracteur automatique, un appareil Cobas TaqMan avec un extracteur automatique et un nouvel appareil de Xpert HIV-1 VL plus simple, facile à utiliser et rentable.

Le laboratoire SEREFO-UCRC a un partenariat de collaboration avec le centre d'écoute, de soins, d'animation et de conseils et le service de maladies infectieuses de l'hôpital du Point-G où les patients ont été recrutés.

### **5.2. Type et période de l'étude**

Il s'agit d'une étude de type transversale descriptive dont les données ont été collectées entre août et novembre 2018.

### **5.3. Population d'étude**

La population de l'étude était constituée de patients infectés par le VIH-1 (sous traitement ARV ou naïfs du traitement ARV) suivis dans le service de maladies infectieuses du CHU de Point-G et le CESAC centrale de Bamako.

### **5.4. Taille de l'échantillon et Echantillonnage:**

La taille de l'échantillon a été calculée en utilisant la formule:  $n = z^2 \times p (1 - p)/m^2$  avec :

**n** = taille de l'échantillon ;

**z** = 1,96 pour un niveau de confiance 95% ;

**m** = marge d'erreur t à 5% près ;

**p** =0,011 prévalence du VIH dans la population générale ;

$$N = (1,96)^2 \times 0,011(1- 0,011) / (0,05)^2 = 17$$

La taille de l'échantillon a été augmentée à 34 prenant en compte l'effet de grappe qui est égal à 2.

## **5.5. Critères d'inclusion**

Etaient inclus dans cette étude les :

- sujets infectés par VIH-1 sous traitement antirétroviral dans les deux sites ;
- sujets infectés VIH-1 naïf du traitement antirétroviral dans les deux sites ;
- consentement individuel éclairé signé

## **5.6. Critères de non inclusion**

- sujets co-infectés par le VIH-1 et le VIH-2 ;
- sujets infectés par le VIH-2 ;
- sujets infectés dont les dossiers sont incomplets.

## **5.7. Variables mesurées**

Les principales variables mesurées au cours de cette étude étaient :

- les paramètres sociodémographiques : l'âge, le sexe ;
- les paramètres biologiques : le type de VIH, les résultats de la charge virale obtenus par les trois techniques ;
- les paramètres relatifs au traitement ARV : le statut du traitement ARV, la date du début du traitement ARV,

Les résultats de la charge virale sont classés en catégories:

- a) charge non détectée,
- b) charge inférieure à la limite de quantification),
- c) charge quantifiée (entre la limite inférieure de détection et la limite supérieure de quantification)

## **5.8. Collecte, traitement et analyse des données**

### **5.8.1. Recrutement des patients et prélèvement de sang**

Les patients participant à cette étude ont été recrutés dans le service de maladies infectieuses du CHU du Point-G et le CESAC de Bamako.

Une quantité de 12 ml de sang veineux recueillie dans des tubes d'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) ou du plasma restant après les analyses de routine a été utilisée pour la quantification de la charge virale.

### **5.8.2. Techniques utilisées pour la quantification de la charge virale**

Tous les échantillons seront testés en même temps par les techniques Xpert HIV-1 VL sujets co-infectés par le VIH-1 et le VIH-2, Roche TaqMan et Abbott m2000 RT.

### **a. Technique Abbott m2000 RT.**

#### **✓ Principe**

La RT-PCR en temps réel sur Abbott m2000 RT Quantitative Assay est un test d'amplification de signal de l'ARN cible converti en ADN<sub>c</sub> grâce à l'activité de transcription inverse de la polymérase thermostable rTth ADN pour la quantification directe d'ARN VIH-1 dans le plasma ou autres liquides biologiques des individus infectés. En premier lieu, les amorces ou primers de transcription inverse du VIH-1 et du contrôle interne s'hybrident avec leurs cibles respectives et s'étendent au cours d'une période d'incubation prolongée.

Ces deux primers sont non compétitives, et le CI (Contrôle Interne) est détecté même à des niveaux élevés de VIH. La cible de l'amorce VIH-1 est le gène de l'intégrase dans la région Pol.

Après l'étape de dénaturation, au cours de laquelle la température de la réaction s'élève au-dessus du point de fusion du produit ADN<sub>c</sub> double brin : ARN, une deuxième amorce s'hybride avec le brin de l'ADN<sub>c</sub> et s'étend sous l'activité de la polymérase de l'ADN de l'enzyme rTth afin de créer un produit d'ADN à double brin.

L'amplification exponentielle du produit est réalisée grâce aux cycles répétés entre températures élevées et basses du thermocycleur pour obtenir une amplification des séquences cibles d'un milliard ou plus.

La technologie Abbott HIV-1 m2000 RT utilise deux sondes d'hybridation, une spécifique au VIH et l'autre spécifique au CI (Contrôle Interne).

Les deux sont marquées par différent fluorophore à l'extrémité 5' et un quencher à l'extrémité 3' et permettent de détecter le produit amplifié à chaque cycle. En l'absence de cible, l'énergie du fluorophore excité est absorbée par le quencher, ce qui empêche la génération du signal fluorescent.

En présence de cible, la sonde s'hybride à sa séquence complémentaire, se séparant du quencher permettant ainsi la détection de la fluorescence.

#### **✓ Résultats et interprétation**

Le cycle d'amplification au cours duquel le signal fluorescent est détecté par le *m2000rt*, est proportionnel au log de la concentration d'ARN VIH-1 présente dans l'échantillon d'origine. Le logiciel m2000 Software version 4.0 donne les résultats en copies/mL ou en Log<sub>10</sub> (copies/mL).

## b. Xpert® HIV1-VL

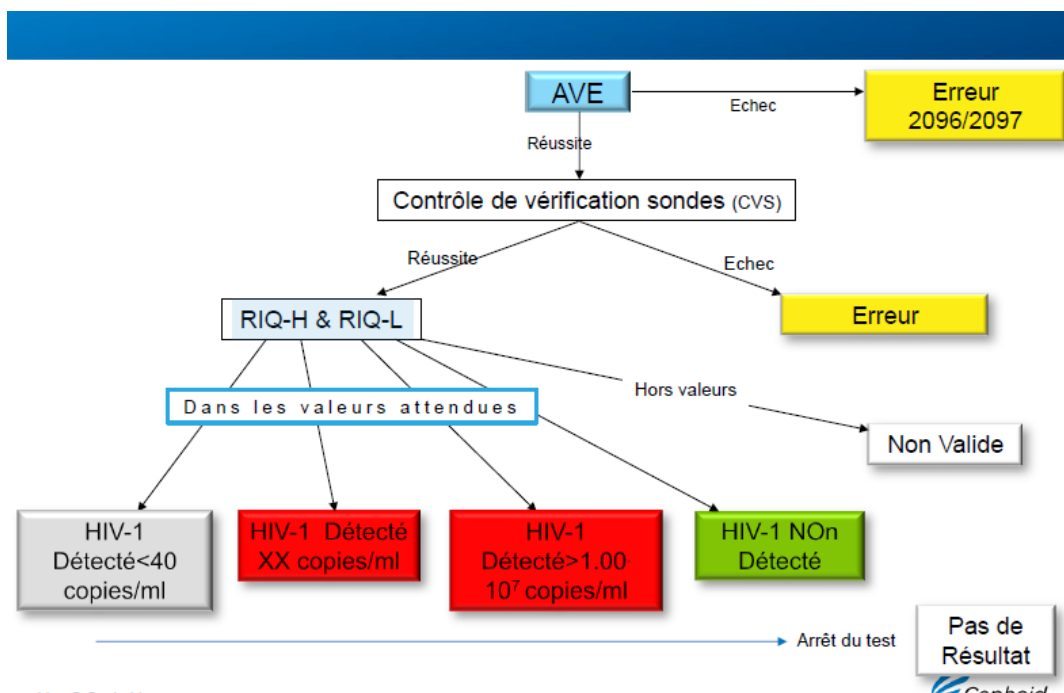
Le test HIV-1 VL, effectué sur les systèmes d'instrument Xpert®, est un test de diagnostic in vitro conçu pour la quantification rapide du virus de l'immunodéficience humaine de type 1 (VIH-1) dans le plasma humain de patients infectés par le VIH-1.

### ✓ Préparation de la cartouche Xpert® HIV1-VL

1. Si l'échantillon est congelé ou réfrigéré, le placer à température ambiante jusqu'à les équilibrer à température ambiante
2. Vortexer l'échantillon 15 secondes. Si l'échantillon est trouble, le centrifuger pendant quelques secondes.
3. Identifier la cartouche avec l'identifiant échantillon (Étiquette ou feutre)
4. Ouvrir le couvercle de la cartouche
5. Aspirer au moins 1 ml d'échantillon en utilisant la pipette fournie
6. Vider lentement la pipette dans la chambre échantillon de la cartouche
7. Fermer le couvercle de la cartouche
8. Démarrer le test sur le Xpert

### ✓ Lecture et interprétation

- 1- Créer un test
- 2- Scanner le code-barres de la cartouche dès que le message apparaît
- 3- Viser le milieu du code-barres à l'aide de la croix et presser la gachette jaune pour activer le lecteur code-barres





**Un résultat NON VALIDE indique que les constantes du RIQ-H et/ou RIQ-L sont en dehors des valeurs attendues.**

La raison d'un résultat non valide peut être:

- ✓ Prélèvement d'un échantillon inadéquat (sur tube héparine par exemple)
- ✓ Préparation incorrecte de l'échantillon
- ✓ Transfert d'un volume d'échantillon insuffisant dans la cartouche
- ✓ Présence d'inhibiteur dans l'échantillon
- ✓ Mauvaises conditions de conservation des cartouches
- ✓ Billes de Sondes/Amorces ou enzyme endommagées
- ✓ Inefficace de l'échantillon dans la cartouche

Résultat NON VALIDE

### **c. Roche TaqMan**

#### **▪ Système Cobas Ampliprep**

Le système COBAS® AmpliPrep automatise la purification de l'ADN et de l'ARN grâce à la technologie des billes magnétiques (Magnetic Beads). En supprimant les étapes chronophages et sujettes aux erreurs de préparation manuelle, le système permet d'augmenter l'efficacité et la sécurité du laboratoire. Le système COBAS® AmpliPrep peut être associé à différents systèmes de PCR, p. ex. COBAS® TaqMan® ou COBAS AMPLICOR® pour offrir une solution sur mesure à tous les laboratoires de PCR.

#### **Sécurité et fiabilité**

- Réduction des contaminations grâce aux tubes scellés et aux acides nucléiques purifiés
- Réduction des échanges involontaires d'échantillons grâce à la traçabilité par codes-barres

#### **Efficacité**

- Interventions manuelles minimales grâce à la préparation automatisée des échantillons
- Cycles pendant la nuit
- Jusqu'à 4 tests simultanément, rechargement en continu
- Processus de traitement simplifié grâce à des réactifs prêts à l'emploi dans des cassettes à code-barres
- Plage d'utilisation élargie grâce à la préparation générique complémentaire des échantillons pour d'autres systèmes de PCR

#### ▪ **Système COBAS TaqMan 48**

Le système COBAS® TaqMan® 48 est un appareil de paillasse compact. Grâce à sa technologie innovante de PCR en temps réel, il réduit les étapes manuelles et la durée d'analyse. Avec ses deux thermocycleurs, il peut, au besoin, traiter différents paramètres en parallèle. La préparation des échantillons peut être effectuée manuellement ou sur le système COBAS® AmpliPrep si le volume à traiter est plus important. L'association de l'innovation et de la souplesse permet un déroulement efficace des opérations dans les laboratoires de PCR de routine, quel que soit le volume traité.

#### **Des PCR de routine efficaces**

- Résultats fiables et valables en quelques heures
- Tests sensibles sur une large plage de mesure linéaire ne nécessitant aucune méthode de préparation spécifique pour les échantillons présentant une faible concentration, ni de dilutions successives pour les échantillons à fort titrage

#### **Tests haute innocuité**

- Réduction des risques de contamination grâce à l'enzyme AmpErase et contrôles internes permettant d'identifier les éventuelles inhibitions de la PCR

#### **Interventions manuelles réduites**

- Par rapport aux méthodes manuelles

#### **5.8.3. Supports de collecte des données**

Les informations concernant des différentes variables seront recueillies sur des fiches individuelles et anonymes.

#### **5.9. Plan d'analyse**

L'analyse des données a porté seulement sur les échantillons avec des résultats de test valides par la technique de Xpert HIV-1 VL et de Roche TaqMan ou Abbott m2000 RT.

Les résultats ont été représentés sous forme de tableaux et de graphiques.

Les résultats de la charge virale ont été exprimés en copies/ml et classifiés en charge virale non détectée et en charge virale quantifiée.

La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positive et négative ainsi que leurs intervalles de confiance (IC) à 95%, ont été calculées pour évaluer la performance de la technique Xpert HIV-1VL.

Les rapports de vraisemblance positive et négative ont été calculés ainsi que le coefficient Kappa de Cohen pour déterminer la concordance entre la technique Xpert HIV-1VL et les techniques de Roche TaqMan et Abbot Real Time.

Les résultats de la charge virale ont été exprimés en copies / ml ont été transformés en  $\log_{10}$  copies / ml pour la détermination de la corrélation entre les techniques.

Le T test a été utilisé pour la comparaison des moyennes de la charge virale.

La régression linéaire a été utilisée pour déterminer le coefficient de détermination et le coefficient de corrélation de Pearson entre la technique Xpert HIV-1VL et Roche TaqMan et la technique Xpert HIV-1VL et Abbott m2000 RT. La précision et l'exactitude ont été vérifiées en utilisant le coefficient de corrélation de Pearson et l'analyse de Bland-Altman.

La valeur de p inférieure à 0,05 a été utilisée pour indiquer la significativité statistique.

Les logiciels SPSS version 22.0 a été utilisé pour les analyses.

### **Définition des termes**

**L'exactitude:** est la proportion de résultats correctement identifiés par le test.

**La sensibilité :** c'est la probabilité pour un sujet malade d'avoir un test positif. Elle mesure donc l'aptitude du test à bien détecter les malades.

**La spécificité :** c'est la probabilité pour un sujet non malade d'avoir un test négatif. Elle mesure donc l'aptitude du test à reconnaître les non malades.

**La valeur prédictive positive (VPP) :** est la probabilité qu'un sujet soit effectivement malade en cas de test positif.

**La valeur prédictive négative (VPN) :** est la probabilité qu'un sujet soit effectivement non malade en cas de test négatif.

**Le rapport de vraisemblance positif (RV+) :** est le rapport entre la probabilité de présenter un test positif quand la personne est malade et la probabilité de présenter un test positif quand la personne n'est pas malade.

**Le Rapport de vraisemblance négatif (RV-) :** est le rapport entre la probabilité de présenter un test négatif quand la personne est malade et la probabilité de présenter un test négatif quand la personne n'est pas malade.

**Le Diagnostic Odds ratio (DOR) :** est le rapport de la cote d'avoir un test positif chez les malades (charge virale) sur la cote d'avoir un test positif chez les non malades (pas de charge virale). Un  $DOR \geq 1$  signifie que le test est plus souvent positif chez les malades (charge virale) que chez les non malades (pas de charge virale). Plus sa valeur augmente, plus le test est performant. Un DOR inférieur à 1 signifie que le test est plus souvent positif chez les sujets non malades (pas de charge virale) que chez les malades.

**Le coefficient Kappa de Cohen** mesure la reproductibilité d'un test.

Par convention on considère :

Bonne concordance :  $Kappa > 0,6$

Assez bonne concordance :  $0,3 \leq Kappa \leq 0,6$

Mauvaise concordance :  $Kappa < 0,3$

#### **5.10. Considérations éthiques**

L'étude a été conduite dans le strict respect des directives de la conférence internationale sur l'harmonisation des bonnes pratiques cliniques et toutes les exigences applicables. Les risques liés aux prélèvements de sang ont été expliqués aux participants avant l'obtention de leur consentement éclairé verbal. L'étude n'offre aucun avantage direct aux participants. Les participants et leurs médecins ont été informés des résultats obtenus des tests effectués.

Pour le maintien de la confidentialité, la collecte des informations chez les participants et le traitement des échantillons ont été effectués dans l'anonymat.

## 6. Résultats

Un total de 102 échantillons a été inclus dans cette étude dont 92 patients et 10 échantillons de laboratoire.

Parmi 102 échantillons le nombre d'échantillons avec des résultats de test valides à la fois par les techniques de Xpert HIV-1 VL et de Roche TaqMan était de 81 échantillons et celui de Xpert HIV-1 et Abbott m2000 RT était 90 échantillons

Les données sur le sexe, l'âge, le taux de cellules T CD4 et le traitement antirétroviral des patients inclus dans l'étude sont consignées dans le tableau I.

**Tableau I** : Caractéristiques des 92 patients

<b>Caractéristiques des patients (N=92)</b>	<b>Effectif (n)</b>	<b>Fréquence (%)</b>
<b>Sexe</b>		
Homme	32	65,20
Femme	60	34,80
<b>Age (en année)</b>		
0 – 17	9	9,80
18 – 35	36	39,10
36 – 50	29	31,50
> 50	18	19,60
<b>Taux CD4+ récents (cellules/ml)</b>		
≤ 200	13	14,10
201 – 350	6	6,50
351 – 500	5	5,40
> 500	23	25,00
Non	45	48,90
<b>Traitement ARV</b>		
Naïf du traitement ARV	26	28,30
INTI + INNTI	51	55,4
INTI + IP	13	14,10
INTI + IP + II	2	2,20

INTI: Inhibiteur nucléotidique de la transcriptase inverse, INNTI: Inhibiteur non nucléotidique de la transcriptase inverse, IP: Inhibiteur de la protéase, II: Inhibiteur d'intégrase

### Comparaison de Xpert HIV1-VL à Roche TaqMan

La charge virale des 81 échantillons avec des résultats valides aux deux techniques a été classifiée en charge non détectée (charge < 20 copies/ml) et en charge quantifiée (charge > 20 copies/ml). Cette analyse a concerné les 81 échantillons qui ont des résultats de test valides pour Xpert et Roche TaqMan (tableau II). La charge virale a été quantifiée par la technique de Xpert HIV-1VL et Roche TaqMan dans 41 échantillons. Les résultats discordant étaient dans 4 échantillons soit 4,93%. Parmi ces 4 échantillons, un (1) échantillon a été quantifié par la technique de Xpert HIV-1VL mais non détecté par la technique de Roche TaqMan et les 3 autres ont été quantifiés par la technique de Roche TaqMan mais non détectés par le Xpert HIV-1 VL. La sensibilité était de 93,18% avec un IC à 95% [81,77% - 97,65%], la spécificité était de 97,30% avec un IC à 95% [86,18% - 99,52%], et le kappa était égal à 0,9 (tableau III). L'exactitude était de 95,06% [92,56% - 97,46%].

**Tableau II:** Performance de Xpert<sup>®</sup> HIV1-VL (valeur seuil  $\geq$  20 cp/ml) pour la détection de la charge virale comparée au test de référence Roche TaqMan

		Roche TaqMan		
		Quantifiée	Non détectée	Total
Xpert <sup>®</sup>	Quantifiée	41	1	42
	Non détectée	3	36	39
HIV1-VL	Total	44	37	81

**Tableau III:** Indicateurs de la performance, de l'utilité et de la fiabilité/reproductibilité du test Xpert<sup>®</sup> HIV1-VL comparés au test de référence Roche TaqMan

Paramètres	Estimation	Intervalle de confiance à 95%
Exactitude (%)	95,06	92,56 – 97,46
sensibilité (%)	93,18	81,77 – 97,65
Spécificité (%)	97,30	86,18 – 99,52
Valeur prédictive positive (%)	97,62	87,68 – 99,58
Valeur prédictive négative (%)	92,31	79,68 – 97,35
Rapport de vraisemblance positif	34,50	4,83 – 245,60
Rapport de vraisemblance négatif	0,07	0,03 – 0,13
Diagnostic Odds Ratio (DOR)	492,57	396,17 – 612,41
Kappa de Cohen	0,9	0,68 – 1,11

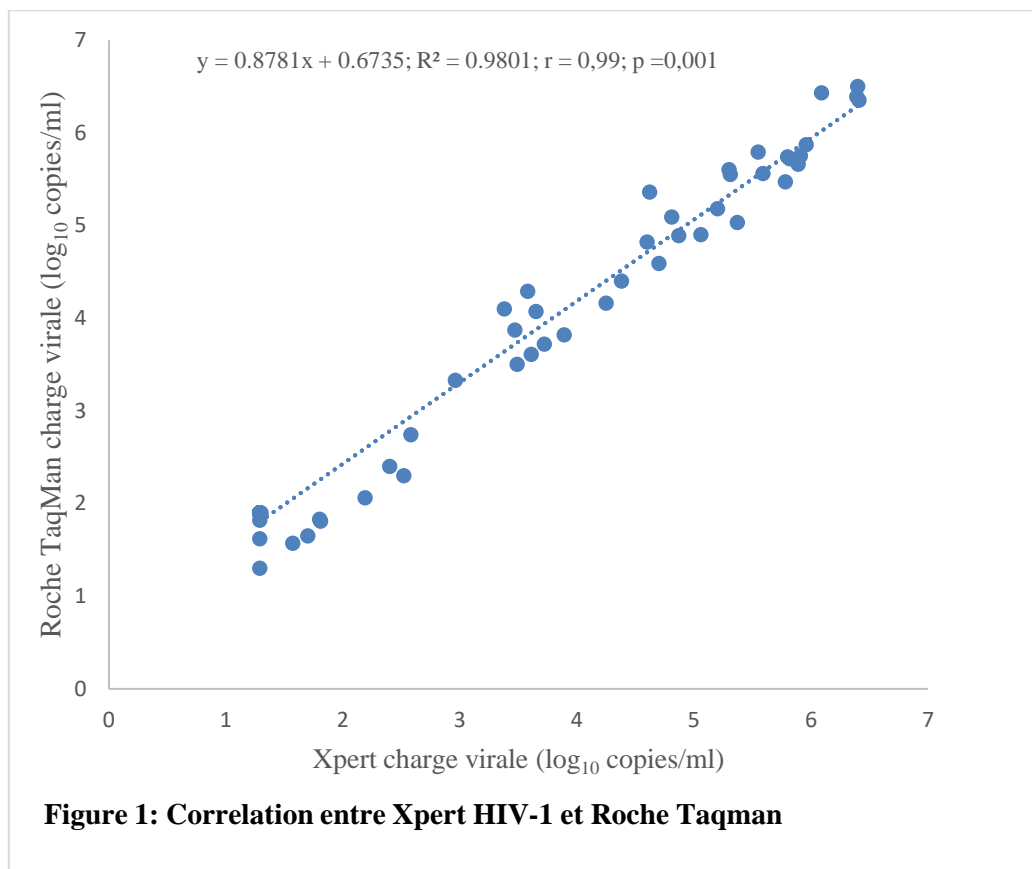
### Corrélation entre la technique de Xpert<sup>®</sup> HIV-1 VL et la technique de Roche TaqMan

Pour la corrélation entre les deux méthodes, les résultats de charge virale transformés en  $\log_{10}$  ont été utilisés.

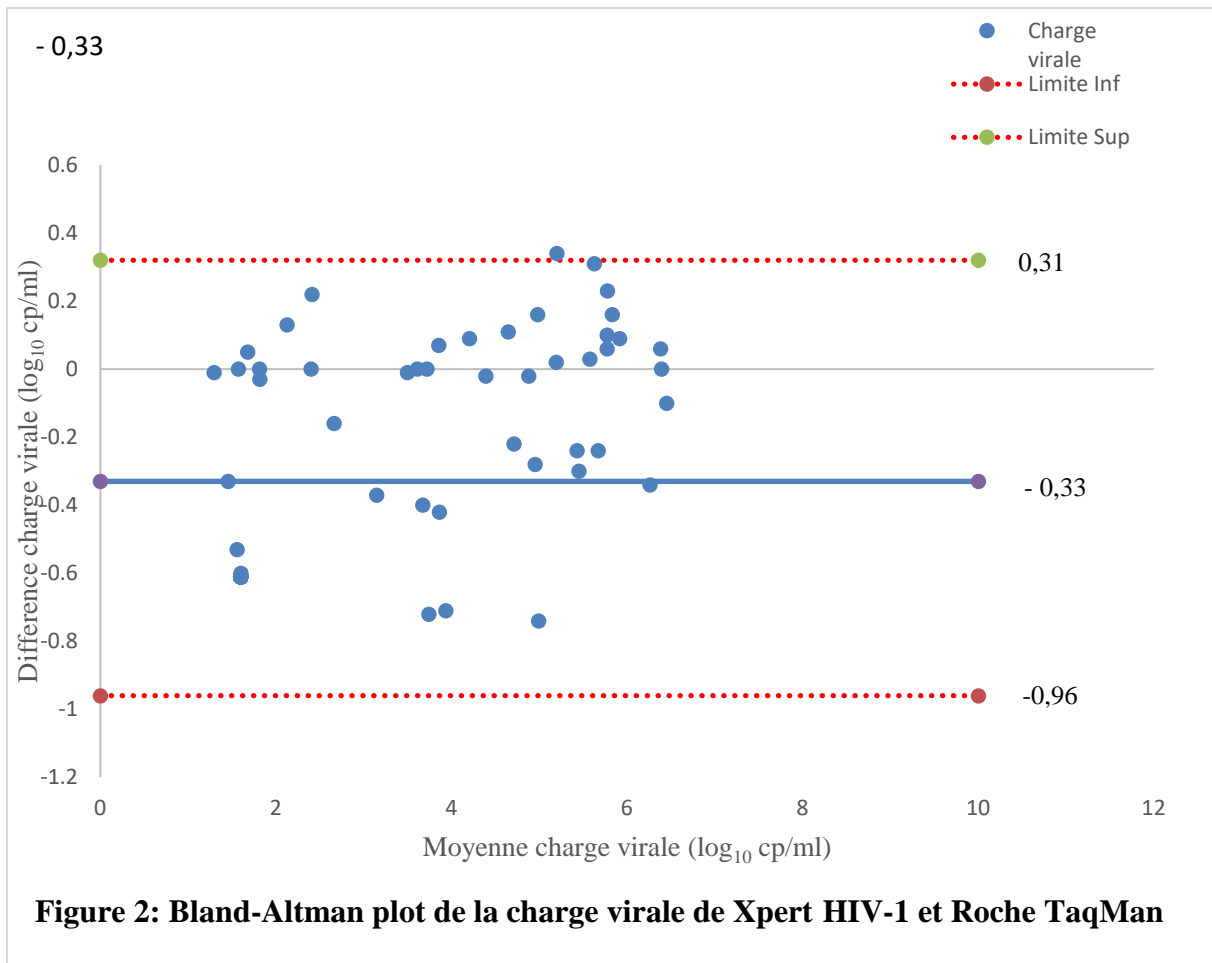
La valeur moyenne de la charge de la technique de Xpert HIV-1VL était de  $2,859 \pm 1,861$   $\log_{10}$  copies/ml et la moyenne de la charge virale pour Roche TaqMan était de  $3,183 \pm 1,861$   $\log_{10}$  copies/ml. Cette différence de moyennes n'était pas statistiquement significative ( $p = 0,24$ ).

Le diagramme de dispersion de la charge virale des deux méthodes et la régression linéaire simple ont permis de déterminer la valeur du coefficient de détermination ( $R^2$ ) et la valeur du coefficient de corrélation de Pearson ( $r$ ) (figure 1). Le coefficient de corrélation de Pearson  $r$  était de 0,99 et  $R^2 = 0,9801$ , avec  $p = 0,001$ .

En utilisation l'analyse de Bland-Altman (Figure 2), la moyenne des différences de la charge virale était de -0,33 avec un écart type 0,32 et un intervalle de confiance (IC) à 95% de [-0,96 ; 0,31].



**Figure 1: Corrélation entre Xpert HIV-1 et Roche Taqman**



### Comparaison de Xpert HIV-1 VL à Abbott m2000 RT

La charge virale des 90 échantillons avec des résultats valides aux deux techniques (Roche TaqMan et Abbott m2000 RT) a été classifiés en charge non détectée (charge < 20 copies/ml pour la technique de Xpert HIV-1 et charge < 40 copies/ml pour la technique Abbott m2000 RT) et en charge quantifiée (charge  $\geq$  20 copies/ml pour par la technique de Xpert et charge  $\geq$  40 copies/ml pour la technique Abbott m2000 RT). L'analyse a concerné les 90 échantillons qui avaient des résultats de test valides pour Xpert HIV-1VL et Abbott m2000 RT (tableau IV). La technique de Xpert HIV-1VL avait quantifié la charge virale dans 50 échantillons contre 48 échantillons pour la technique d'Abbott m2000 RT. Quatre (4) échantillons avaient des résultats discordant soit 4,40% (4/90). Parmi les 4 échantillons avec des résultats discordant, 3 échantillons ont été quantifiés par la technique de Xpert HIV-1VL et 1 échantillon par la technique d'Abbott m2000 RT. La sensibilité, la spécificité et le coefficient kappa était respectivement de 97,92% avec un IC à 95% [89,10-99,63], 93,33% avec un IC à 95% [80,99 -97, 54] et 0,9 avec un IC à 95% [0,81- 0,99] (tableau V). L'exactitude était de 95,55% avec IC à 95% [93,26% - 97,84%].



**Tableau IV:** Performance de Xpert<sup>®</sup> HIV1-VL (valeur seuil  $\geq 20$  cp/ml) pour la détection de la charge virale comparée au test de référence Abbott m2000 RT

		Abbott m2000 RT		
		Quantifiée	Non détectée	Total
Xpert <sup>®</sup> HIV1-VL	Quantifiée	47	3	50
	Non détectée	1	39	40
	Total	48	42	90

**Tableau V:** Indicateurs de la performance, de l'utilité et de la fiabilité/reproductibilité du test Xpert<sup>®</sup> HIV1-VL comparés au test de référence Abbott m2000 RT

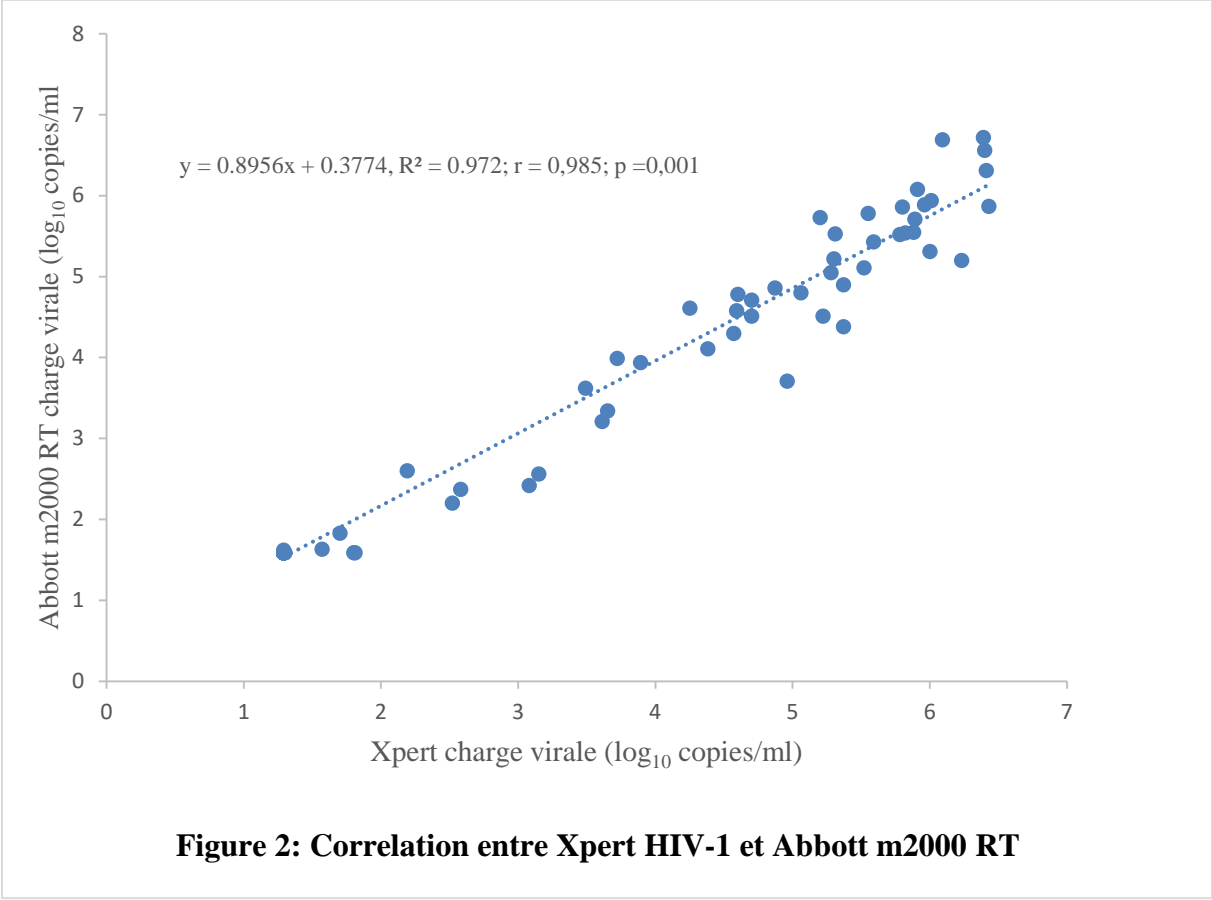
Paramètres	Estimation	Intervalle de confiance à (95%)
Exactitude	95,55	93,26 – 97,84
Sensibilité (%)	97,92	89,10 – 99,63
Spécificité (%)	92,86	80,99 – 97,54
Valeur prédictive positive (%)	94,00	83,78 – 97,94
Valeur prédictive négative (%)	97,50	87,12 – 99,56
Rapport de vraisemblance positif	13,51	7,12 – 26,37
Rapport de vraisemblance négatif	0,02	0,00 – 0,15
Diagnostic Odds Ratio (DOR)	675,50	549,41 – 830,52
Kappa de Cohen	0,91	0,70 – 1,11

### Corrélation entre la technique de Xpert<sup>®</sup> HIV-1VL et la technique Abbott m2000 RT m2000

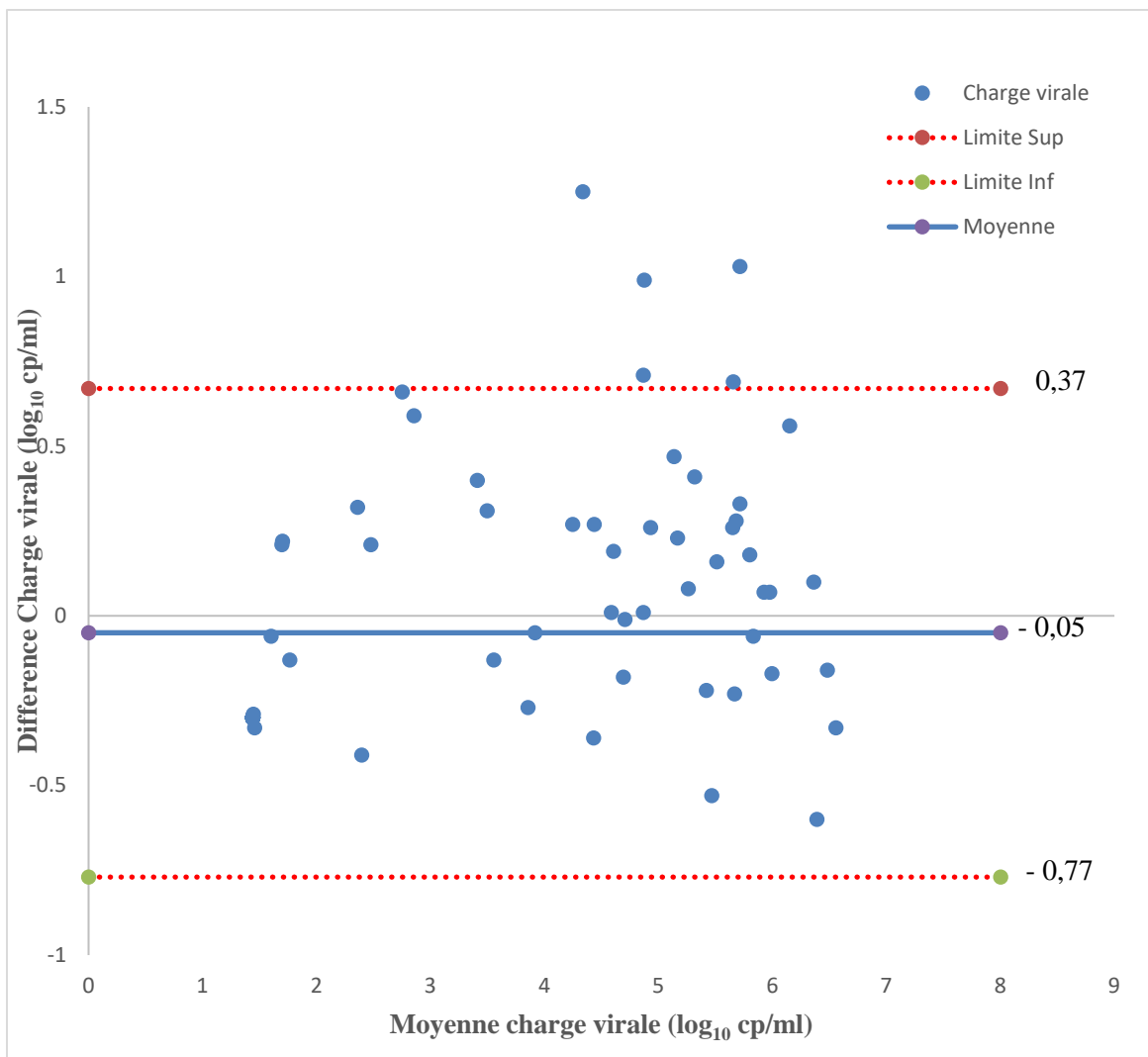
La valeur moyenne de la charge de la technique de Xpert HIV-1VL était de  $3,166 \pm 1,998$   $\log_{10}$  copies/ml et la moyenne de la charge de Abbott m2000 RT était de  $3,212 \pm 1,815$   $\log_{10}$  copies/ml. La différence entre les deux moyennes n'était pas statistiquement significative ( $p=0,87$ ).

Les coefficients de détermination ( $R^2$ ) et de corrélation de Pearson ( $r$ ), obtenus à partir du diagramme de dispersion de la charge virale et de la régression linéaire simple étaient respectivement de 0,972 et 0,985 avec  $p=0,001$  (figure 3).

En utilisation l'analyse de Bland-Altman (Fig.4), la moyenne des différences de la charge virale était de -0,05 avec un écart type de 0,37 et un IC à 95% de [-0,77 ; 0,67].



**Figure 2: Correlation entre Xpert HIV-1 et Abbott m2000 RT**



**Figure 4: Bland-Altman plot de charge virale de Xpert HIV-1 et Abbott m2000**

## 7. Discussion

La charge virale plasmatique du VIH-1 est un élément clé dans le suivi virologique chez les patients infectés par le VIH sous traitement antirétroviral. Elle permet de mesurer l'intensité de la réplication virale chez les patients non traités et d'évaluer la réponse virologique au traitement antirétroviral. Elle fait partie intégrante de la gestion de l'infection à VIH-1 dans le monde (7, 17, 18). La charge virale plasmatique du VIH détermine le risque de progression de la maladie et oriente les décisions du traitement antirétroviral (17, 19). La quantification de la charge virale du VIH-1 est effectuée depuis de nombreuses années par des différentes techniques: initialement par la mesure de l'antigène p24 et actuellement par des techniques de biologie moléculaire telles que le séquençage des acides nucléiques par amplification et la PCR en temps réel (RT-PCR).

Les différentes technologies de quantification de la charge du VIH-1 utilisent des plateformes de grande capacité relativement impressionnantes, combinant un système séparé d'extraction et d'amplification du génome viral. Ces plateformes sont avantageuses pour les grands laboratoires, mais sont inadéquates ou difficiles à mettre en œuvre dans des laboratoires plus petits ou sur le terrain dans les pays à faible revenu, en raison des exigences en expertise technique, en personnel qualifié, le coût et la maintenance des instruments (20). Alors que les volumes de tests de charge virale dans ces pays à faible revenu devraient augmenter considérablement pour répondre aux besoins en matière de surveillance des cibles de l'ONUSIDA "90-90-90", qui visent à garantir la suppression de la charge virale plasmatique chez 90% des patients sous traitement antirétroviral d'ici à 2020 (9). Pour s'assurer que les exigences de volume de test de charge virale soient respectées, il faut des nouvelles approches de tests de la charge virale du VIH-1 plus abordables, plus simples et faciles à utiliser au niveau des sites décentralisés de la prise en charge.

La technologie GeneXpert présente des capacités polyvalentes (tests multiples) et une empreinte déjà établie dans la plupart des pays à faible revenu dans le cadre du diagnostic de la tuberculose. La plate-forme Xpert HIV-1VL est modulaire et répond à toute une gamme de besoins en matière de tests.

Dans cette étude, les résultats de la comparaison entre le Xpert HIV-1VL et Roche TaqMan ont montré une sensibilité à 93,18% avec un IC à 95% [81,77% - 97,65%], une spécificité à 97,30% avec un IC à 95% [86,18% - 99,52%] et une bonne concordance avec un kappa égal à 0,9 [0,81-0,99]. L'exactitude était de 95,06% [92,83% - 97,46%]. Une discordance de résultats a été notée dans 4,93% des cas (4 échantillons). Le Xpert HIV-1VL a classé 3

échantillons quantifiés par la technique de Roche TaqMan comme non détecté et 1 échantillon non détecté par Roche TaqMan a été quantifié par la technique de Xpert HIV-1VL. Les rapports de vraisemblance positive et négative qui étaient respectivement de 34,50 [4,83 – 245,60] et 0,07 [0,3 – 0,13] dans cette étude montrent que le Xpert HIV-1 VL semble être intéressant que Roche TaqMan. Avec un diagnostic Odds ratio (DOR) à 492,57 [396,17 – 612,41] signifie que dans cette étude le Xpert HIV-1 VL quantifie 492,57 fois charge virale chez les patients ayant une charge détectable que chez les patients avec une charge non détectable. Gous N et al. ont trouvé dans leur étude une sensibilité et une spécificité satisfaisantes avec une valeur prédictive positive de 86,7% [69,3 - 96,2] et une valeur prédictive négative de 98,4% [94,3 - 99,8] et seuls 2/5 des résultats de Roche TaqMan ont été incorrectement classés par Xpert HIV-1VL (4). Selon Avidor B et al. les sensibilités de Xpert HIV-1VL et de Roche TaqMan sont équivalentes (21).

Les moyennes de la charge virale obtenues par les techniques de Xpert HIV-1VL et Roche TaqMan étaient respectivement de  $2,859 \pm 1,861 \log_{10}$  copies/ml et  $3,183 \pm 1,861 \log_{10}$  cp/ml. La différence entre les deux moyennes n'était pas statistiquement significative ( $p=0,24$ ).

Nos résultats ont montré également une forte corrélation positive entre Xpert HIV-1VL et Roche TaqMan avec un coefficient de détermination ( $R^2$ )= 0,980 et un coefficient de corrélation de Pearson ( $r$ ) = 0,99 ( $p < 001$ ). Ces résultats sont comparables à ceux d'Avidor et al. qui ont trouvé un coefficient de détermination ( $R^2$ ) élevé de 0,94 et un coefficient de corrélation de Pearson ( $r$ ) à 0,97 (21). Garrett NJ et al. ont trouvé une bonne corrélation entre les résultats de la charge virale Xpert HIV-1 VL et Roche TaqMan avec un coefficient de corrélation de Pearson  $r = 0,94$  ( $p < 0,001$ ), mais la force de la corrélation était légèrement plus faible lorsque l'on utilise les échantillons congelés. Le Xpert pourrait constituer un outil fiable pour la surveillance de la charge virale en clinique (9).

La moyenne des différences de la charge virale entre Xpert HIV-1 et Roche TaqMan était de -0,33  $\log_{10}$  copies/ml avec un IC à 95% de [-0,96 ; 0,31] et une déviation standard de 0,32  $\log_{10}$  copies/ml. Cela pourrait être expliqué par la faible taille de notre échantillon. Contrairement à Avidor B et al. qui ont rapporté un faible biais entre les deux techniques avec une moyenne des différences à 0,16  $\log_{10}$  copies/ml (SD = 0,19) (21). Garrett NJ et al ont trouvé une moyenne des différences entre les résultats de la charge virale de Roche TaqMan et Xpert HIV-1 de -0,10 copies  $\log$ /ml [- 0,59 ; 0,39] (9).

Par rapport à la présente étude, la technique de Xpert HIV-1 comparée à la technique d'Abbott m2000 RT a montré une sensibilité à 97,92% avec un IC à 95% [89,10-99,63], une spécificité à 93,33% ; IC à 95% [80,99 -97, 54] et une bonne concordance avec un kappa à 0,9 ; IC à 95% [0,81- 0,99]. L'exactitude du test de Xpert HIV-1 VL était de 95,56% [89,12% - 98,06%] avec une valeur prédictive positive à 94% [83,78% - 97,94%] et une valeur prédictive négative à 97,50% avec un IC à 95% [87,12% - 99,56%]. Un seul échantillon quantifié par Abbott m2000 RT a été classé comme non détecté par Xpert HIV-1 VL. Le diagnostic Odds ratio (DOR) était 675,50 fois [549,41 – 830,52]. La charge virale était quantifiée 675,50 fois par le Xpert HIV-1 VL chez les patients ayant une charge détectable que chez les patients avec une charge non détectable. Gous N et al. ont obtenu une sensibilité et une spécificité satisfaisantes entre les deux méthodes dans leur étude, par contre 5 échantillons ont été classés incorrectement par Xpert HIV-1VL contre Abbott m2000 RT, donnant ainsi une valeur prédictive positive de 83,9% avec un IC à 95% [66,3 - 94,5] et une valeur prédictive négative de 100% avec un IC à 95% [96,9 -100] (4). Le Xpert HIV-1 était intéressant avec un rapport de vraisemblance négative < 0,1 (0,02 [0,00 – 0,15] et un rapport de vraisemblance positive de 13,51 [7,12 – 26,37]. Le Xpert HIV-1 VL quantifie plus souvent la charge virale chez les patients ayant une charge détectable que les patients avec une charge non détectable avec un diagnostic Odds ratio (DOR) de 675,50 [549,41 – 830,52].

Nos résultats sont comparables à ceux de Kulkarni S et al. qui ont trouvé une sensibilité à 97%, une spécificité à 97%, une valeur prédictive positive à 99% et une valeur prédictive négative à 89% en utilisant la stratification selon la valeur limite fixée par l'OMS (> 400 cp/ml) et que le test Xpert HIV-1VL s'est avéré hautement sensible de 91% à 95% et spécifique de 99% à 100% (22). Jordan JA et al. ont trouvé une concordance globale entre Xpert HIV-1VL et Abbott m2000 RT (87,15% [84,52% - 89,40%]) avec un Kappa de 0,6278 [0,5590 - 0,6967] (23).

Nous n'avons pas noté de différence statistiquement significative entre les moyennes de la charge de la technique de Xpert HIV-1VL et Abbott m2000 RT qui étaient respectivement de  $3,166 \pm 1,998 \log_{10}$  cp/ml et  $3,212 \pm 1,815 \log_{10}$  cp/ml ( $p = 0,87 > 0,05$ ). Contrairement à Ceffa S et al. qui ont trouvé une différence statistiquement significative entre les deux moyennes de la charge virale de Xpert HIV-1VL et Abbott m2000 RT (test t,  $p < 0,001$ ) avec une moyenne de  $3,21 \log_{10}$  cp/ml contre  $3,13 \log_{10}$  cp/ml respectivement (24).

Cette étude a révélé une bonne corrélation entre les tests Xpert HIV-1 VL et Abbott m2000 RT avec une valeur du coefficient de détermination ( $R^2$ ) de 0,972 et une valeur du coefficient

de corrélation de Pearson ( $r$ ) de 0,985 avec  $p = 0,001$ . Ces résultats sont comparables à ceux de Jordan JA et al. qui ont trouvé également une bonne corrélation entre les tests Xpert HIV-1 VL et Abbott m2000 RT, avec une valeur du coefficient de corrélation de Pearson ( $r$ ) de 0,9847 et une valeur du coefficient de détermination ( $R^2$ ) de 0,9696 et que la technique de Xpert HIV-1VL a démontré d'excellentes performances pour quantifier la charge virale du VIH-1 par rapport au test Abbott m2000 RT (23). Nos résultats concordent aussi avec ceux de Ceffa et al. ont trouvé des résultats similaires en comparant le test Xpert HIV-1 VL avec le test Abbott m2000 RT avec un coefficient de corrélation de Pearson  $r = 0,95$  et un coefficient de détermination  $R^2 = 0,9$  (24). D'autres auteurs ont également rapporté une bonne corrélation entre le Xpert HIV-1 VL et Abbott m2000 RT (18, 22). Nash M et al. ont trouvé dans une meta-analyse de 8 études une forte corrélation entre les tests de Xpert et les tests de référence avec un coefficient de corrélation de Pearson de 0,94 ; IC à 95% [0,89, 0,97] (25).

L'analyse de Bland-Altman a montré un faible biais entre Xpert et Abbott m2000 RT avec une moyenne des différences de la charge virale de  $-0,05 \log_{10} \text{ cp/ml}$  [ $-0,77 - 0,67$ ] et une déviation standard de  $0,37 \log_{10} \text{ cp/ml}$ . Ce résultat est comparable à celui de Ceffa S et al. qui ont obtenues une moyenne des différence de la charge virale de  $0,082 \log_{10} \text{ copies /ml}$  Abbott m2000 RT et Xpert HIV-1 VL (24) et à celui de Gueudin M et al. qui ont a montré une corrélation significative entre les deux techniques, car la moyenne des différences était presque nulle (20). Contrairement aux résultats de Kulkarni S et al. qui ont montré dans l'ensemble un fort accord entre les résultats des deux tests avec un biais moyen de 0,120 et un IC à 95% [0,042 ; 0,199] (22) et de Mor O et al. avec une moyenne des différences de la charge virale de  $0,13 \log_{10} \text{ cp/ml}$  (95 % IC, 0,07 à  $0,19 \log_{10} \text{ cp/ml}$  (SD =  $0,26 \log_{10} \text{ cp/ml}$ ) entre de Abbott m2000 RT et Xpert HIV-1 VL (17). Une moyenne des différences de  $0,27 \log_{10} \text{ cp/ml}$  (IC à 95%, [ $-0,41$  à  $0,96$ ]) et un écart type de 0,35 entre Xpert HIV-1 et Abbott m2000 RT a été rapporté par Swathirajan CR et al. (18).

La quantification de la charge virale du VIH par la technique de Xpert HIV-1 VL présente un avantage par rapport aux techniques de référence (Roche TaqMan et Abbott m2000 RT) dans lesquelles les échantillons ne peuvent être analysés que par lots, ce qui a une incidence sur le sur le temps d'attente des résultats et la gestion des patients. En outre, la réalisation de l'extraction et de l'amplification dans une cartouche unique dans un temps relativement court (90 minutes), sa méthodologie technique simplifiée et son utilisation facile font de Xpert HIV-1 VL un outil particulièrement bien adapté à une utilisation sur le terrain et dans les zones où l'accès à la charge virale est difficile. Cette fonctionnalité pourrait aider à

décentraliser la réalisation de la charge virale du VIH-1, en particulier dans les pays à ressources limitées où la gestion des patients atteints du VIH reste un problème complexe (18, 25). La Xpert HIV-1 VL peut également être utilisé dans les grands laboratoires ou les échantillons volumineux ou même pour la gestion d'une utilisation d'urgence (20). Le déploiement du Xpert HIV-1 VL sur les sites décentralisés de prise en charge du VIH, ainsi que l'utilisation de systèmes Xpert préexistants utilisés dans le diagnostic de la tuberculose, pourrait potentiellement améliorer l'accès à la charge virale, ce qui pourrait être nécessaire pour atteindre les objectifs mondiaux 90-90-90 en matière de VIH/Sida (25).

### **Force et Limite de l'étude**

Notre étude est l'une des rares études qui ont évalué la technique Xpert VIH-1 VL comparé à la technique Roche TaqMan et d'Abbott m2000 RT dans la quantification de la charge virale au Mali. Le Xpert VIH-1 VL est une technique rapide et fiable dans la quantification de la charge virale plasmatique. Malgré ces résultats encourageant, les limites de cette étude pourraient être:

- Le nombre d'échantillons relativement faible pour mener des analyses approfondis ;
- Nous n'avons pas aussi tenu compte de la diversité génétique du VIH-1 chez les patients de l'étude. Des biais entre les dosages de la charge virale ont également été rapportés pour les charges virales plus élevées, en particulier pour les souches de sous-type non B du VIH (21, 26-29). Plusieurs études ont montré aussi des différences particulières dans la quantification des sous-types G et CRF02\_AG (21, 26, 30-32). Les différences de quantification entre les dosages de la charge virale du VIH-1 sont probablement dues aux mutations de l'amorce et des sites de liaison de la sonde ciblés par ces tests (21).



## **8. Conclusion-Recommandations**

### **8.1. Conclusion**

Les résultats de cette étude ont montré une bonne sensibilité et spécificité et une forte corrélation entre le Xpert HIV-1 VL et les deux techniques de référence (Roche TaqMan et Abbott m2000 RT) qui sont utilisées dans la plus des pays a ressources limitées pour la quantification de la charge virale du VIH-1. Le Xpert HIV-1 VL est un test moléculaire entièrement automatisé pouvant être utilisé par les agents de santé sur terrain.

En outre de ses excellentes performances, les principaux avantages du test de Xpert HIV-1 VL sont sa simplicité d'utilisation, sa rapidité d'obtention des résultats (une heure et demie), sa flexibilité, sa taille (instrument très réduit), sa maintenance réduite et son large éventail de tests différents disponibles pour sa plate-forme.

Les résultats de cette étude montrent que le Xpert HIV-1 VL peut être un outil important pour les cliniciens, les patients, les programmes de lutte contre le VIH, les décideurs dans les pays à revenu faible, afin d'intensifier l'ambitieux objectif de traitement de l'ONUSIDA 90-90-90 avec le diagnostic opportun des échecs du traitement antirétroviral ainsi que pour la gestion des patients vivant avec le VIH.

## **8.2. Recommandations**

Au terme de cette formation de Master en santé publique, nous formulons les recommandations suivantes:

### **Aux apprenants du Master de santé publique du DERSP**

- S'appliquer au cours de la formation du Master,
- Choisir des thèmes de recherche opérationnelle dont les résultats sont susceptibles d'avoir un impact en santé publique,
- Rédiger le protocole de recherche avant la période de stage de mise en œuvre,
- Commencer tôt l'exécution du protocole de recherche s'il s'agit d'une étude expérimentale et ou prospective.

### **Au DER de santé publique**

- Mettre en place une bibliothèque virtuelle au niveau du DER de santé publique,
- Mettre à la disposition des apprenants une connexion internet à haut débit.

### **Aux autorités sanitaires du Mali**

- Exposer les médecins aux notions élémentaires de santé avant leur installation sur le terrain,
- Appuyer financièrement et techniquement le DER de santé publique,
- Recruter tous les sortants du programme de Master en santé publique.

### **Au sponsor:**

- Appuyer financièrement et techniquement la continuité de cette étude.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. ONUSIDA. Dernières statistiques sur l'état de l'épidémie de sida: Journée mondiale de lutte contre le SIDA 2018. ONUSIDA 2018. Juillet 2018.
2. 2016 WHO. Consolidated guidelines on the use of antiretroviral drugs for treating and preventing HIV infection: recommendations for a public health approach – 2nd ed. World Health Organization
3. Dehée A. Les différentes techniques de quantification des genomes viraux. Revue Française des Laboratoires. mars 2003;No 351.
4. Gous N, Scott L, Berrie L, Stevens W. Options to Expand HIV Viral Load Testing in South Africa: Evaluation of the GeneXpert HIV-1 Viral Load Assay. PloS one. 2016;11(12):e0168244.
5. Kulkarni S, Jadhav S, Khopkar P, Sane S, Londhe R, Chimanpure V, et al. GeneXpert HIV-1 quant assay, a new tool for scale up of viral load monitoring in the success of ART programme in India. BMC infectious diseases. 2017;17(1):506.
6. Moyo S, Mohammed T, Wirth KE, Prague M, Bennett K, Holme MP, et al. Point-of-Care Cepheid Xpert HIV-1 Viral Load Test in Rural African Communities Is Feasible and Reliable. Journal of clinical microbiology. 2016;54(12):3050-5.
7. Sollis KA, Smit PW, Fiscus S, Ford N, Vitoria M, Essajee S, et al. Systematic review of the performance of HIV viral load technologies on plasma samples. PloS one. 2014;9(2):e85869.
8. Braun P, Delgado R, Drago M, Fanti D, Fleury H, Hofmann J, et al. A European Multicentre Study on the Comparison of HIV-1 Viral Loads Between VERIS HIV-1 Assay and Roche COBAS® TAQMAN® HIV-1 test, Abbott RealTime HIV-1 Assay, and Siemens VERSANT HIV-1 Assay. Journal of Clinical Virology. 2017;92:75-82.
9. Garrett NJ, Drain PK, Werner L, Samsunder N, Abdool Karim SS. Diagnostic Accuracy of the Point-of-Care Xpert HIV-1 Viral Load Assay in a South African HIV Clinic. Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999). 2016;72(2):e45-8.
10. UNAIDS. 90-90-90: An Ambitious treatment target to help end the AIDS epidemic. Available from: <http://www.unaids.org/en/resources/documents/2014/90-90-90>. 8 October 2014. consulté le 15 octobre 2018

11. Mancini J GJ, Giorgi R. Critères d'évaluation des performances et de l'utilité d'un test diagnostique. *Med Trop.* 2009;69(1):78-82.
12. Longo S, Bon I, Musumeci G, Bertoldi A, D'Urbano V, Calza L, et al. Comparison of the Aptima HIV-1 Quant Dx assay with the COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HIV-1 v2.0 Test for HIV-1 viral load quantification in plasma samples from HIV-1-infected patients. *Health Science Reports.* 2018;1(4):e31.
13. Habiyambere V, Dongmo Nguimfack B, Vojnov L, Ford N, Stover J, Hasek L, et al. Forecasting the global demand for HIV monitoring and diagnostic tests: A 2016-2021 analysis. *PloS one.* 2018;13(9):e0201341.
14. WHO. HIV/AIDS Diagnostics Technology Landscape. October 2015;5th edition([www.unitaid.eu](http://www.unitaid.eu)). consulté le 15 octobre 2018
15. Wang S, Xu F, Demirci U. Advances in developing HIV-1 viral load assays for resource-limited settings. *Biotechnology Advances.* 2010;28:770–81.
16. Jani IV, Peter T. How point-of-care testing could drive innovation in global health. *New Engl J Med.* 2013;368.
17. Mor O, Gozlan Y, Wax M, Mileguir F, Rakovsky A, Noy B, et al. Evaluation of the RealTime HIV-1, Xpert HIV-1, and Aptima HIV-1 Quant Dx Assays in Comparison to the NucliSens EasyQ HIV-1 v2.0 Assay for Quantification of HIV-1 Viral Load. *Journal of clinical microbiology.* 2015;53(11):3458-65.
18. Swathirajan CR, Vignesh R, Boobalan J, Solomon SS, Saravanan S, Balakrishnan P. Performance of point-of-care Xpert HIV-1 plasma viral load assay at a tertiary HIV care centre in Southern India. *Journal of medical microbiology.* 2017;66(10):1379-82.
19. Calmy A, Ford N, Hirschel B, Reynolds SJ, Lynen L, Goemaere E, et al. HIV viral load monitoring in resource-limited regions: optional or necessary? *Clin Infect Dis.* 2007;44.
20. Gueudin M, Baron A, Alessandri-Gradt E, Lemee V, Mourez T, Etienne M, et al. Performance Evaluation of the New HIV-1 Quantification Assay, Xpert HIV-1 Viral Load, on a Wide Panel of HIV-1 Variants. *Journal of acquired immune deficiency syndromes (1999).* 2016;72(5):521-6.
21. Avidor B, Matus N, Girshengorn S, Achsanov S, Gielman S, Zeldis I, et al. Comparison between Roche and Xpert in HIV-1 RNA quantitation: A high concordance between the two techniques except for a CRF02\_AG subtype variant with high viral load titers detected by Roche but undetected by Xpert. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology.* 2017;93:15-9.

22. Kulkarni S, Jadhav S, Khopkar P, Sane S, Londhe R, Chimanpure V, et al. GeneXpert HIV-1 quant assay, a new tool for scale up of viral load monitoring in the success of ART programme in India. *BMC infectious diseases*. 2017;17(1):1-9.
23. Jordan JA, Plantier JC, Templeton K, Wu AHB. Multi-site clinical evaluation of the Xpert® HIV-1 viral load assay. *Journal of Clinical Virology*. 2016;80:27-32.
24. Ceffa S, Luhanga R, Andreotti M, Brambilla D, Erba F, Jere H, et al. Comparison of the Cepheid GeneXpert and Abbott M2000 HIV-1 real time molecular assays for monitoring HIV-1 viral load and detecting HIV-1 infection. *Journal of Virological Methods*. 2016;229(Supplement C):35-9.
25. Nash M, Huddart S, Badar S, Baliga S, Saravu K, Pai M. Performance of the Xpert HIV-1 Viral Load Assay: a Systematic Review and Meta-analysis. *Journal of clinical microbiology*. 2018;56(4):e01673-17.
26. Church D, Gregson D, Lloyd T, Klein M, Beckthold B, Laupland K, et al. Comparison of the RealTime HIV-1, COBAS TaqMan 48 v1.0, Easy Q v1.2, and Versant v3.0 assays for determination of HIV-1 viral loads in a cohort of Canadian patients with diverse HIV subtype infections. *Journal of clinical microbiology*. 2011;49(1):118-24.
27. Hopkins M, Hau S, Tiernan C, Papadimitropoulos A, Chawla A, Beloukas A, et al. Comparative performance of the new Aptima HIV-1 Quant Dx assay with three commercial PCR-based HIV-1 RNA quantitation assays. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2015;69:56-62.
28. Margariti A, Chatzidimitriou D, Metallidis S, Pilalas D, Kourelis A, Papadimitriou E, et al. Comparing Abbott m2000 RealTime HIV test and Roche COBAS Ampliprep/COBAS Taqman HIV test, v2.0 in treated HIV-1 B and non-B subjects with low viraemia. *J Med Virol*. 2016;88(4):724-7.
29. Yan CS, Hanafi I, Kelleher AD, Carr AD, Amin J, McNally LP, et al. Lack of correlation between three commercial platforms for the evaluation of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) viral load at the clinically critical lower limit of quantification. *Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology*. 2010;49(4):249-53.
30. Amendola A, Marsella P, Bloisi M, Forbici F, Angeletti C, Capobianchi MR. Ability of Two Commercially Available Assays (Abbott RealTime HIV-1 and Roche Cobas AmpliPrep/Cobas TaqMan HIV-1 Version 2.0) To Quantify Low HIV-1 RNA Levels (1,000

Copies/Milliliter): Comparison with Clinical Samples and NIBSC Working Reagent for Nucleic Acid Testing Assays. *Journal of clinical microbiology*. 2014;52(6):2019.

31. Gomes P, Carvalho AP, Diogo I, Gonçalves F, Costa I, Cabanas J, et al. Comparison of the NucliSENS EasyQ HIV-1 v2.0 with Abbott m2000rt RealTime HIV-1 assay for plasma RNA quantitation in different HIV-1 subtypes. *Journal of virological methods*. 2013;193(1):18-22.

32. Tatarelli P, Taramasso L, Biagio AD, Sticchi L, Nigro N, Barresi R, et al. HIV-1 RNA quantification in CRF02\_AG HIV-1 infection: too easy to make mistakes. *New Microbiologica*. 2016;39,(2):150-2.

## ANNEXES



**Systeme complet de Xpert**



**Systeme de Abbott m2000 RT**





**Systeme Roche TaqMan**