

Ministère de l'Éducation

Université du Mali

Faculté de Médecine de

Pharmacie et d'OdontoStomatologie

République du Mali

Un peuple-Un but-Une foi

Thèse n°

Année 2001- 2002

*Préparation d'une évaluation de la séroprévalence du
VIH en population générale au Niger :
Quels prélèvements ? Pour quels tests ?*

THESE

Présentée et soutenue publiquement le *1^{er} Juillet 2002*. devant la Faculté de
Médecine de Pharmacie et d'OdontoStomatologie du Mali

Par : **Melle AMADOU HAMIDOU Amina**

Pour l'obtention du grade de DOCTEUR EN PHARMACIE

DIPLOME d'ÉTAT

Membres du Jury :

Président : Pr SIMAGA Sidi Yaya

Membre : Pr BOUGOUDOGO Flabou

Codirecteur : Dr OUKEM Odile

Directeur de thèse : Dr SACKO Massambou



DEDICACES

Je dédie ce travail :

A mon père, Amadou HAMIDOU,

Tu t'es toujours donné comme souci majeur de nous prodiguer une bonne éducation. Dans la dignité, tu as su nous transmettre le respect du prochain, la fierté et le sens de l'abnégation au travail. Tes conseils et tes sacrifices ne seront pas vains. Ce travail est le résultat de ton engagement à la réussite de tes enfants. Avec toute mon affection. Que Dieu te garde encore longtemps en bonne santé auprès de nous.

A ma mère Amsatou OUSMANE,

DIEU seul sait les liens qui existe entre une mère et sa fille, lien qu'aucun mot ne saurait fidèlement traduire. Ce travail est le tien en gage de mon profond amour. Qu'Allah le tout puissant te garde encore longtemps en bonne santé à nos côtés.

A ma tante Balkissa SEYDOU,

Reçois ici le témoignage de ma profonde admiration, tu m'as tout donné et tout appris. Que ce travail soit ta satisfaction ;

A mon oncle Herbert DEGBEY,

Vos conseils et encouragements ne m'ont jamais fait défaut. Trouvez ici l'expression de mon profond respect

A mes oncles et tantes paternels et maternels

Pour votre soutien constant

A mes frères et sœurs,

Ce modeste travail est le vôtre. C'est l'occasion de vous dire que je vous aime tous. Je vous invite à mieux faire que moi.



REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont :

Au peuple malien pour son hospitalité

Au Dr Jean Patrick LOUBOUTIN CROC, Directeur du CERMES qui à permis la réalisation de ce travail

Au Dr Amadou GARBA, pour les encouragements, l'assistance et la disponibilité dont vous avez fait preuve. Votre apport dans l'élaboration de cette thèse à été d'une qualité inestimable.

Au Dr François de CHABALIER, qui a initié ce travail

Au Lieutenant Colonel Kadri MOUKAILA, Directeur du PNLS/IST pour votre concours à la réalisation de ce travail.

A tout le personnel du CERMES plus particulièrement à : Fati, Mamane Sani, Aicha, Ali, Lamine, Benoît, Hamza, Issaka, merci pour votre aide si précieux.

Au Dr Laurent CLER, pour votre disponibilité et votre collaboration

Au personnel du CEDAV, pour votre collaboration à la réalisation de ce travail

A Madame BEN Amina, pour votre aide à l'accomplissement de ce travail

A la famille OUATTARA, pour l'assistance que vous avez toujours porté à mon endroit. Recevez mes sincères remerciements.

A la famille OUOLOGUEM, trouvez ici toute ma gratitude

A l'Union des Scolaires Nigériens au Mali, pour la lutte menée ensemble. Tous unis nous vaincrons

A l'Amicale des Etudiants Nigériens à la FMPOS, que ce travail soit un exemple pour vous

A mes promotionnaires, Que Dieu nous donne longue vie et plein de succès dans nos carrières professionnelles

A tous mes amis, je ne peux citer de nos noms au risque d'en oublier. Recevez ici toute ma sympathie

A ma sœur Dinkorma OUOLOGUEM, pour tous nos moments passés ensemble. C'est l'occasion de te dire merci.



*A NOS
MAITRES ET JUGES*

**A notre Maître et Président du jury,
Professeur Sidi Yaya SIMAGA**

Chef du DER de Santé Publique à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et
d'OdontoStomatologie
Chevalier de l'Ordre du Mérite de la Santé

Cher maître et père, c'est un grand honneur que vous nous faites en
acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations.
Recevez ici notre reconnaissance et notre plus grand respect

**A notre Maître et juge
Professeur Flabou BOUGOUDOGO**

Maître de Conférences Agréé en Bactériologie Virologie à la Faculté de
Médecine, de Pharmacie et d'OdontoStomatologie,
Chef de service de Bactériologie-Virologie à l'Institut National de
Recherche en Santé Publique

Cher Maître, votre simplicité et la clarté de vos cours de Bactériologie-
Virologie nous ont toujours émerveillés.
Votre abord facile et vos qualités humaines font de vous un exemple pour
les nouvelles génération.
Acceptez ici nos remerciements les plus sincères.

A notre Maître et Co-directeur

Dr Odile OUKEM,
PhD en Immunologie,
Responsable de l'unité d'immunologie du Centre de Recherches Médicales
et Sanitaires à Niamey au NIGER

Cher Maître, vous nous avez ouvert les portes de votre service. Vos
conseils et votre vivacité nous ont marqués
Trouvez ici l'expression de notre profonde reconnaissance et notre
respectueux attachement.

A notre Maître et Directeur de thèse

Dr Massambou SACKO

Md, PhD

Maître-Assistant en Santé Publique

Coordonnateur pédagogique du cours d'épidémiologie pour cadres supérieurs de la santé pour l'Afrique francophone

Coordonnateur du Programme National de Lutte contre le Paludisme

Cher Maître, malgré vos occupations vous avez accepté de diriger ce travail avec rigueur.

Votre enseignement et la valeur de vos connaissances ont toujours suscité notre admiration.

Avec nos remerciements, nous vous prions de trouver ici le témoignage de notre gratitude.

PLAN

I. INTRODUCTION

II. OBJECTIFS

III. GENERALITES

IV. METHODOLOGIE

V. RESULTATS

VI. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

VII. CONCLUSIONS

VIII. RECOMMANDATIONS

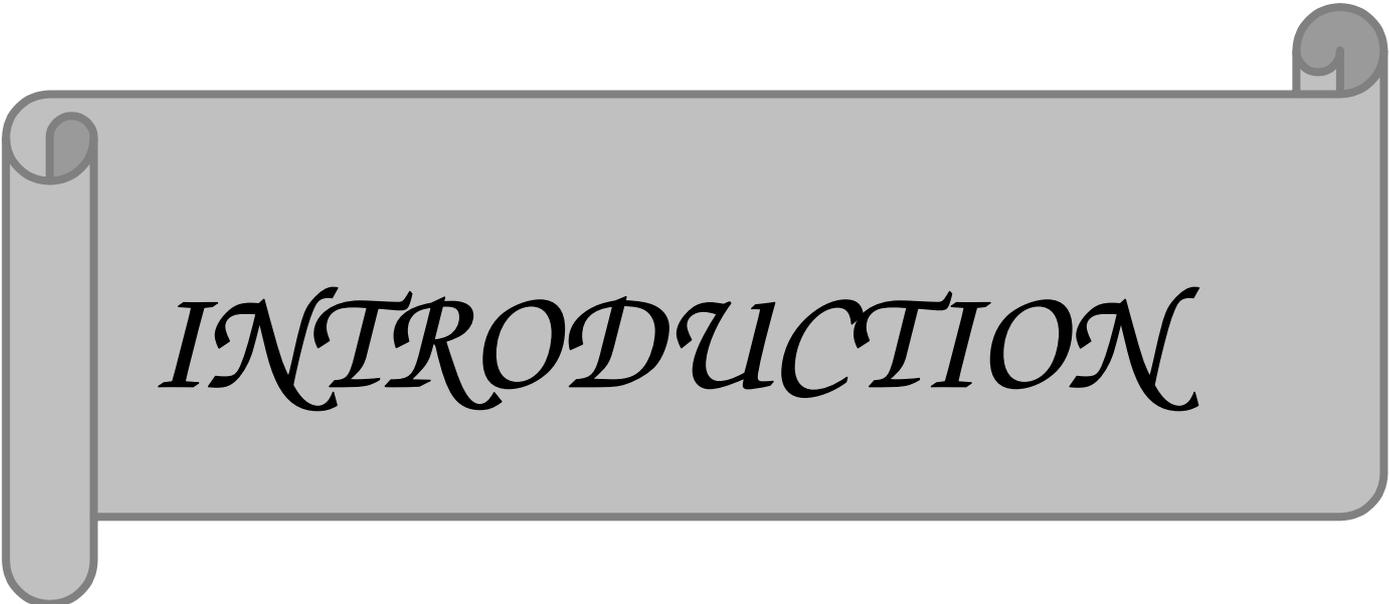
IX. BIBLIOGRAPHIE

X. FICHE SIGNALETIQUE

XI. ANNEXES

SIGLES ET ABREVIATIONS

AES:	Accidents d'Exposition au Sang
ARV:	Anti-retroviraux
CEDAV:	Centre de Dépistage Anonyme et Volontaire
CDC:	Centre for Diseases Control and prevention
CERMES :	Centre de Recherche Médicale et Sanitaire
DCI :	Dénomination commune internationale
DER :	Département d'Enseignement et de Recherche
DO :	Densité optique
ELISA:	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FN:	Faux négatif
FP:	Faux positif
HNL:	Hôpital National de Lamordé
HNN:	Hôpital National de Niamey
IST:	Infections Sexuellement Transmissible
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
PBS:	Phosphate Buffer Saline
PCR:	Polymerase Chain Reaction
P-NLS/IST:	Programme National de lutte contre le Sida et les Infections Sexuellement Transmissibles
RT :	Reverse Transcriptase
SIDA :	Syndrome de l'ImmunoDéficiency Acquis
TI :	Transcriptase inverse
TME :	Transmission Mère Enfant
VIH :	Virus de l'Immunodéfi cience Humaine
VN :	Vrai Négatif
VP :	Vrai Positif
VPN :	Valeur Prédictive Négative
VPP :	Valeur Prédictive Positive



INTRODUCTION

I. Introduction

La connaissance de la prévalence réelle du Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) en population générale a toujours été un problème pour les planificateurs de la santé. Les données existantes ont été recueillies par des voies indirectes à partir de la surveillance de groupes cibles à risque (prostituées, militaires, transporteurs) ou par la surveillance des femmes enceintes. Ces résultats sont ensuite extrapolés à la population générale. Les études ont montré que les données recueillies par ces voies sont loin de correspondre à la réalité dans la population générale (1,2). En effet, les populations à risque ont par définition un taux de prévalence supérieur à celui de la population générale. Par ailleurs, et pour prendre l'exemple des femmes enceintes, il faut savoir qu'en Afrique, seule une faible proportion de celles-ci a accès aux centres de consultations prénatales. De plus, il a été démontré que le VIH entraîne une hypofécondité (1). Elles ne peuvent donc pas représenter l'ensemble de ce groupe cible, et à fortiori la population générale. Enfin, il a été démontré que les femmes sont plus sensibles à l'infection au VIH que les hommes. (3)

Au Niger les données recueillies par les systèmes de surveillance par site sentinelle ne permettent pas d'avoir une visibilité de l'ampleur de la pandémie.

De tout ce qui précède, il ressort la nécessité de procéder à des enquêtes en population générale pour l'obtention de chiffres fiables sur la situation du VIH dans le pays.

Mais une telle enquête demande non seulement une logistique importante pour le transport et la conservation des échantillons, mais aussi l'utilisation d'un mode de prélèvement acceptable par la population de façon à minimiser le taux de refus, et techniquement fiable pour la recherche des anticorps anti- VIH. Elle demande également l'élaboration préalable d'un algorithme de dépistage approprié aux ressources du pays et à sa situation épidémiologique.

Or, la ponction veineuse n'est pas facilement acceptée, sans doute à cause de notre contexte culturel, au tabou lié à cette maladie et à la sollicitation de la population pour d'autres enquêtes sérologiques. Pour essayer de limiter les refus liés à cette ponction veineuse, il était nécessaire de rechercher pour la population un mode alternatif de prélèvement. Le prélèvement salivaire et le prélèvement capillaire ont été proposés pour les enquêtes de grande envergure car leur nature non invasive leur confère une meilleure acceptabilité de la part des individus sollicités.

C'est pour cela que nous avons jugé nécessaire d'évaluer au préalable les valeurs intrinsèques de ces tests effectués selon ces modes de prélèvement avant de choisir le plus adapté pour une enquête en population générale au Niger.



OBJECTIFS

II. OBJECTIFS

Objectif général

Evaluer la séroprévalence du VIH en population générale au Niger.

Objectifs spécifiques

1. Etudier les performances diagnostiques du test salivaire Wellcozyme GACELISA[®] HIV 1 + 2 et du test sanguin Genscreen[®] HIV 1/2 version 2 par rapport au test de confirmation Inno Lia HIV confirmation
2. Evaluer la faisabilité de l'utilisation du test salivaire pour l'étude de la prévalence du VIH en population générale au Niger.
3. Déterminer les valeurs intrinsèques des tests Genscreen, Vironostika, Immuno Coumb et Détermine utilisant le sang capillaire sur papier filtre par rapport aux mêmes tests utilisant le sérum
4. Déterminer un algorithme de dépistage pour l'enquête en population générale au Niger



GENERALITES

III. GENERALITES

1. Historique

Les premiers cas d'infection à VIH, diagnostiqués rétrospectivement, remontent au début des années 60, et l'épidémie actuelle s'est probablement développée à bas bruit durant les années 70.

Le premier isolat du virus responsable a été cultivé à partir d'un prélèvement datant de 1976 et des anticorps dirigés contre le VIH ont été retrouvés sur des sérums conservés depuis 1959 au Zaïre et au Royaume-Uni, mais l'histoire du SIDA débute en juin 1981.(4)

A cette date, les épidémiologistes du CDC, basés à Atlanta, aux Etats Unis, inquiets d'une demande anormalement élevée de pentamidine, médicament qu'ils sont les seuls à pouvoir délivrer, enquêtent et découvrent une épidémie de pneumopathie à *Pneumocystis carinii* chez des adultes antérieurement sains et n'ayant comme trait commun que l'homosexualité. Peu de temps après, la survenue d'autres manifestations d'immunodéficience et des sarcomes de Kaposi, ont été décrits dans la même population.

Un déficit de l'immunité cellulaire est mis en évidence chez ces patients et la maladie prend son nom définitif de SIDA (Syndrome de l'ImmunoDéficience Acquise).

L'affection est ensuite reconnue en Europe où d'autres groupes à risque ont été identifiés (transfusés et toxicomanes par voie veineuse).

Elle est par la suite, rapportée en Haïti et en Afrique centrale. Parallèlement, en 1983, un virus est identifié par les virologistes français, puis américains, virus qui prend ensuite le nom de Virus de l'Immunodéficience Humaine.

En 1986, un deuxième virus est cultivé à partir de patients originaires d'Afrique de l'Ouest, le VIH II.

2. Epidémiologie

2-1. Agent causal

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) est un virus qui appartient à la famille des *retroviridae*. Deux virus ont été mis en cause dans la survenue du SIDA : le VIH I et le VIH II.

Les VIH sont des virus enveloppés de 80 à 120 nm de diamètre, ayant une forme sphérique cernée par une enveloppe faite d'une bicouche lipidique à la surface de laquelle sortent des boutons. Cette enveloppe est limitée intérieurement par une membrane ou matrice protéique.

2.1.1. Structure

Le VIH I possède deux molécules d'ARN identiques ; associées à la transcriptase inverse (reverse transcriptase) dans un core cylindrique composé d'une protéine de 24Kda ou 25Kda de poids moléculaire selon les équipes : p24 ou p25. Une protéine de 18Kda (p18), la protéine de matrix, est située entre le core et l'enveloppe.

L'enveloppe, émanation de la membrane cytoplasmique cellulaire, porte des glycoprotéines(gp) virales très importantes ; la gp41 (41Kda) en position transmembranaire et la gp110 ou la gp120 à la surface du virus. Cette gp120 permettra la fixation du virus sur son récepteur cellulaire.(5)

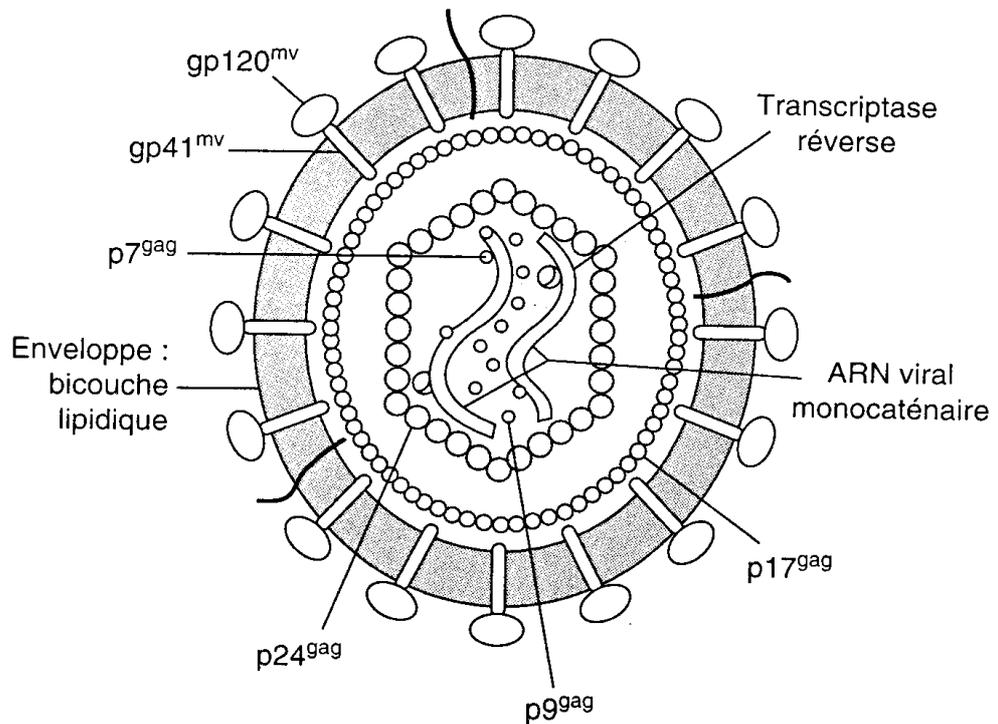


Figure 1 : structure du VIH 1

2.1.2. Organisation génétique

Le génome compte plus de 9700 nucléotides. Les gènes *gag* (pour groupe antigène) et les gènes *env* (pour enveloppe) codent pour les protéines structurales respectivement du noyau et de l'enveloppe, le gène *pol* (pour polymérase) code pour les enzymes virales.(4)

Les gènes *gag* synthétisent les protéines constitutives du noyau (p24, p17, p13, cette dernière étant clivée en p6 et p9)

Le gène *pol* code pour différentes enzymes virales qui sont : la protéase (p10) ; la transcriptase inverse ou reverse sous deux formes p64/p67 et p51/p53 ; l'endonucléase/intégrase (p34).

Le gène *env* code pour un précurseur de poids moléculaire 160 Kda (gp160) clivé dans le cytoplasme en deux glycoprotéines (gp) :

- d'enveloppe externe (gp110) correspondant aux boutons hérissant la surface du virus ;
- transmembranaire (gp41 pour le VIH I, de gp32 à gp41 pour le VIH II)

La plupart des autres gènes (gènes *tat*, *re*, *nef*, *vif*, *vpr*) se retrouvent à la fois chez VIH I et VIH II ; en revanche le gène *vpu* n'est présent que chez VIH I et le gène *vpx* que chez les VIH II et VIS (Virus de l'Immunodéficience Simiens).

Ces gènes sont des gènes de régulation.

Le gène *tat* (transactivateur) augmente l'expression des gènes viraux

Le gène *rev* exerce une fonction de régulation différentielle

- Le gène *nef* (negative regulatory factor) ou facteur de régulation négative serait responsable de la latence.
- Le gène *vif* (virion infectivity factor) ou facteur déterminant le pouvoir infectant du virus intervient dans la réplication virale. La protéine *vif* augmente l'infectivité des virus. Les virus sans gène *vif* sont perturbés au niveau des dernières étapes de l'infection et infectent moins de cellules.

2.1.3. La réplication virale (4,5)

La fixation et l'ancrage des virus sur les récepteurs cellulaires sont les premières étapes du cycle viral. Les structures de surface du VIH y jouent un rôle primordial et les deux glycoprotéines de l'enveloppe sont directement impliquées dans le mécanisme de fixation et de fusion.

Le récepteur de virus à la surface cellulaire est l'antigène CD4 auquel se lie la gp110. Ceci explique que la cible essentielle du VIH soit les lymphocytes portant l'antigène CD4 (lymphocyte CD4 + ou T4), mais le virus a la capacité d'infecter d'autres cellules (monocytes/macrophages, les cellules de Langerhans dans la peau...)

La glycoprotéine transmembranaire participe alors à la fusion entre l'enveloppe virale et la membrane cellulaire.

L'étape suivante est l'intégration génomique. Après que le noyau viral ait été introduit dans la cellule, il est décapsidé et l'ARN du virus est libéré dans le cytoplasme.

Le brin d'ARN est copié en ADN intermédiaire simple brin grâce à une polymérase. On obtient un hybride ARN-ADN. Une ribonucléase intervient alors pour détruire l'ARN d'origine et la polymérase produit alors un second brin d'ADN en utilisant le premier comme matrice. Polymérase et ribonucléase sont souvent désignés sous le nom de transcriptase inverse ou reverse.

L'ADN double brin migre vers le noyau et une troisième enzyme, l'intégrase ou endonucléase, intervient. Elle permet l'intégration de la copie ADN du génome viral dans le génome cellulaire sous forme de provirus, l'information virale se répliquant chaque fois que la cellule se divise.

Le provirus reste silencieux ou entre dans un cycle productif. Quel que soit le facteur déclenchant le cycle productif, il provoque l'activation virale (par le gène *tat*) et lève l'inhibition de la réplication (liée notamment au gène *nef*) ; l'ADN intégré est alors transcrit en ARN. Les copies de l'ARN du génome viral ainsi que les ARN messagers, migrent alors vers le cytoplasme où ces derniers sont traduits en protéines grâce aux ribosomes.

Les protéines et l'ARN viral sont assemblés pour donner des structures sphériques qui bourgeonnent à la surface de la cellule. En sortant de la cellule, le virus s'enveloppe, retrouvant les constituants de l'enveloppe qui ont été transportés et sont insérés au niveau de la membrane cellulaire indépendamment du noyau viral.

Après un bourgeonnement, les particules complètes sont libérées. Ces particules vont alors infecter à leur tour d'autres cellules cibles dans l'organisme, accélérant ainsi la dissémination virale.

2.1.4. La variabilité génétique (6)

L'analyse phylogénétique de nombreuses souches du VIH d'origines géographiques diverses a révélé trois grands groupes distincts de virus nommés M (pour major ou main), N (pour new ou non M, non O) et O (pour outlier, il ne représente que 50 % d'homologie avec les souches du M dans les séquences du gène de l'enveloppe). La grande majorité des souches responsables de la pandémie appartiennent au groupe M dans lequel l'analyse phylogénétique a permis d'identifier 11 sous-types (de A à K) et près de 20 % des isolats sont recombinants, avec des parties du génome appartenant à des sous-types différents.

Il est important de distinguer les sous types purs des virus recombinants. Pour être classé comme des sous types, les isolats doivent se ressembler entre eux et non à d'autres sous types sur le génome entier. Sur cette base il y aurait seulement neuf sous types au sein du groupe M, étant donné que les virus des prototypes E et I dans l'enveloppe sont des recombinants, avec des fractions importantes du génome appartenant à d'autres sous -types.

Au Niger, la majorité des souches appartiennent au groupe M et sont des virus recombinants (Circulating Recombinant Forms). Il s'agit du CRF02-AG (54,3 %) et CRF06-cpx (18,1 %) (7).

2-2. Modes de transmission

Le VIH a été isolé dans le sang, le sperme, les sécrétions cervico-vaginales, la salive, les larmes, les urines, le liquide amniotique, la moelle osseuse, le tissu cérébral, le liquide céphalo-rachidien et le lait maternel à des concentrations différentes.

La contamination se fait uniquement par :

- Voie sexuelle
- Voie sanguine

- Voie materno-fœtale et périnatale

2-2-1. Voie sexuelle

La transmission hétérosexuelle est la voie de transmission la plus répandue dans le monde. En Afrique subsaharienne, près de 90 % des cas de SIDA notifiés résultent d'une transmission hétérosexuelle. Une proportion croissante des cas signalés en Asie, en Amérique Latine et en Afrique du Nord / Moyen Orient est également imputable à cette forme de transmission (8)

Les rapports sexuels entre hommes constituent l'un des principaux moteurs de l'épidémie de VIH dans de nombreux pays nantis et dans certaines régions de l'Amérique (9). L'étude de la transmission sexuelle fait apparaître plusieurs facteurs favorables :

- Le multipartenariat sexuel
- Les relations sexuelles occasionnelles non protégées
- La pratique de relation sexuelle péno-anales non protégée
- Les relations sexuelles pendant les menstrues
- La présence d'une autre MST ou d'antécédent de MST
- La pauvreté

2-2-2. Voie sanguine

Elle constitue le second mode de transmission du VIH, les moyens sont :

- la transfusion du sang total et de dérivés sanguins infectés
- la toxicomanie intraveineuse,
- la réutilisation des aiguilles usagées non stérilisées
- la transmission dans les lieux de soin

La transmission de l'infection à VIH à travers les transfusions sanguines non dépistées constitue un sujet de préoccupation dans plusieurs pays d'Afrique subsaharienne. En 1995, plus de 2,5 millions de transfusions sanguines ont été administrées, la plupart à des femmes et à des enfants et environ ¼ d'entre elles n'ont pas fait l'objet de dépistage afin de détecter des anticorps anti-VIH (10)

Dans presque la totalité des pays extérieurs à l'Afrique, la toxicomanie intraveineuse constitue la voie d'entrée principale du VIH ; ainsi plus de la moitié de tous les cas de SIDA sont dus à la consommation des drogues injectables dans les pays tels que le Bahreïn, l'Espagne, la Géorgie, l'Italie, le Kazakhstan, le Portugal et la Yougoslavie et plus des 2/5 en Argentine et en République Islamique d'Iran (9)

Le risque de transmission professionnelle du VIH au cours des soins est moins important (0,3 à 0,7 %) que celui de l'hépatite C (3 %) ou B (6 à 30 %) et moins de 200 cas ont été établis dans le monde. (11).

2-2-3. Voie materno-fœtale et périnatale

Dans la plupart des cas, l'infection à VIH chez le jeune enfant est imputable à une transmission mère – enfant. Le risque de contamination d'un bébé par sa mère séropositive pour le VIH serait de l'ordre de 15 à 25 % dans un pays industrialisé et de 25 à 45 % dans un pays en développement. (12)

La transmission peut se produire durant la grossesse, le travail, l'accouchement ou après la naissance par le lait maternel.

La transmission mère–enfant contribue largement à aggraver la mortalité infantile dans des régions de l'Afrique subsaharienne. C'est ainsi qu'à Harare, capitale du Zimbabwe, par exemple, une femme enceinte sur trois est séropositive et que la mortalité infantile a doublé passant de 30 à 60 pour mille entre 1990 et 1996. (12)

Les facteurs d'aggravation du risque de TME sont notamment :

- le stade avancé de la maladie chez la mère
- une contamination récente de la mère
- une exposition intense du fœtus aux liquides organiques de la mère infectée pendant la gestation ou lors de l'accouchement.

2-2-4. Autres voies de transmission

Il s'agit des tatouages, des scarifications, des excisions, des circoncisions et des autres pratiques traditionnelles.

2.3. Les systèmes de surveillance du VIH/SIDA

Les systèmes de surveillance ont pour but de (1)

- Mieux comprendre les tendances de l'épidémie ;
- Mieux comprendre les comportements qui sous-tendent l'épidémie dans un pays ;
- Axer davantage la surveillance sur les sous populations à risque maximal d'infection ;
- Etablir une surveillance souple qui s'adapte aux besoins et au niveau épidémique ;
- Mieux utiliser les données de la surveillance pour améliorer la connaissance de l'épidémie et planifier la prévention et les soins.

2.3.1. La sérosurveillance sentinelle

Le but de la sérosurveillance sentinelle du VIH est de suivre les taux d'infection par la VIH dans les populations concernées au moyen d'établissements sentinelle.

Ces établissements sont généralement choisis du fait qu'ils fournissent un accès à des populations qui présentent un intérêt particulier dans le cadre de l'épidémie, ou qui sont représentatifs d'une population plus large.

En général, les établissements sentinelles prélèvent déjà du sang à d'autres fins. Les patients atteints de IST, les consommateurs de drogues et les femmes enceintes sont tous susceptibles de donner du sang à des fins diagnostiques.

Le sang donné dans les services de transfusion est également utilisé pour contrôler le taux d'infection chez les donneurs.

Lorsque le prélèvement de sang est réalisé à d'autres fins, le sérum restant peut être débarrassé de tous les marqueurs permettant une identification et soumis à un test VIH sans le consentement de la personne concernée. C'est ce que l'on appelle le test anonyme corrélé.

L'une des plus grandes difficultés rencontrée lorsqu'on suit la propagation du VIH est de déterminer dans quelle mesure la population testée est représentative d'une population plus vaste.

2.3.2. La sérosurveillance en population générale

Elle tente de contourner les biais de sélection associés aux sites de surveillance sentinelles en testant des échantillons prélevés sur des personnes choisies au hasard dans la population générale, après avoir obtenu leur consentement éclairé. L'échantillonnage de la population est en général basée sur les ménages. Les enquêtes sérologiques dans la population générale sont coûteuses, difficiles à réaliser et ne sont pas recommandées pour la sérosurveillance de routine.

2.3.3. La surveillance comportementale

Les enquêtes comportementales sur les comportements liés au VIH dans la population générale consistent à demander à des personnes composant un échantillon de la population quels sont leurs comportements sexuels et parfois, quels sont leurs comportements en matière d'usage de drogues injectables.

Les enquêtes dans la population générale sont l'outil le plus approprié pour suivre les modifications au cours du temps de l'exposition au risque d'infection par le VIH dans la population générale.

Elles sont utiles pour évaluer les taux de comportement à risque et les liens entre les populations ayant des comportements à faible risque et à haut risque. Ces enquêtes suivent aussi les modifications des comportements à la suite de campagne de prévention.

Les enquêtes comportementales sur des sous-populations exposées peuvent aussi jouer un rôle crucial dans la promotion ou l'arrêt de la propagation du VIH, notamment lorsque l'épidémie reste concentrée parmi celles dont le comportement entraîne un risque d'infection plus élevé.

Les enquêtes comportementales ne peuvent être réalisées sans le consentement éclairé des personnes interrogées.

2.3.4. La notification des cas d'infection à VIH et de SIDA

De nombreux pays ont élaboré des systèmes de notification des cas pour le SIDA. Dans les pays en développement, ces systèmes consistent généralement en une notification passive régulière des cas de SIDA et des décès dus au SIDA. La notification, des cas de SIDA repose sur une définition de cas qui peut ou non, exiger un test positif pour le VIH. Cette notification est loin d'être complète surtout quand le nombre de personnes infectées s'est multiplié.

Dans les pays industrialisés la notification des cas de SIDA devient problématique car le traitement anti-retroviral modifie désormais l'histoire naturelle de l'infection à VIH et du SIDA de façon imprévisible, ce qui rend les données des cas de SIDA beaucoup plus difficiles à interpréter. De plus en plus, les pays industrialisés s'intéressent de nouveau à la notification des cas de VIH. La notification des cas joue toutefois un rôle très important dans la sensibilisation au problème. Elle peut également contribuer à la validation des données produites par la surveillance sentinelle.

2.3.5. La surveillance des cas de SIDA pédiatriques

Dans les pays en développement où vivent les neuf-dixième des enfants positifs pour le VIH dans le monde, il n'existe pas de surveillance sentinelle pour le virus chez les enfants. Les taux d'infection à VIH chez les enfants sont toujours dérivés des taux enregistrés chez les mères.

2.3.6. La surveillance des cas d'IST

Les infections sexuellement transmissibles sont un indicateur important de l'exposition potentielle à l'infection à VIH, d'une part car il s'agit de cofacteurs d'infection et d'autre part car elles indiquent des rapports sexuels non protégés avec des partenaires non monogames. Des taux élevés d'IST peuvent servir de système d'alerte pour le VIH, même dans les populations où le VIH lui-même est encore rare.

2-4. Distribution des cas d'infection de VIH / SIDA dans le Monde

2-4-1. Situation mondiale

L'infection à VIH et le SIDA évoluent actuellement de manière épidémique voire pandémique. Elle touche toutes les couches de la société et tous les âges avec une prédominance chez les jeunes des deux sexes.

Selon les estimations de l'ONUSIDA (13) il y a dans le monde 40 millions d'adultes et d'enfants vivants avec le VIH/SIDA. On estime aussi que 5 millions de personnes dont 800 000 enfants de moins de 15 ans auraient été infectés par le VIH en 2001. Au 25 Novembre 2001, le nombre total de cas de SIDA officiellement notifiés à l'OMS était de 2 784 317.

De cette situation mondiale alarmante celle de l'Afrique Subsaharienne est particulièrement désastreuse. Pendant l'année 2001, le SIDA a tué 2,3 millions de personnes en Afrique Subsaharienne et on estime à 3,4 millions le nombre de nouveaux cas d'infections par le VIH, ce qui porte le nombre à 28,1 millions en Afrique Subsaharienne.

L'Afrique subsaharienne regroupe 68 % des 5 millions de personnes qui ont été infectées par le VIH en 2001 dans le monde, 70 % de ceux qui vivent avec le SIDA dans le monde (pour une région qui compte à peine 10 % de la population du globe) et 77 % des décès dus au SIDA.

Les 21 pays où le taux de prévalence est le plus élevé se trouvent en Afrique (14). Un quart des adultes sont infectés au Botswana et au Zimbabwe et plus de 10 % le sont dans au moins 10 autres pays africains

La probabilité qu'un enfant né aujourd'hui en Zambie ou au Zimbabwe meurt de SIDA dépasse 50 %. Dans beaucoup d'autres pays africains, la probabilité de mourir de SIDA à la naissance est supérieure à 30%. (14)

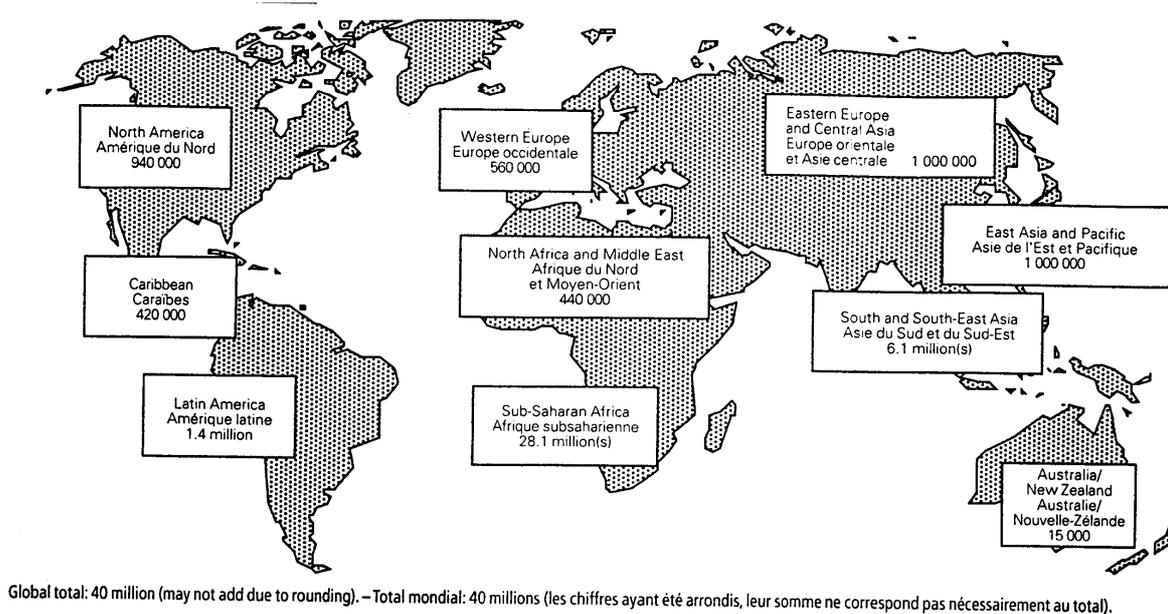


Figure 2 : Situation épidémiologique du VIH/SIDA dans le Monde

2-4-2. Situation au Niger

Le premier cas de SIDA a été notifié au Niger en 1987 à Arlit, région d'Agadez dans le nord du pays.

Treize ans après, 5598 cas de VIH /SIDA cumulés ont été notifiés. En 2000, 1014 nouveaux cas de VIH/SIDA ont été dépistés et confirmés, soit une augmentation de 8 % par rapport à l'année précédente.(15)

Les données sur les décès dus au VIH/ SIDA n'étant pas enregistrées au niveau de toutes les formations sanitaires, le total notifié au premier trimestre de l'an 2001 est de 95 cas. La majorité des décès de SIDA survient à domicile même pour les malades ayant eu la chance d'une hospitalisation.

Mais ces chiffres ne représentent que la partie visible de l'iceberg comme en témoigne une estimation du nombre des personnes vivant avec le VIH / SIDA au Niger faite en juin 2000 par l'O.M.S.

- Nombre estimatif d'adultes et d'enfants vivants avec le VIH/SIDA au Niger à la fin de l'année 1999
 - Adultes et enfants : 64 000

- Adultes (15-49 ans) : 61 000
- Femmes (15-49 ans) : 34 000
- Enfants (0-15 ans) : 3 300
- Nombre estimatifs de décès chez les adultes et les enfants dus au SIDA en 1999 : 6 500
- Nombre estimatif d'enfants âgés de moins de 15 ans qui ont perdu leur mère ou leurs parents depuis le début de l'épidémie : 31 000 (nombre cumulatif d'orphelins).

La surveillance épidémiologique se fait par le système de la surveillance sentinelle. Chez les femmes enceintes, le taux de séroprévalence passe de 1,1 % en 1992 à 2 % en 2001 à Niamey, de 1,4 % en 1992 à 5 % en 1999 à Tahoua et de 0,6 % en 1994 à 2 % en 2001 à Zinder.

Le taux de séroprévalence varie en fonction des groupes cibles et des localités. Toutefois il est plus élevé chez les prostituées où il atteint jusqu'à 27,90 % à Dirkou (département d'Agadez) en 1995. A Firdji (département de Maradi, village frontalier du Nigeria), le taux de séroprévalence chez les prostituées est de 35 % en 2000. Il est de 50 % à Komabangou (site aurifère dans le département de Tillabéry) en 2001.

Il y a une forte expansion de l'épidémie à VIH au Niger liée aux comportements à risque et à la grande vulnérabilité des jeunes, des populations migrantes, des enfants et des femmes.

La position géographique du Niger (7 pays voisins), l'extrême pauvreté de la population, les migrations externes et internes, les exploitations minières, l'opposition religieuse à certaines stratégies de prévention (préservatifs, éducation sexuelle des enfants), les dénis et tabous sexuels, le multipartenariat sexuel, les pratiques socioculturelles (excision, scarifications) sont les déterminants majeurs de la propagation du VIH au Niger. (16)

Situation épidémiologique des cas de SIDA au Niger de 1987 à 2000

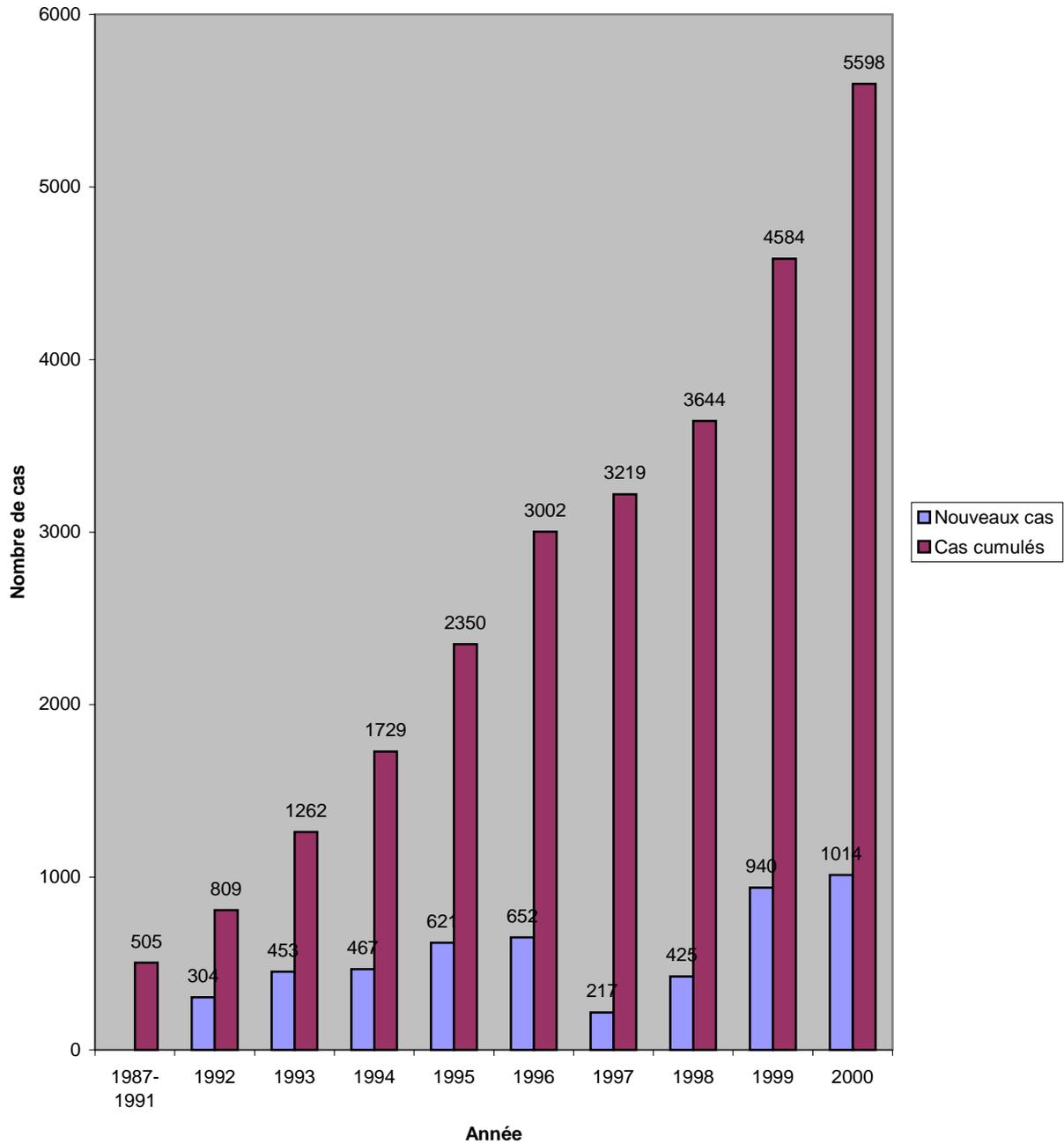


Figure 3 Situation épidémiologique du VIH/SIDA au Niger de 1987 à 2000 (source PNLS/IST)

3. Aspects cliniques

3-1. Définition O.M.S du cas de SIDA aux fins de surveillance (17)

Aux fins de surveillance quand les moyens de diagnostic sont limités, on considère qu'un adulte ou un adolescent (plus de 12 ans) est atteint de SIDA s'il présente au moins 2 des signes majeurs suivants accompagnés d'au moins 1 des signes mineurs dont la liste figure ci-dessous, et si ces signes ne peuvent être attribués à un trouble sans rapport avec l'infection à VIH.

Signes majeurs

- Perte de poids égale ou supérieure à 10 % du poids corporel,
- Diarrhée chronique depuis plus d'un mois,
- Etat fébrile depuis plus d'un mois (intermittent ou permanent).

Signes mineurs

- Toux persistante depuis plus d'un mois,
- Dermatite prurigineuse généralisée,
- Antécédents de zona,
- Candidose oropharyngée,
- Infection herpétique chronique progressive ou généralisée
- Adénopathie généralisée.

La présence d'un sarcome de Kaposi généralisé ou d'une méningite à cryptocoques est suffisante pour poser le diagnostic de SIDA aux fins de surveillance.

3-2. Définition clinique du SIDA pédiatrique selon O.M.S

Le SIDA est soupçonné si l'enfant présente au moins 2 des signes majeurs et 2 des signes mineurs dont la liste figure ci-dessous.

Signes majeurs

- Perte de poids ou retard de croissance pondérale ;
- Diarrhée persistante (plus d'un mois ;
- Fièvre prolongée (plus d'un mois).

Signes mineurs

- ❑ Adénopathies généralisées ;
- ❑ Candidoses oropharngées ;
- ❑ Infections banales récurrentes,
- ❑ Toux chronique (plus d'un mois) ;
- ❑ Dermatose généralisée ;
- ❑ Infection à VIH confirmée chez la mère.

3-3. Signes cliniques

La clinique du SIDA est très variable et est fonction des troubles liés aux infections opportunistes et des signes dus directement au VIH. On distingue quatre stades qui ne s'observent pas toujours en cas de contamination par le VIH :

- ❑ Un stade aigu
- ❑ Un stade asymptomatique souvent associé à une lymphadénopathie généralisée
- ❑ Le Para-SIDA
- ❑ Le SIDA maladie

3-3-1. Le stade aigu

Il commence par la pénétration du virus dans l'organisme et se termine par la séroconversion. Il est souvent marqué entre le 10^{ème} et le 30^{ème} jour après le contact avec le virus par une infection aiguë à type de syndrome pseudo- grippal avec fièvre, myalgie, arthralgie ou à type de mononucléose avec adénopathie.

Parfois il s'agit de manifestations neurologiques telles qu'une méningo-encéphalite à liquide clair, une mononévrite ou polynévrite.

3-3-2. Le stade asymptomatique

C'est la période de latence après l'infection par le VIH. Sa durée est variable, elle va de quelques années à plus de dix ans parfois. Elle ne comporte pas de manifestations cliniques.

Le diagnostic se fait sur la base des données diagnostiques (anémie, leucopénie, diminution des lymphocytes T4) qui ont une valeur d'orientation et de pronostic et surtout des données sérologiques.

3-3-3. Le Para- SIDA

Il est caractérisé par la présence d'adénopathie dont la taille dépasse un centimètre dans au moins deux aires ganglionnaires non contiguës et extra inguinales, persistant plus de deux mois sans étiologie retrouvée.

Il s'accompagne ou pas d'anomalies biologiques ayant une valeur pronostique.

3-3-4. Le SIDA

C'est la phase terminale de l'infection à VIH qui survient généralement entre la 3^{ème} et la 10^{ème} année après la contamination.

La période de latence peut dépasser 10 ans si une bonne hygiène de vie surtout sexuelle est observée.

La phase du SIDA est caractérisée par des infections dites opportunistes qui touchent tous les appareils de l'organisme donnant des manifestations multiformes.

Nous mentionnerons de façon non exhaustive, l'ensemble des signes fréquemment rencontrés. Ces signes s'associent de façon variable chez un sidéen et sont d'origine parasitaire, mycosique, virale, bactérienne ou tumorale.

Les signes généraux

- L'amaigrissement de plus de 10 % du poids corporel est le premier signe de la maladie. La perte rapide de poids traduit une évolution de la maladie.
- La fièvre au-delà de 38°C pendant 3 mois est rencontrée dans la moitié des cas. Les frissons et les sudations nocturnes peuvent s'associer. L'asthénie et l'anorexie sont inconstantes.

Les signes physiques

- Les manifestations digestives

Les manifestations digestives sont persistantes fréquemment rebelles au traitement ou récidivantes. Elles sont d'origine variable :

- La diarrhée persistante durant plus d'un mois. Elle est l'un des signes principaux et peut être d'origine bactérienne, virale, parasitaire ou mycosique. Elle est souvent associée à d'autres troubles digestifs : nausées, vomissements, météorisme et coliques. Chez les patients infectés par le VIH vivant dans les pays industrialisés, les diarrhées chroniques, dont la fréquence et la gravité sont très liées à l'importance du déficit immunitaire, ont vu leur incidence se réduire considérablement depuis l'avènement des thérapeutiques anti-retro virales.

Dans les pays à faibles moyens financiers, la prise en charge est difficile du fait des difficultés du diagnostic étiologiques et de l'absence ou de l'indisponibilité des traitements spécifiques. Chez les rares personnes bénéficiant d'anti-retro viraux, la diarrhée peut également en être un effet secondaire. (18). Dans 30 % des cas la cause de diarrhée n'est pas connue, la responsabilité du VIH lui-même est mis en cause.

- La colite : elle est souvent d'origine virale (*cytomégalo*virus) ou tumorale (sarcome de Kaposi)
- La dysphagie : les sujets infectés par le VIH se plaignent souvent de dysphagie. Un muguet buccal associé à des troubles de la déglutition est fortement évocateur d'une oesophagite provoquée par *Candida albicans*. Les infections à *Cytomégalo*virus et *Herpès* virus peuvent être aussi responsables de dysphagie.

□ Les manifestations cutanées

Les manifestations dermatologiques sont fréquentes au cours de l'infection par le VIH. Elles sont d'origine variée :

- Tumorale : sarcome de Kaposi, lymphome ou épithélioma

- Infectieuse : Zona, herpès, condylome acuminé, impétigo, furoncle, folliculite, pyomyosite, syphilis.
- Divers : dermatite papillaire prurigineuse, prurigo, décrêpage des cheveux, ichtyose, xérodermie, dermite séborrhéique.

Ces dermatoses sont caractérisées par leur chronicité, leurs récurrences fréquentes, la résistance aux traitements classiques et leurs localisations inhabituelles.

□ Les manifestations respiratoires

Ces manifestations sont d'origine bactérienne, parasitaire, virale et tumorale.

Nous citerons :

- Toux persistante durant plus d'un mois de causes variées : tuberculose pulmonaire, pneumocystose pulmonaire, pneumonie à *Cytomegalovirus*, mycobactéries atypiques.
- L'hémoptysie souvent d'origine tuberculeuse ou tumorale (maladie de Kaposi), l'épanchement pleural peut se voir au cours de la tuberculose ou être liée à la maladie de Kaposi.

□ Les manifestations neurologiques

Elles peuvent constituer les premiers symptômes de l'infection à VIH. Ces manifestations sont souvent d'origine parasitaire (toxoplasmose, cryptococcose) ou virale.

Il s'agit de céphalées, de crises convulsives, de névralgie trigémينية zostérienne, de troubles psychiatriques, de démence etc.

□ Les manifestations orales et faciales

Elles sont souvent des signes précoces de la maladie. Il est intéressant de les rechercher systématiquement en cas d'infection à VIH. Les principales manifestations orales et faciales de l'infection à VIH sont :

- Candidose buccale (muguet)
- Herpès

- Sarcome de Kaposi
- Leucoplasie chevelue de la langue
- Parodontite
- Gingivite
- Hypertrophie des glandes parotides
- Verrues
 - Les manifestations oculaires

Le zona ophtalmique avec ulcération de la cornée, la rétinite nécrosante à *cytomegalovirus* et la maladie de Kaposi touchant l'orbite sont les lésions souvent rencontrées.

- Les manifestations anogénitales

Elles sont fréquentes et sont dues aux MST. Les micro-organismes les plus souvent rencontrés sont *Hemophilus ducreyi*, *Herpes simplex virus*, le *Treponema palidum*. Ils sont responsables de larges ulcérations anogénitales.

- Les troubles hématologiques

L'anémie apparaît à un stade avancé du SIDA

La leucopénie et la lymphopénie sont fréquentes et précoces chez le sidéen.

- Autres lésions

Les lésions cardiaques : à type de myocardite toxoplasmique ou tumorale (maladie de Kaposi), de péricardite tuberculeuse, de myocardiopathies congestives

Les lésions rénales : à type de néphrite sidatique est un syndrome néphrétique avec ou sans insuffisance rénale

Les lésions hépatiques à type d'infections hépatiques non opportunistes ou tumorales

Les lésions splénoganglionnaires.

Inter-relation avec d'autres pathologies

VIH/SIDA et Tuberculose

Chaque année, plus de 8 millions de cas de tuberculose et près de 3 millions de morts dues à la tuberculose surviennent dans le monde. (19)

Le VIH a fortement contribué à la résurgence de la tuberculose. (19)

Actuellement à travers le monde, 4 millions de personnes sont porteuses à la fois de la tuberculose et du VIH. Et 70 % de ces personnes vivent en Afrique subsaharienne. (19)

L'infection à VIH est un grand facteur de risque (multiplié par 30) pour l'évolution d'une infection tuberculeuse latente en une tuberculose active.

Les personnes infectées par le VIH développent une tuberculose active rapidement après avoir été infectés par *Mycobacterium tuberculosis*.

De 1998 à 1999, les pays africains gravement touchés par l'épidémie du VIH ont signalé un accroissement de 20 % de l'incidence de la tuberculose. (19)

La tuberculose est une maladie qu'il est important de traiter dans les zones qui présentent des taux élevés d'infection à VIH car la tuberculose est curable.

Elle peut être le premier signe de l'infection du VIH car elle est une des premières infections opportunistes à apparaître chez les personnes infectées par le VIH.

La prise en charge de la tuberculose offre l'opportunité d'une intervention précoce contre le VIH. (20)

L'isoniazide, a pu empêcher 60 % des épisodes de tuberculose active chez les personnes infectées par le VIH et employé à titre préventif il a prolongé significativement la durée de vie pour les personnes infectées à la fois par le VIH et le bacille tuberculeux. (9).

La prophylaxie antituberculeuse est d'autant plus importante que, dans la moitié des cas environ, les personnes infectées par le VIH présentent une forme de tuberculose difficile à diagnostiquer et qui reste donc souvent sans traitement.

VIH/SIDA et Herpès génital

L'herpès génital, une infection virale incurable causée par l'*Herpès simplex virus* de type 2 (HSV-2) et dans laquelle les malades ont des ulcères génitaux à répétition pourrait jouer un rôle important la propagation du VIH.

Le HSV-2 et le VIH semblent former une sorte de cercle vicieux, chacun d'eux aggravant le risque de contracter et de transmettre l'autre. Il existe des médicaments qui suppriment les ulcères génitaux et l'excrétion virale accompagnant l'HSV-2, mais ils sont très coûteux et leur utilisation courante dans les pays pauvres est problématique. C'est pourquoi la seule option pratique consiste à prévenir l'HSV-2. Ainsi, la meilleure manière de réduire les risques d'infection à VIH et à HSV-2, qui augmentent de manière exponentielle, est d'intensifier les efforts consentis pour les éviter tous les deux, notamment en augmentant l'utilisation du préservatif.

4. VIH/SIDA et thérapeutique

La prise en charge de l'infection à VIH est une stratégie globale comprenant le traitement anti retroviral, le traitement prophylactique et curatif des infections opportunistes, la restauration de l'immunité et le soutien psycho social.

4-1. Le traitement anti retroviral (ARV) (21, 22, 23,24,25,26)

Le but du traitement est d'obtenir et de maintenir au niveau le plus bas et le plus longtemps possible la charge virale plasmatique.

4-1-1. Classification

Les agents anti retroviraux actuels pour le VIH/SIDA se répartissent en deux grandes classes de médicaments : les inhibiteurs de la transcriptase inverse et les inhibiteurs de la protéase ou antiprotéases. Les premiers se subdivisent en nucléosides et non-nucléosides. Une troisième classe, les inhibiteurs de l'intégrase, est en cours d'élaboration. (22)

Ces agents ont pour cibles des enzymes qui sont importantes pour la réplication de l'ARN et le fonctionnement viral. Une fois le VIH intégré dans l'ADN de l'hôte, le virus se multiplie rapidement, donnant naissance à plusieurs milliards

de nouveaux exemplaires par jour. Il s'ensuit inévitablement des mutations du génome viral et l'apparition de souches variantes.

Certaines des mutations peuvent conférer une résistance à un agent particulier ou à une classe entière d'ARV.

Tableau I : Classification des ARV

Classe	DCI	Nom de marque	Présentation
Inhibiteur nucléosidique	Abacavir ou ABC	Zingueur [®]	Cp 25 mg et sirop 20 mg/ml
	Didanosine ou ddl	Videx [®]	Cp 25 mg Cp 100 mg et sirop 2 g
	Zidovudine ou AZT	Retrovir [®]	Capsule 100 mg et 250 mg ; injection 10 mg/ml solution orale 50 mg/5 ml ; sirop 10 mg/5 ml ; cp 300 mg
	Lamivudine ou 3TC	Epivir [®]	Cp 150 mg et sirop 5 mg/ml
	Stavudine ou d4T	Zérit [®]	Capsule 40 mg et sirop 1 mg/ml
	Zalcitabine ou ddc	Hivid [®]	Cp 0,75 mg
Inhibiteur non nucléosidique	Néviparine ou NVP	Viramune [®]	Cp 200 mg ; solution orale 50 mg/ml
	Efavirenz ou EFV	Sustiva [®]	Capsule 200 mg
	Délavirdine ou DLV	Rescriptor [®]	
	Saquinavir ou SQV	Invirase [®]	Capsule 200 mg

Antiprotéase	Indinavir ou IDV	Crixivan [®]	Capsule 400 mg
	Ritonavir ou RTV	Norvir [®]	
	Nelfinavir ou NFV	Viracept [®]	Capsules de 250 mg
	Amprénavir ou APV	Agénérase [®]	
	Lopinavir/ritonavir		

4-1-2. Les indications (23)

La plupart des recommandations internationales suggèrent de débiter le traitement anti- retro viral dans les cas suivants :

- Tout patient ayant une infection à VIH symptomatique quel que soit le nombre de CD4 + et l'importance de la charge virale
- Tout patient ayant un nombre de CD4 + inférieure à 350/mm³
- Tout patient ayant une charge virale élevée (c'est à dire supérieure à 30000 copies/ml en reverse transcriptase polymerase chain reaction RT-PCR
- Personnes qui ont eu un accident d'exposition au sang (personnels soignants) ou à tout autre liquide biologique (rupture du préservatif, viol).
- Femmes séropositives afin de réduire la transmission mère-enfant

4-1-3. Accès aux anti- retro viraux et conditions de traitement

L'introduction des anti-retroviraux dans le traitement du VIH a fait du SIDA une maladie chronique pouvant être gérée. Elle permet une restauration de la productivité économique et du fonctionnement social. Mais ces effets ont été constatés uniquement dans les endroits où les ressources disponibles assuraient l'accessibilité des médicaments et où les capacités sanitaires permettaient d'optimiser leur utilisation de façon durable, efficace et dépourvue de risque.

(27)

Malgré les importantes réductions de prix récentes, tous les ARV restent coûteux. Ce coût élevé des médicaments anti-retroviraux et la nécessité de disposer d'un équipement de haut niveau pour suivre des malades et surveiller

les effets secondaires éventuels constituent des obstacles majeurs à la généralisation de l'accès pour l'immense majorité des personnes infectées par le VIH dans les pays en développement.

Le traitement le plus efficace pour interrompre la réplication du VIH est une association de trois ARV, dont un inhibiteur de la protéase (28)

Au plan clinique, on observe une incidence réduite des infections opportunistes, une diminution des hospitalisations et la capacité de reprendre les activités quotidiennes normales. Au laboratoire, on constate une baisse de la charge virale et une augmentation du nombre des cellules CD4.

Si les associations thérapeutiques permettent aux malades de mener une vie normale, elles exigent une observance rigoureuse de schémas thérapeutiques compliqués, un risque d'interaction entre les ARV et les autres médicaments couramment utilisés dans le traitement des maladies liées au SIDA.

4-1-4. Les effets secondaires des ARV

Pour la surveillance de ces effets secondaires, outre les évaluations cliniques régulières, l'accès aux examens de laboratoire (numération formule sanguine, test de la fonction hépatique...etc.) est essentiel.(25,29)

Tableau II : Effets secondaires et interaction médicamenteuses de quelques anti-retroviraux.

Médicament	Réactions indésirables	Interactions médicamenteuses
Delavirdine	Eruption cutanée, tests de la fonction hépatique anormaux	Rifampicine, rifabutine, didanosine, antiacides, antiépileptiques, antiprotéases
Didanosine	Pancréatite, neuropathie périphérique, nausées/vomissements, diarrhée	Fluoroquinolones, dapsone, isoniazide, itraconazole, kétoconazole, tétracycline
Indinavir	Hyperbilirubinémie, lithiase rénale	Rifabutine, rifampicine, cisapride, terféndine, astémizole, warfarine
Lamivudine	Nausées/vomissements, pancréatite	
Nelfinavir	Diarrhée	
Néviparine	Eruption cutanée, syndrome de Stevens-Johnson, tests de la fonction hépatique anormaux	Antiprotéases, rifabutine, rifampicine, indinavir
Ritonavir	Nausées/vomissements, diarrhée, hypertriglycémie, tests de la fonction hépatique anormaux, neuropathie périphérique, paresthésie péri-orale, céphalées	Alprazolam, clarithromycine, diazépam, érythromycine, kétoconazole, itraconazole, rifabutine, saquinavir, antidépresseurs tri-cycliques, contraceptifs oraux
Saquinavir	Troubles hépatiques graves, diarrhée, nausées, douleurs abdominales	Kétoconazole, rifampicine, phénytoïne, carbamazépine
Stavudine	Neuropathie périphérique, pancréatite, anémie, neutropénie, céphalées, nausées	
Zalcitabine	Neuropathie périphérique, pancréatite, stomatite,	Warfarine
Zidovudine	Anémie, neutropénie, céphalées, nausées	

4-1-5. Résistance aux ARV

La variabilité génétique est une caractéristique importante de tous les rétrovirus, et en particulier des VIH.

Compte tenu de cette variabilité et de la multiplicité des cycles de réplication chez une personne infectée par le VIH, la population virale existe sous forme de

quasi espèces, ou variants génétiquement distincts provenant du virus initial contaminateur.

La résistance du VIH I aux anti-retroviraux, antagonistes des enzymes virales que sont la transcriptase inverse et la protéase, est due à une série de mutations des gènes codant ces enzymes.

Ces mutations proviennent de la transcriptase inverse elle-même responsable de la réplication du génome du VIH, et de sa tendance à l'erreur.(22, 28, 30)

Les schémas thérapeutiques anti-retroviraux insuffisants qui permettent à la réplication du VIH de se poursuivre en présence des ARV favorisent le développement des populations de virus qui portent une mutation génétique, les protégeant contre ces médicaments. (23)

4-1-6. Surveillance du traitement anti- retroviral

Le critère virologique souhaitable est l'obtention d'une charge virale plasmatique inférieure à la limite de détection des méthodes les plus sensibles actuellement utilisées dans les 3 à 4 mois qui suivent le début du traitement et l'obtention d'une diminution minimale de 1,5 à 2 log de la charge virale initiale à la fin du premier mois de traitement. (Sécurité et efficacité des traitements ARV principes des thérapies anti retrovirales)

Cette surveillance permet d'évaluer l'observance, la tolérance et l'efficacité du traitement.

4-1-7.Choix du schéma thérapeutique (22)

L'efficacité des anti-retroviraux tient davantage à l'observance par le patient du schéma thérapeutique prescrit qu'à la nature de l'association utilisée.

Plusieurs schémas ayant une activité anti-virale acceptable sont possibles, en particulier lorsque le patient est traité pour la première fois. Ces schémas comportent 3 à 4 médicaments. A la base de la plupart de ces associations se trouvent en général deux inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse. Le choix de l'un ou de l'autre inhibiteur repose sur la commodité, sur les effets secondaires et sur la préférence du malade.

Les différents schémas thérapeutiques anti retroviraux actuellement disponibles sont :

- Les schémas thérapeutiques contenant un inhibiteur de la protéase. Les trithérapies utilisant un antiprotéase sont le schéma thérapeutique de première intention pour la mise en route du traitement anti retroviral. Les schémas contenant un inhibiteur de la protéase ont une activité démontrée et sont efficaces quelle que soit l'importance de la charge virale. Ils ont cependant de lourds inconvénients qui limitent leur acceptabilité :
 - la complexité du schéma qui rend l'observance difficile ;
 - la résistance croisée entre les différents inhibiteurs de la protéase qui risque de limiter le choix d'un autre traitement en cas d'échec initial ;
 - la toxicité des antiprotéases employés au long court.

On utilise de plus en plus deux inhibiteurs de la protéase à la place d'un inhibiteur de protéase, car ces associations ont des avantages pharmacocinétiques et pourraient augmenter l'activité antivirale, tout en étant susceptibles d'améliorer l'observance du traitement

- Schémas thérapeutiques sans inhibiteurs de protéase c'est à dire associant des inhibiteurs nucléosidiques et des inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse. Ils constituent une alternative valable aux associations contenant des antiprotéases en termes d'activité antivirale. Outre qu'ils présentent l'avantage de retarder l'introduction des antiprotéases, les schémas contenant des inhibiteurs non nucléosidiques pourraient permettre une diminution du nombre de comprimés à prendre et une amélioration de l'observance. Les inconvénients majeurs des inhibiteurs non nucléosidiques de la TI sont : d'une part la facilité et la rapidité avec laquelle la résistance vis à vis de chacun des médicaments de cette famille se développe s'ils sont utilisés dans le cadre d'une association qui n'est pas suffisamment puissante et d'autre part, la très

forte probabilité de survenue de résistance croisée ultérieure dans toute cette famille thérapeutique.

L'utilisation de trois inhibiteurs nucléosidiques pour épargner à la fois les antiprotéases et les inhibiteurs non nucléosidiques a été récemment proposée (abacavir + zidovudine + lamivudine). Cette association semble toutefois avoir une activité réduite lorsque la charge virale initiale est élevée. L'efficacité et la toxicité au long court des thérapies multinucléosidiques restent inconnues, et le risque de sélection de variants de VIH multinucléosides-résistants pose problème.

Le choix d'un schéma thérapeutique reste individualisé, et tient compte de la solidité des données existantes, de la tolérance à ce régime, de ces éventuels effets secondaires, des interactions médicamenteuses possibles, de sa commodité, de la probabilité d'observance et des autres options possibles en cas d'échec de l'association initiale. (28)

4-2. Le traitement des infections opportunistes

La prévention primaire ou secondaire des infections opportunistes au cours de l'infection à VIH reste fondamentale. Le choix d'une prophylaxie primaire doit obéir aux exigences suivantes : (31)

- permettre de prévenir une ou plusieurs infections opportunistes ;
- être peu toxique,
- réduire de façon significative la morbidité en allongeant la survie des patients ;
- obéir à un schéma thérapeutique simple permettant une bonne observance ;
- enfin, ne pas interférer avec les autres traitements en cours.

Tableau III : Prophylaxie des infections opportunistes chez le patient immunodéprimé (29,31)

Infections opportunistes	Signes cliniques	Prophylaxie primaire	Prophylaxie secondaire
Pneumocystose	Essoufflement à l'effort, toux sèche, fièvre	Cotrimoxazole 1 ^{er} choix. Alternative avec la pentamidine, Dapsone+ pyriméthamine + acide folinique	Cotrimoxazole 1 ^{er} choix. Alternative avec la pentamidine , Dapsone+ pyriméthamine + acide folinique
Toxoplasmose	Maux de tête violent, fièvre, troubles de la vision	Cotrimoxazole 1 ^{er} choix. Alternative :Dapsone + pyriméthamine + acide folinique	
Infection à cytomégalovirus	Fièvre, troubles visuels	Surveillance	Ganciclovir
Infection à Mycobactérium avium	Fièvre	Rifabutine , Clarithromycine, Azithromycine	2 ou 3 antimycobactériens
Cryptococcose	Fièvre, maux de tête	Non justifiée	Fluconazole
candidose	Brûlures buccales, difficultés à avaler	Non justifiée	Fluconazole

La tuberculose

Les indications de la chimioprophylaxie antituberculeuse au cours de l'infection par le VIH sont limitées aux patients infectés dont l'intradermo-réaction (IDR) est supérieure ou égale à 5 millimètres en l'absence de signe de tuberculose évolutive, et à ceux ayant eu un contact avec un sujet tuberculeux contagieux, quel que soit le nombre de lymphocytes T CD4. Les modalités de cette prophylaxie reposent sur l'administration d'isoniazide (INH) 5mg/kg/j pendant 12 mois.

La combinaison rifampicine + pyrazinamide délivrée pendant 2 mois a montré une efficacité comparable à celle de l'INH pendant 12 mois avec une meilleure observance (80 % versus 65 %) (31).

Traitement d'une infection par le VIH et d'une tuberculose simultanées

La rifampicine est une composante essentielle du traitement recommandé pour la tuberculose. Les antiprotéases, en augmentant les niveaux sériques des rifabutines (rifampicine et rifabutine) augmentent le risque de toxicité. Les rifampicines, par l'induction de cytochromes p450, accroissent le métabolisme des antiprotéases, réduisant ainsi les concentrations sériques, souvent jusqu' à des concentrations infra thérapeutiques. (28) Réciproquement les antiprotéases et les inhibiteurs non nucléosidiques de la TI peuvent aussi renforcer ou inhiber le système enzymatique de manière variable selon les individus, et risquent d'entraîner une modification du taux sanguin des dérivés de la rifampicine. Ces interactions entre médicaments peuvent se solder par l'inefficacité des ARV, l'inefficacité du traitement de la tuberculose ou un risque accru de toxicité médicamenteuse. Il a été proposé que, dans les situations où les ressources sont limitées, les patients ayant une tuberculose évolutive ne soient placés sous ARV qu'une fois la chimioprophylaxie de la tuberculose terminée.

La prophylaxie par le cotrimoxazole

Il constitue la molécule de référence en prophylaxie primaire et secondaire. Il est utilisé à des doses variant entre 480 mg/j (Bactrim[®] faible 1 comprimé par jour) et 960 mg/j (Bactrim[®] fort 1 comprimé par jour).

La prophylaxie par le cotrimoxazole a pour conséquence une réduction marquée du nombre d'infection en terme d'admission à l'hôpital. Cette prophylaxie doit faire partie de l'ensemble essentiel destiné à la prise en charge des personnes qui présentent déjà des symptômes de l'infection par le VIH en Afrique (9)

Le problème de cette prophylaxie est la survenue de résistance des différents germes bactériens et parasitaires aux antibiotiques. Le risque du cotrimoxazole d'induire une résistance croisée du sulfadoxine-pyriméthamine est un aspect

important à prendre en compte quand on sait que le sulfadoxine-pyriméthamine est l'un des traitements du paludisme les plus accessibles et abordables.(32)

4-3. La restauration de l'immunité

Le traitement habituel de l'infection par le VIH repose sur l'association d'analogues nucléosidiques avec ou sans inhibiteurs de la protéase du VIH. Ces traitements permettent de réduire la virémie plasmatique se traduisant par une amélioration de la qualité de vie et de la survie des patients.

Malgré ces résultats, le traitement anti rétroviral ne permet pas de rétablir un taux normal de lymphocytes T CD4.

Les objectifs théorique d'une thérapeutique immunologique peuvent être énoncés de la manière suivante : (33)

- Maintien et/ou stimulation d'une réponse immunitaire spécifique du VIH ;
- Restauration et/ou stimulation d'une réponse immunitaire non spécifique ;
- Induction d'une réponse immunitaire spécifique du VIH ;
- Restauration d'une réponse spécifique du VIH perdue durant l'infection.

L'IL2 joue un rôle central dans la régulation de l'immunité cellulaire et humorale. Elle stimule l'activation et la prolifération des cellules T (CD4, CD8).

4-4. Le soutien psycho social

Le soutien psycho social est un élément essentiel des soins. Il va du soin purement psychologique aux mesures sociales requises pour créer un milieu dans lequel les personnes atteintes peuvent faire face et s'épanouir, avec tout une série de mode de soutien intermédiaire.

Ce soutien est d'une importance capitale pour aider les individus, les couples, les familles et les amis affectés par le VIH/SIDA à faire face à leur maladie.

Un tel appui améliore la compréhension et l'acceptation du statut sérologique et facilite la révélation de ce statut aux proches ou aux partenaires sexuels.

4-5. La médecine traditionnelle et VIH

La médecine traditionnelle occupe une place importante dans la couverture des besoins sanitaires en Afrique. Plus de 80 % de la population de l'Afrique subsaharienne s'adressent aux guérisseurs traditionnels pour leurs problèmes de santé. (34)

Avec l'avènement du VIH/SIDA ces tradipraticiens ont un grand rôle dans la prise en charge des personnes infectées.

Des études dans plusieurs pays africains (35,36,37,) montrent que ces médicaments traditionnels peuvent avoir une incidence positive sur la prolifération des lymphocytes T4 d'où le renforcement du système immunitaire et la chute drastique de la virémie.

Il s'en suit aussi une nette amélioration des différentes affections opportunistes voire même leur guérison.

Ces résultats montrent que l'Afrique peut prendre une part active dans la recherche scientifique internationale, en utilisant son patrimoine culturel traditionnel.

4-6. La prophylaxie post exposition

Les accidents avec exposition au sang (AES) et les agressions sexuelles exposent au risque d'infection à VIH ; une chimioprophylaxie anti rétrovirale administrée précocement permet de réduire ce risque. (38)

Elle concerne toute personne exposée à un risque, dans un cadre professionnel ou, par blessure, pratique d'injections de drogue ou relations sexuelles.

En cas d'exposition particulièrement à risque, c'est à dire quand le volume de sang est important, la blessure profonde et quand le patient source a une charge virale élevée, la prophylaxie consiste en une trithérapie comportant zidovudine + lamivudine + indinavir. Lorsque l'accident est à moindre risque, une bi thérapie zidovudine + lamivudine est proposée. (39)

La rapidité de l'administration est très importante puisqu'il est recommandé de commencer le traitement 1 à 2 heures au plus tard après l'accident. La durée du traitement est de 4 semaines sans que l'on puisse la justifier.

Le risque d'AES est élevé chez les soignants d'Afrique de l'Ouest, où la charge liée aux soins chez des patients porteurs du VIH va croissante. Une formation ciblée d'abord sur les personnes les plus à risque et la mise à la disposition de matériels de prévention pourraient réduire ce risque. (40,41,42,43) Au Sénégal en cas d'AES l'Initiative Sénégalaise d'accès aux ARV (ISMARV) propose une trithérapie avec 2 inhibiteurs nucléosidiques de la transcriptase inverse et un inhibiteur de la protéase. Le traitement débute dans les 4 heures après l'accident et avant 48 heures. Il est poursuivi pendant un mois si la sérologie VIH est positive chez le patient source et arrêté aussitôt si elle est négative. (44)

5. Prévention

La lutte contre l'infection à VIH est désormais une des priorités de la santé publique à travers le monde. Devant une maladie incurable sans vaccin, la seule méthode pour éviter le VIH/SIDA reste la prévention.

5-1. La prévention de la transmission sexuelle

C'est la voie de transmission la plus répandue dans le monde en général. A ce niveau les campagnes de prévention destinées au grand public préconisent plusieurs options :

- l'abstinence sexuelle ;
- la fidélité mutuelle si les partenaires ne sont pas infectés au début de la relation ;
- l'utilisation systématique et correcte du préservatif lors de chaque rapport sexuel ;
- la prise en charge des IST ;
- le changement de comportement.

5-2. La prévention de la transmission sanguine

Les moyens sont connus en milieu de soin

- le port de gants ;
- l'utilisation de matériel à usage unique ;
- la stérilisation de matériel de soins réutilisables ;
- le stockage du matériel souillé dans des récipients hermétiquement fermés et incinérés.

Le respect de ces règles d'hygiène doit être observé à tout moment et pour tous les malades car les malades contaminés ne sont pas toujours connus.

La sécurité transfusionnelle est une nécessité dans la prévention du VIH/SIDA et elle passe par le dépistage systématique du VIH.

En milieu domestique et dans certaines professions (coiffeurs, tatoueurs, tradipraticiens) les règles d'hygiène élémentaires doivent être respectées.

En cas d'usage de drogue intraveineuse, l'utilisation systématique de matériel d'injection neuf avec seringue stérile pour chaque injection permet d'empêcher la propagation du virus.

Le traitement de la toxicomanie est une autre méthode de prévention de l'infection à VIH chez les consommateurs de drogues injectables. On peut par exemple aider les consommateurs à passer à des substances qui n'ont pas besoin d'être injectées. Le traitement à la méthadone, qui comporte l'administration de méthadone par voie orale en remplacement des injections d'héroïne, a été associé à une diminution des comportements à risque et à une baisse des taux d'infection à VIH. (9)

5-3. La prévention de la transmission mère – enfant (TME)

Pendant de nombreuses années, les connaissances sur la transmission de la mère à l'enfant étaient insuffisantes pour permettre de prendre les mesures susceptibles d'aider les mères séropositives au VIH à donner naissance à des bébés non infectés. Sans aucune intervention le tiers environ des mères séropositives au VIH transmettent le virus à leur nouveau né. Vers la fin des années 1990, on a découvert que près de la moitié de ces infections se produisaient au cours de l'allaitement.(9)

Deux stratégies peuvent être adoptées pour réduire la TME :

La prévention primaire de la transmission du virus de mère à enfant consistant à prendre des mesures pour protéger les femmes en âge de procréer d'une infection à VIH

L'utilisation de médicaments anti-retroviraux et de méthodes alternatives d'alimentation des nourrissons constitue cependant un processus complexe.

Jusqu'en 1998, une seule forme de traitement avait fait preuve de son efficacité dans la réduction du risque de TME. Une étude connue sous le code ACTG076 a démontré que la Zidovudine (ZDV également connue sous le sigle d'AZT) administrée par voie orale à partir du 4^{ème} mois de grossesse, par intraveineuse pendant le travail puis pendant 6 semaines au nourrisson non nourri au sein réduit de deux tiers le risque de TME. (12)

Une étude réalisée en Thaïlande a montré que la ZDV administrée oralement 2 fois par jour en cure de courte de la 36^{ème} semaine de gestation à l'accouchement est bien tolérée, sans danger et diminue le risque de TME du VIH d'environ la moitié. (45).

A la fin de l'année 1999 un essai en Ouganda a montré qu'une seule dose de Névirapine administrée par voie orale à une femme séropositive pendant le travail suivie d'une dose administrée à l'enfant dans les trois jours suivant la naissance a une efficacité comparable à un bref traitement à l'AZT. (46)

En ce qui concerne la TME pendant l'allaitement maternel, des actions de conseil pour les femmes séropositives doivent être mis en place concernant les possibilités d'alimentation des nourrissons, en mettant des aliments de remplacement à leur disposition si nécessaire et en les aidant quelque soit le mode d'alimentation choisi.

Les autres interventions susceptibles de prévenir la TME actuellement à l'étude sont : (12)

- Apport complémentaire de vitamine A. Une carence en vitamine A peut accroître le risque de TME ;

- Aseptisation de la filière d'expulsion pendant le travail et l'accouchement : le risque de transmission du VIH pendant l'accouchement est relativement élevé du fait de la présence du virus dans le sang et les mucoosités de la filière d'expulsion ;
- Accouchement par césarienne comme la douche vaginale réduit l'exposition de l'enfant au sang de la mère pendant l'accouchement et s'avère réduire le risque d'infection par VIH du nouveau né,
- Les autres adaptations de l'obstétrique peuvent contribuer à réduire le contact entre le nouveau né et les liquides organiques infectées de la mère. Il peut s'agir par exemple d'éviter les épisiotomies, la rupture artificielle de membrane.

5-4. La prévention des infections sexuellement transmissibles

Les liens importants existants entre le VIH et les autres IST sont de deux ordres : lien comportemental et lien biologique.

Les rapports sexuels non protégés exposent un individu au VIH comme aux autres IST classiques. L'utilisation systématique du préservatif peut protéger des deux types d'infections.

Ainsi le diagnostic et le traitement précoce des IST guérissables par exemple la syphilis et le chancre mou permettent de réduire le nombre de nouvelles infections à VIH

5-5. La recherche vaccinale

Le meilleur espoir à long terme pour la lutte contre la pandémie du VIH/SIDA serait de disposer d'un vaccin préventif sans danger, efficace et abordable, mais le développement d'un tel vaccin s'est heurté à des difficultés techniques et biologiques sans précédent. Les principales raisons techniques sont l'impossibilité d'utiliser les formules classiques de vaccins (vaccins vivants car trop dangereux, vaccins tués car trop difficiles à produire et apparemment peu efficace), l'absence d'un modèle animal qui permet d'étudier l'infection à VIH I et la pathologie qu'il provoque sur le même animal, et le fait que, n'ayant aucun

modèle de protection spontanée, le critère recherché chez les vaccinés n'est pas connu. Mais ce sont surtout les obstacles biologiques qui sont redoutables : l'extrême variabilité du virus, son extraordinaire résistance à la neutralisation par les anticorps grâce à des propriétés d'enveloppe, son aptitude à échapper par divers moyens à l'immunité cellulaire et même sa capacité globale à déprimer les réponses immunitaires, ou au moins à les retarder, en font un agent exceptionnel, sélectionné par l'évolution pour échapper à toute défense. (47)

Le premier essai de phase I d'un vaccin anti-VIH a été réalisé en 1987. Par la suite, plus de 30 candidats vaccins ont été testés au cours de plus de 60 essais de phase I/II sur environ 10000 volontaires sains. La plupart des essais ont été réalisés aux Etats-Unis d'Amérique et en Europe, mais plusieurs ont également eu lieu dans les pays en développement. Les premiers essais de phase III ont débuté aux Etats-Unis d'Amérique en 1998 et en Thaïlande en 1999 afin d'évaluer l'efficacité de la première génération de vaccin anti-VIH dirigé contre la protéine d'enveloppe gp120. (47) Les résultats ne sont pas encore connus.

6. Le diagnostic biologique

La plupart des personnes qui dans le monde vivent aujourd'hui avec le VIH ne savent pas qu'elles sont porteuses du virus. Il y a plusieurs raisons à cet état de fait, notamment l'ignorance, le manque de services appropriés de conseil et de test et la stigmatisation associée au SIDA, encore trop répandue qui peut entraîner le rejet et même la violence à l'encontre des personnes dont on sait qu'elles sont séropositives au VIH.

Si redoutables que soient les obstacles au dépistage du VIH, il est important de s'y attaquer, il y a de grands avantages, sur le plan de la prévention comme de la prise en charge à connaître son statut sérologique.

En 1992, l'OMS a publié pour la première fois des recommandations concernant le choix et l'utilisation d'épreuve de recherche des anticorps anti-VIH. Depuis la gamme de ces épreuves s'est étendue. Le choix d'une stratégie de dépistage, du

test ou de la combinaison des tests les plus appropriés repose sur trois critères :
(48)

- L'objectif du test
- La sensibilité et la spécificité du ou des tests utilisés
- La prévalence de l'infection à VIH dans la population testée

6-1. Objectifs du test

La recherche des anticorps anti-VIH sert essentiellement 3 objectifs :

- La sécurité des transfusions et des transplantations. Le contrôle du sang et des produits sanguins ainsi que les dons d'organes, de tissus, de sperme et d'ovules
- La surveillance : Le dépistage anonyme et non corrélé sur le sérum dans un but de surveillance de la prévalence et des tendances de l'infection à VIH au cours du temps, dans une population donnée
- Le diagnostic de l'infection à VIH : Le contrôle librement consenti du sérum de personnes asymptomatiques ou de personnes présentant des signes cliniques ou des symptômes évocateurs de l'infection à VIH ou du SIDA.

6-2. Sensibilité et spécificité des tests

La sensibilité et la spécificité sont deux éléments de première importance qui permettent de déterminer dans quelle mesure un test peut faire la distinction entre personnes infectées et personnes non infectées.

Un test dont la sensibilité est élevée donne peu de résultats faussement négatifs. Aussi seuls les tests ayant la sensibilité la plus élevée seront utilisés lorsqu'il est nécessaire de réduire au minimum le taux de résultats faussement négatifs par exemple le cas des transfusions / transplantations.

Un test qui a une spécificité élevée donne peu de résultats faussement positifs et ce genre de test sera utilisé lorsqu'il est nécessaire de diminuer le taux de

résultats faussement positifs. Il s'agit par exemple du cas du diagnostic de l'infection à VIH chez une personne donnée.

S'il est vrai que l'on privilégiera soit la sensibilité, soit la spécificité en fonction de l'objectif du dépistage, les tests doivent toutefois répondre aux normes minimales (sensibilité > 99 % et spécificité > 95 % respectivement).

6-3. Prévalence de l'infection à VIH

La probabilité qu'un test rende compte exactement de la situation d'un sujet vis à vis de l'infection varie avec la prévalence de l'infection à VIH dans la population dont le sujet est issu.

En règle générale, plus la prévalence de l'infection à VIH est élevée dans une population, plus grande est la probabilité que la personne donnée soit positive par le test soit réellement contaminée (la valeur prédictive positive est alors élevée).

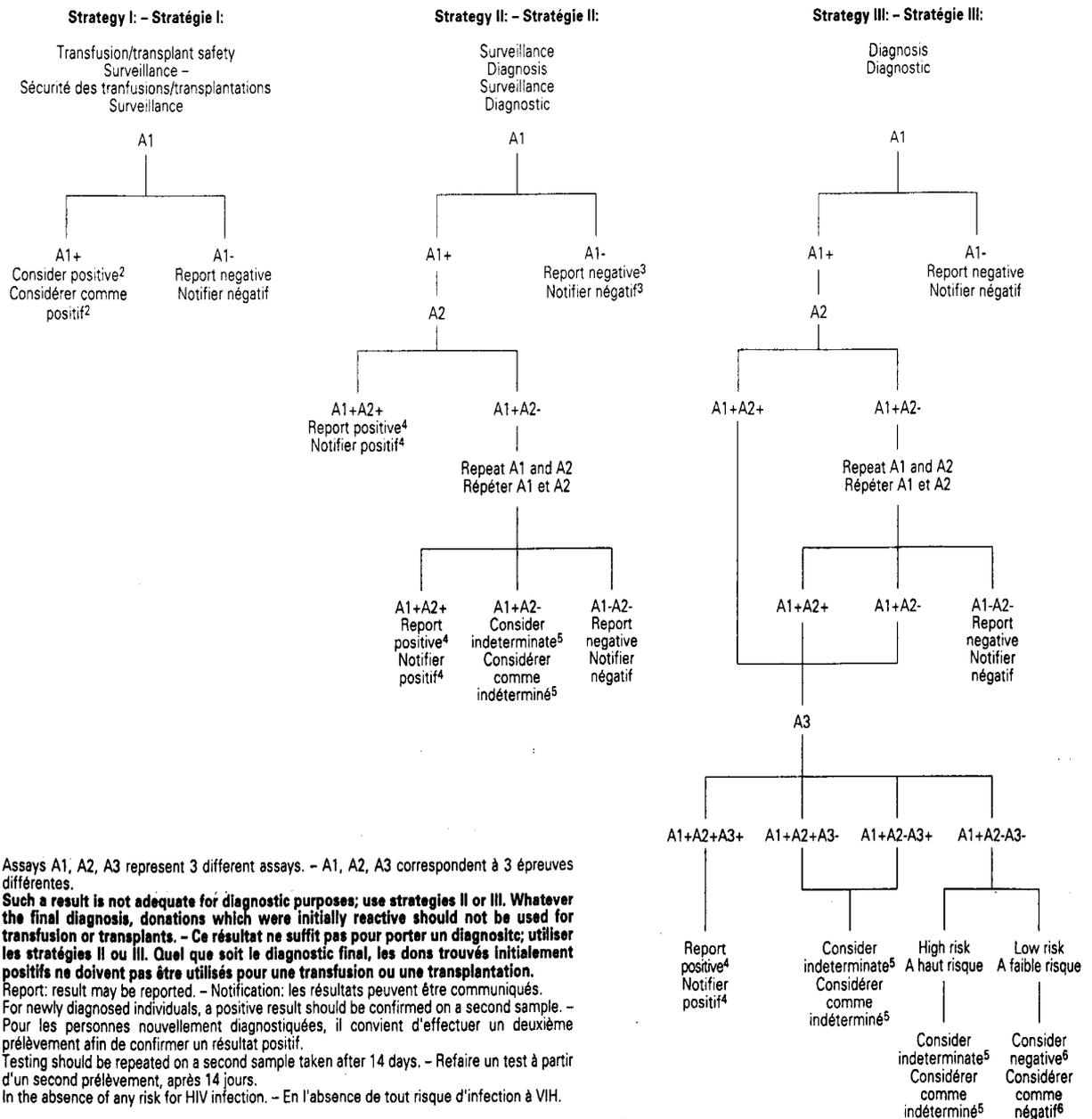
Quand la prévalence augmente, la proportion de résultats faussement positifs parmi les échantillons de sérums testés diminue, réciproquement la probabilité qu'une personne dont le test est négatif ne soit pas réellement contaminée (la valeur prédictive négative) diminue quand la prévalence augmente.

Par conséquent quand la prévalence augmente la proportion d'échantillons donnant un résultat faussement négatif augmente aussi.

6-4. Stratégies pour la recherche des anticorps anti- VIH

L'ONUSIDA et l'OMS recommandent 3 stratégies de dépistage afin d'obtenir une exactitude maximale pour un coût minimal. Le choix de la stratégie la plus appropriée dépend de l'objectif du dépistage et de la prévalence du VIH dans la population.

Tableau IV: Représentation schématique des stratégies ONUSIDA et OMS pour le dépistage du VIH



6-5. Les différents tests de dépistage (49)

Le titrage avec un immunoabsorbant lié à une enzyme (ELISA) reste l'épreuve la plus largement employée, mais il existe de nombreux tests simples et rapides qui offrent un certain nombre d'avantages dans certaines situations. Le problème aujourd'hui est de déterminer le test qui convient à une situation donnée compte

tenue de sa faisabilité lorsque les installations sont limitées tout en garantissant la fiabilité des résultats.

Plusieurs types de prélèvements et de liquides biologiques peuvent être utilisés pour la mise en évidence des anticorps anti-VIH

6.5.1. Les différents types de prélèvements utilisés pour le dépistage

Plusieurs types de prélèvements peuvent être utilisés pour le diagnostic

biologique du VIH : sérum, plasma, sang total, salive et urine. Le choix du prélèvement dépend :

- Des moyens logistiques
- Des populations et des sites sélectionnés, et
- Les stratégies de dépistage utilisées.

Les échantillons doivent être collectés, stockés et testés dans les conditions appropriées afin de garantir l'exactitude des résultats.

a. Analyse de sang

Le sérum ou plasma

Le sérum et le plasma sont les produits acceptables pour la plupart des méthodes de dépistage du VIH. Le sérum et le plasma présentent les avantages suivants :

- Meilleure concentration en anticorps ;
- Peuvent être utilisés pour plusieurs tests de routines ;
- Peuvent être utilisés pour des études spéciales (génotypage, étude de la résistance...).

Le sang total sur papier filtre

Le prélèvement et la manipulation des échantillons sanguins dans des laboratoires isolés ou dans des conditions insuffisantes posent souvent des difficultés. On se trouve peut être dans l'impossibilité de séparer le sérum ou de réfrigérer les échantillons pendant leur entreposage ou leur transport.

Une technique a été mise au point pour le prélèvement de sang entier, qui se prête particulièrement aux enquêtes sérologiques de vaste envergure ainsi qu'aux échantillons pédiatriques. Le sang est obtenue par piqûre au bout du

doigt et il est absorbé sur un morceau de papier-filtre spécialement conçu et standardisé. Plusieurs modèles sont utilisés pour le recueil du sang en vue d'examen sérologique :

- Munktell IF[®]
- Glassfibre[®] paper
- Munktell[®] 1600
- Schleicher and Schüell[®]
- Sérobuvard LDA^{22®}
- Whatman[®] 4

Le sang sèche complètement, et on peut transporter l'échantillon au laboratoire ou l'entreposer jusqu'à trois mois à température ambiante sans que l'on puisse discerner une baisse notable d'anticorps.

Dans les pays de forte humidité, on peut utiliser un dessiccant pour améliorer la conservation. On peut réfrigérer ou congeler les échantillons sur papier-filtre en veillant à ne pas les exposer à une humidité trop forte.

Pour les tests d'anticorps, on découpe une pastille de papier de diamètre prescrit, que l'on place dans un éluant ou un diluant. Les tests se font conformément au protocole du laboratoire fournisseur.

b. Analyse d'urine et de salive

Au cours de ces dernières années des méthodes ont été mises au point concernant des liquides biologiques autre que le sang en vue de détecter des anticorps anti-VIH. La salive et l'urine ont été retenus puisqu'il est plus facile d'en obtenir des échantillons sans faire de ponction. Ces genres de prélèvements ont une meilleure acceptabilité au sein de la population mais la sensibilité et la spécificité de ces tests sont moins bonnes que ceux basés sur le sang. (50).

6-5-2. Les tests ELISA (49)

On dispose d'une variété d'épreuve ELISA, mais la plupart de celles qui servent à la détection des anticorps anti-VIH sont classés en 3 catégories : indirecte, par compétition et par capture d'antigène.

La plupart de ces méthodes emploient un antigène VIH fixé en phase solide (sur un support) ainsi qu'un conjugué et un substrat. Les supports solides sont fournis par le fabricant qui y fixe d'avance l'antigène viral (lysate viral, peptide recombinant ou synthétique). Si un anticorps anti-VIH est présent dans l'échantillon, cet anticorps se fixera à l'antigène sur la phase solide. Après rinçage pour éliminer les éléments non liés du sérum, on ajoutera un conjugué et on placera le tout dans un incubateur. Le conjugué se liera à l'anticorps de l'échantillon (s'il est présent), l'excédent étant éliminé par un nouveau rinçage. L'addition d'un substrat induira une réaction colorée si le conjugué s'est lié à l'anticorps de l'échantillon qui est fixé à l'antigène sur la phase solide. La réaction colorée observée par spectrophotomètre doit être détectée à une longueur d'onde particulière de la lumière à laquelle la couleur absorbe la lumière incidente. On obtient alors un signal converti habituellement par l'instrument en unités de densité optique.

Les tests ELISA sont destinés au titrage par lot (c'est à dire au dépistage de 96 à une centaine d'échantillons par jour), ce qui les rend utilisables pour la surveillance et les services de transfusions sanguines centralisés.

Les tests ELISA demandent un matériel sophistiqué et leur technique est difficile à réaliser. On doit disposer de pipettes, étuves, laveurs et lecteurs automatique et d'une alimentation électrique constante.(51)

Les conditions requises pour appliquer des tests ELISA ne sont pas toujours réunies partout dans le monde et il est nécessaire de mettre au point des tests de recherche du VIH utilisables dans les laboratoires disposant d'installation limitée et même dans les zones dépourvues de laboratoire.

a. Les ELISA indirects

Dans l'ELISA indirect, le sérum du patient est ajouté à la phase solide contenant l'antigène et le tout est incubé pendant une période et une température spécifiques. Les ELISA indirects produisent d'autant plus de réaction colorée

que la concentration (inconnue) d'anticorps est grande. Inversement, en présence de peu d'anticorps, de plus faibles quantités de conjugué vont se lier, donnant lieu à moins de substrat clivé, et donc à une coloration moindre et à une moindre densité optique. Chaque élément doit être ajouté séparément, et un rinçage doit précéder l'addition du conjugué et du substrat. Ces rinçages sont destinés à éliminer les éléments non liés.

b. Les ELISA par compétition

Les ELISA par compétition sont différents dans la mesure où l'anticorps anti-VIH de l'échantillon entre en compétition avec le conjugué (qui est un anticorps dirigé aussi contre l'antigène du VIH) pour occuper les sites réactifs sur l'antigène lié. C'est pourquoi, dans les ELISA par compétition, on ajoute en même temps à la phase solide l'échantillon contenant l'anticorps anti-VIH et le conjugué. Si la concentration en anticorps de l'échantillon est élevée, très peu de conjugué pourra se lier à l'antigène immobilisé, puisque les deux rivalisent pour les sites existants sur l'antigène.

La coloration sera faible puisqu'il n'y aura guère d'enzyme liée pour cliver le substrat. Inversement en présence d'un échantillon qui ne contient guère d'anticorps anti-VIH, voire pas du tout, davantage de conjugué se fixera sur l'antigène fixé à la phase solide, et l'addition ultérieure de substrat induira une réaction encore plus colorée. Ainsi la quantité inconnue d'anticorps présents dans l'échantillon sera inversement proportionnelle à l'intensité de la coloration produite.

c. Les ELISA de capture d'antigènes

Les ELISA de capture d'antigènes peuvent être du genre indirect ou compétitif, et ne diffèrent que par l'étape initiale de fixation de l'antigène au support solide. Un anticorps monoclonal (anticorps très spécifique dirigé vers un déterminant antigénique) est fixé au support afin de capturer l'antigène spécifique du VIH. Cette procédure a tendance à réduire la quantité de substances contaminantes

liées à la phase solide et, ainsi, à atténuer la fixation non spécifique. On considère ces épreuves comme ayant une spécificité supérieure à celle des épreuves indirectes, qui emploient des lysats viraux entiers.

6-5-3. Les tests simples et rapides

Les progrès de la technologie ont conduit à mettre au point toute une série de tests simples/rapides basés sur les principes suivants : test d'agglutination, immunodot sur membrane.

a. Epreuves d'agglutination

Les épreuves d'agglutination peuvent comporter une variété de porteurs enduits d'antigène. Ces porteurs sont des particules qui servent à porter ou à soutenir l'antigène.

Les antigènes du VIH (lysate viral ou composant spécifique) sont adsorbés sur le porteur, et ces réactifs enduits d'antigènes arrivent prêts à l'emploi.

Un réseau en treillis se forme entre les particules enduites d'antigènes et l'anticorps à mesure que l'anticorps de l'échantillon réagit dans la préparation. Cette réaction provoque le groupement en masses compactes (agglutination) de particules.

En présence d'une concentration excessive d'anticorps dans l'échantillon il apparaît un phénomène de zone qui est une inhibition de l'agglutination empêchant ainsi la combinaison voulue (du réseau en treillis). En d'autres termes les concentrations d'antigènes et d'anticorps ne sont pas optimales en vue de groupements en masse.

Ceci peut donner lieu à une réaction faussement négative (pas d'agglutination) alors qu'il existe de fortes concentrations. Pour pallier ce problème une dilution de l'échantillon sera nécessaire.

Ces épreuves sont d'une réalisation facile et n'exigent pas de rinçage. Il est parfois difficile d'observer les réseaux d'agglutination s'ils sont faibles. C'est pourquoi il faut les analyser très soigneusement, généralement à la lumière d'une lampe de haute intensité.

b. Les épreuves dot blot

Les épreuves dot blot utilisent une membrane en papier ou de la nitrocellulose comme support solide. La raison en est que l'antigène est passivement absorbé par le support et, généralement, qu'il prend la forme d'un petit cercle. Il s'agit le plus souvent d'un peptide recombinant ou synthétique. Une pièce en plastique soutient en général le support solide et contient des tampons hydrophiles sous le papier pour recueillir le sérum et les réactifs après addition.

Les épreuves dot blot sont d'exécutions faciles, mais elles coûtent chère

La plupart de ces tests simples / rapides sont présentés sous forme d'épreuves qui n'exigent aucun autre réactif ni matériel.

Ce sont des techniques très faciles à appliquer et qui comportent peu d'étapes et ne demandent pas une grande précision.

Les tests rapides réduisent le délai d'attente, les tâches administratives pour l'envoi des échantillons au laboratoire ainsi que le déplacement pour les personnes qui subissent le dépistage.

Cependant, ces nécessaires rapides pour tester le VIH ne vont pas sans poser certains problèmes. En premier lieu le test sur place à résultat instantané ne permet pas de protéger aussi bien la confidentialité que le test en laboratoire.

Ensuite, il se peut que les personnes se sentent dans l'obligation d'un test proposé sur place, sans en avoir à en peser toutes les conséquences. Il paraît préférable qu'une information sur les tests rapides soit donnée avant le test.

Les tests rapides/simples sont surtout recommandés dans les centres de conseils et de dépistage volontaire pour permettre à un maximum de personnes de connaître leur statut sérologique si on sait que dans ces centres un certain nombre de personnes (pouvant atteindre 50 %) ne reviennent pas chercher leur résultat pour toutes sortes de raisons : peur d'être rejetées parce qu'elles doutent

du secret médical, absence d'espoir ou tout simplement problèmes de logistique.(52)

Ils sont aussi recommandées dans les salles d'urgence, dans les banques de sang et les salles d'autopsie. Cependant quand on doit analyser un grand nombre d'échantillons, leur avantage en tant que test rapide est perdu.

6-5-4. Les épreuves de confirmation de l'infection à VIH

Bien que les épreuves de dépistage pour le VIH permettent de détecter de façon adéquate les infections par ce virus, leur spécificité laisse généralement à désirer, c'est à dire qu'elles produisent un certain nombre de résultats faussement positifs, on se doit de vérifier les résultats des épreuves afin de confirmer l'infection.

Les épreuves de confirmation (ou épreuves complémentaires) sont vivement recommandées lorsqu'on se trouve en présence d'échantillons qui se révèlent réactifs aux anticorps du VIH dans plusieurs épreuves sérologiques successives. Dans certaines situations, les épreuves de confirmation consistent à analyser de nouveau l'échantillon réactif au moyen d'une deuxième épreuve. Le principe de la seconde épreuve doit différer de celui de la première.

L'objectif, en vue de déterminer la meilleure combinaison d'épreuves, consiste à pouvoir détecter tous les faux positifs.

Le Western blot, l'épreuve par immunofluorescence indirecte (ImmunoFluorescenceAssay IFA), et l'épreuve par radio-immunoprécipitation (Radio Immuno Precipitation Assay RIPA) sont des méthodes d'une spécificité extrême et, si elles sont appliquées et interprétées correctement, elles ne devraient livrer aucun faux résultat.

Elles sont cependant plus laborieuses et plus coûteuses que les épreuves de dépistage.

a. Western blot (WB)

Le WB est l'épreuve la plus largement acceptée des épreuves de confirmation pour le VIH. C'est une méthode très spécifique qui est considérée comme

“l'étalon or” pour la validation des résultats des épreuves de dépistage. Le WB est cependant très coûteux et son exécution exige beaucoup de travail en laboratoire et il ne peut pas se prêter efficacement au dépistage. Le WB est aussi l'épreuve la plus difficile à interpréter.

En principe les WB comportent trois étapes :

- La séparation des lysats d'antigènes viraux par la technique de l'électrophorèse en gel de polyacrylamide au dodecyl-sulfate de sodium
- Le transfert (imprégnation) des antigènes séparés sur la nitrocellulose ; et
- L'essai de l'échantillon de sérum inconnu directement sur cette membrane imprégnée grâce à une technique semblable à celle de l'ELISA (réaction enzyme-substrat).

La plupart des épreuves WB actuellement en usage pour le VIH sont fournies par des firmes commerciales sous forme de trousse et seule la troisième étape se fait au laboratoire.

b. IFA

Il s'agit d'une épreuve peu coûteuse, d'exécution facile, et qui demande moins de temps que les WB. Ses principaux désavantages sont qu'elle exige un microscope fluorescent fort coûteux, ainsi qu'un personnel de laboratoire bien formé, capable de faire la lecture et l'interprétation des résultats.

c. RIPA

L'épreuve RIPA peut être employée en conjonction avec le WB ou s'y substituer pour la confirmation de la séropositivité au VIH. Il s'agit essentiellement d'une technique de recherche exigeant l'emploi de substances radioactives qui n'est guère utilisée dans les laboratoires cliniques. Elle est d'une sensibilité extrême. En outre, la réaction antigène-anticorps se fait dans des conditions non réductrices, ce qui lui confère aussi une excellente spécificité.

d. Les cultures virales

Isoler le VIH dans le sang constitue le test absolu de confirmation de l'infection. Cette méthode exige toute fois du temps, elle est coûteuse, et elle pourrait même être dangereuse.

La technique d'isolement du VIH ne doit être réalisée que par des personnes qui possèdent une solide expérience en virologie ; ce n'est pas une technique diagnostique standard réalisable dans un laboratoire ordinaire.

L'isolement du VIH se fait de la manière suivante :

La coculture de lymphocytes de l'échantillon contenant le virus avec des lymphocytes de donneurs en présence de mitogène et d'interleukine 2, qui stimulent et font proliférer les cellules CD4.

Le surnageant de culture cellulaire est ensuite observés, en vue de la détection de la présence de transcriptase et/ou d'antigènes VIH à partir du 7^{ème} jour (bien que l'expression virale maximale se produise dans les 12 à 21 jours qui suivent l'inoculation)

La présence de transcriptase inverse ou d'antigène VIH confirme le diagnostic ; un résultat négatif ne peut toute fois écarter l'infection avec certitude. Les cultures doivent être conservées et observées pendant quatre semaines environ avant que l'on puisse déclarer avec assurance qu'un résultat est négatif.

e. La détection des acides nucléiques viraux

Les deux techniques les plus couramment utilisées pour la détection des acides nucléiques viraux sont l'hybridation in situ et la polymérisation en chaîne.

Hybridation in situ

On observe la présence d'acides nucléiques viraux dans les lymphocytes infectés de VIH grâce à une technique appelée hybridation in situ.

Cette technique de recherche tire partie de la parfaite spécificité existant entre les brins complémentaires d'acide nucléique. On emploiera généralement de l'ARN du VIH radiomarqué, ou marqué par une enzyme, pour sonder les cellules mononuclées à la recherche d'ADN du VIH

Vu le faible nombre de séquences d'ADN proviral par cellule, cette technique manque de sensibilité lorsqu'il s'agit de détecter des cellules mononucléaires périphériques.

C'est pourquoi l'hybridation in situ n'est pas encore assez sensible pour servir d'épreuve diagnostique de routine.

La Polymerase Chain Reaction ou PCR

C'est la deuxième technique qui peut être utilisée pour déceler l'acide nucléique viral après amplification de l'ARN ou de l'ADN viral cible : c'est la Polymerase Chain Reaction ou PCR.

Cette technique est extrêmement sensible du fait qu'une copie unique de l'ADN proviral peut être amplifiée et ensuite détectée par sonde. Elle est capable de révéler l'infection avant même les épreuves de détection d'antigènes et parfois avant les analyses de cultures virales.

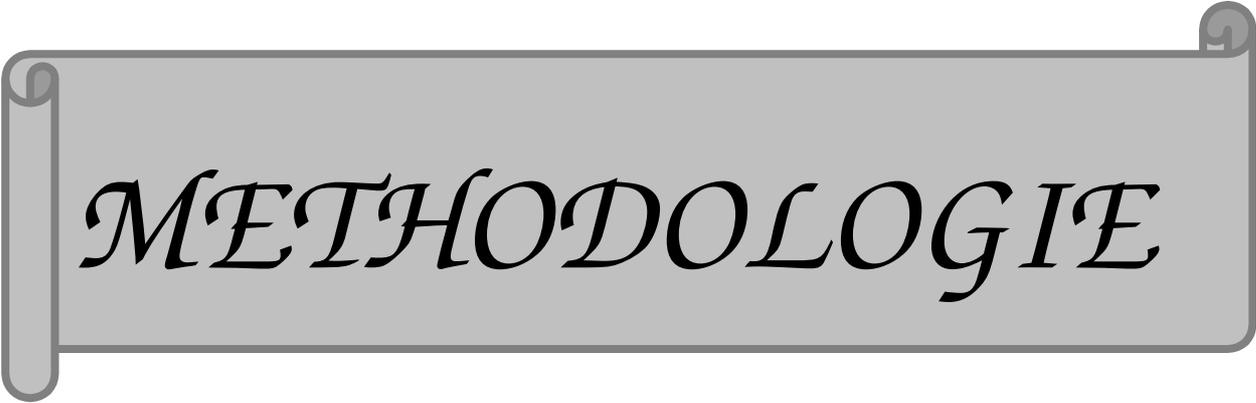
La PCR est utile pour les cas suivants :

- Le diagnostic précoce de l'infection par VIH,
- Le suivi thérapeutique antiviral,
- Le diagnostic de l'infection par VIH chez le nouveau né, et
- La distinction entre les infections par VIH-1 et VIH-2

La PCR quantitative a la capacité de déterminer la concentration virale, ce qui peut donner une indication pour le pronostic.

Compliquée, la PCR exige une parfaite maîtrise des techniques de laboratoire et doit être exécutée avec le plus grand soin. La plus petite particule contaminante peut être suramplifiée, donnant lieu à un faux résultat.

La PCR n'est donc pas indiquée pour les laboratoires de routine, mais elle constitue un important outil pour la recherche.



METHODOLOGIE

IV METHODOLOGIE

A-Cadre de l'étude :

Centre de recherche médicale et sanitaire de Niamey au Niger

1. Présentation du Niger

1-1. Situation géographique

Le Niger est un pays Sahélien de l'Afrique de l'Ouest situé en zone tropicale sèche avec une superficie de 1267000 km² et une densité brute de 5,7 habitants / km². Il est limité au Nord par l'Algérie et la Libye, à l'Ouest par le Mali et le Burkina Faso, à l'Est par le Tchad et au Sud par le Nigeria et le Bénin. (Figure4)

Le Niger est un pays enclavé. Le port le plus proche de sa capitale Niamey est celui de Cotonou situé à 1.035 km. Son principal cours d'eau permanent est le fleuve Niger qui lui a donné son nom. Le fleuve Niger traverse le pays dans sa partie occidentale sur une longueur de 550 km.

Le pays présente du Nord au Sud une configuration géo-climatique caractérisée par la prédominance des trois zones climatiques suivantes :

La zone saharienne, immense, qui recouvre tout le pays n'offrant de possibilités agraires que sur des sites restreintes (oasis) ;

La zone sahélienne, zone pastorale par excellence qui permet de pratiquer des cultures pendant 3 à 4 mois par an ;

La zone soudanienne à pluviométrie plus abondante est une zone à vocation agricole.

Dans son ensemble, le climat est caractérisé par une température moyenne très élevée (37°C). On distingue une saison des pluies brève de Juin à Septembre et une saison sèche longue d'Octobre à Mai avec alternance de froid de Novembre à Février et de chaleur de Mars à Mai.

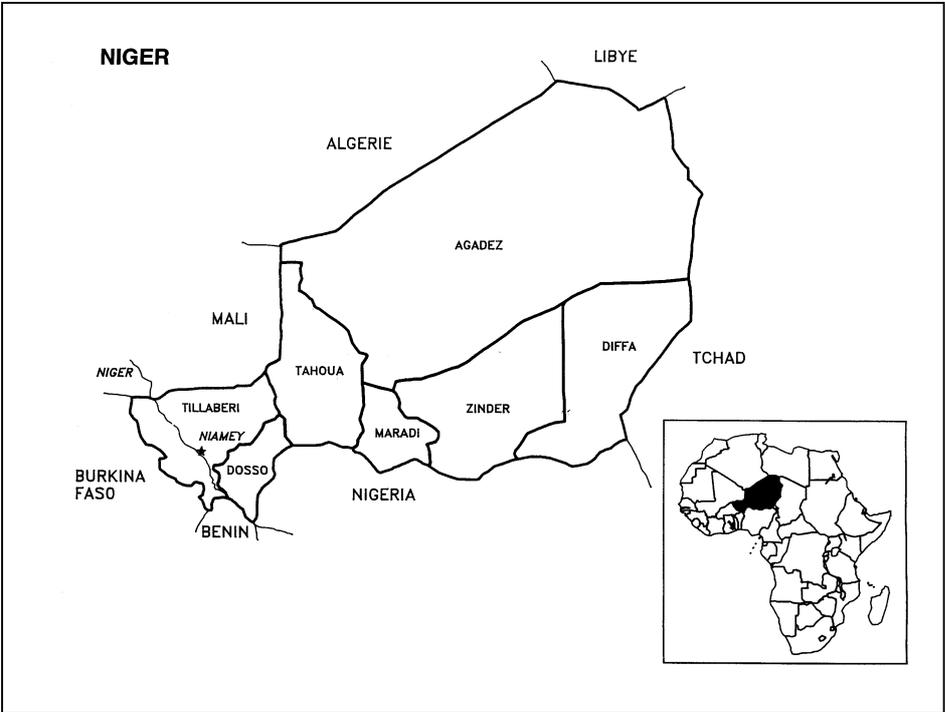


Figure 3 : Situation géographique du Niger

1-2. Situation démographique

De part sa superficie, le Niger est l'un des pays les plus vastes d'Afrique de l'ouest après le Tchad. L'une des caractéristiques majeures du pays est l'inégale répartition de sa population. Sa densité, est l'une des plus faibles de la région (53)

Indicateurs socio-démographiques (53, 54)

Population totale :	10 662 951 habitants (1999)
Femmes en âge de procréer :	2 262 781
Indice synthétique de fécondité :	7,5
Taux d'accroissement démographique :	3,3 %
Taux de natalité :	52 ‰
Taux brut de mortalité :	19 ‰
Espérance de vie :	47,8 ans
Taux d'alphabétisation (total) :	12,5 ‰
Taux d'alphabétisation (hommes) :	18,4 ‰
Taux d'alphabétisation (femmes) :	6,9 ‰
Taux de scolarité :	34%
Taux de scolarité des filles (secondaire)	4 %
PNB par habitant :	269 US \$
Taux brut de scolarisation (garçons)	37 %
Taux brut de scolarisation (filles)	25,4 %

1-3. Situation socioculturelle

La population nigérienne est composée de plusieurs groupes ethniques : Arabe, Djerma-Sonraï, Haoussa, Gourmantché, Kanouri, Peul, Touareg et Toubou.

La langue officielle est le français. Les deux principales langues nationales sont le Djerma et le Haoussa.

1-4. Situation économique

Le Niger à l'instar des autres pays en voie de développement et en particulier de ceux du Sahel se trouve confronté aujourd'hui à de graves difficultés qui entravent son développement économique et social du fait de l'environnement international défavorable, caractérisé par la détérioration des termes de l'échange qui s'ajoute aux contraintes naturelles telles que la sécheresse.

Les principales activités économiques sont l'agriculture et l'élevage à petite échelle 85 % de la population vivent en milieu rural ; sédentaires ou nomades. A peine 3 % de la superficie totale du pays peut être cultivés.

Les pluies rares et limitées dans le temps entraînent des sécheresses régulières qui poussent les habitants du milieu rural à immigrer vers les grandes villes du Niger et les pays de la basse-côte à la recherche d'un emploi temporaire.

Avec un PNB de 269 dollars US en 1998, le Niger est classé parmi les pays les plus pauvres de la planète. En effet, 63 % de sa population est pauvre selon le profil de pauvreté réalisé au niveau national. La proportion des femmes pauvres se chiffre à 64 %. En milieu rural, les pauvres et très pauvres représentent respectivement 66 % et 36 % de la population contre 58 % et 31 % en milieu urbain. (54)

Les difficultés économiques croissantes et le relâchement du tissu social conduisent à une augmentation de la violence au sein des familles, à l'exploitation, au mauvais traitement et aux abus à l'égard des femmes et des enfants.

1-5. La situation sanitaire (16)

Au plan technique le système de santé est constitué de trois niveaux de prestations.

Au premier niveau (périphérique) se trouve l'hôpital de district, formation sanitaire situé dans une commune urbaine ou un chef lieu de département autour duquel gravitent des centres de santé intégrés ;

Au deuxième niveau (intermédiaire) se trouvent les centres hospitaliers régionaux qui sont au nombre de cinq (Agadez, Diffa, Dosso, Maradi et Tahoua) et les maternités de Tahoua et Zinder

Au troisième niveau (central) se trouvent trois hôpitaux nationaux (Niamey, Lamordé et Zinder). C'est aussi à ce niveau que l'on trouve les centres spécialisés(santé de la reproduction, tuberculose, lèpre...) et la maternité de référence nationale Maternité Issaka Gazobi.

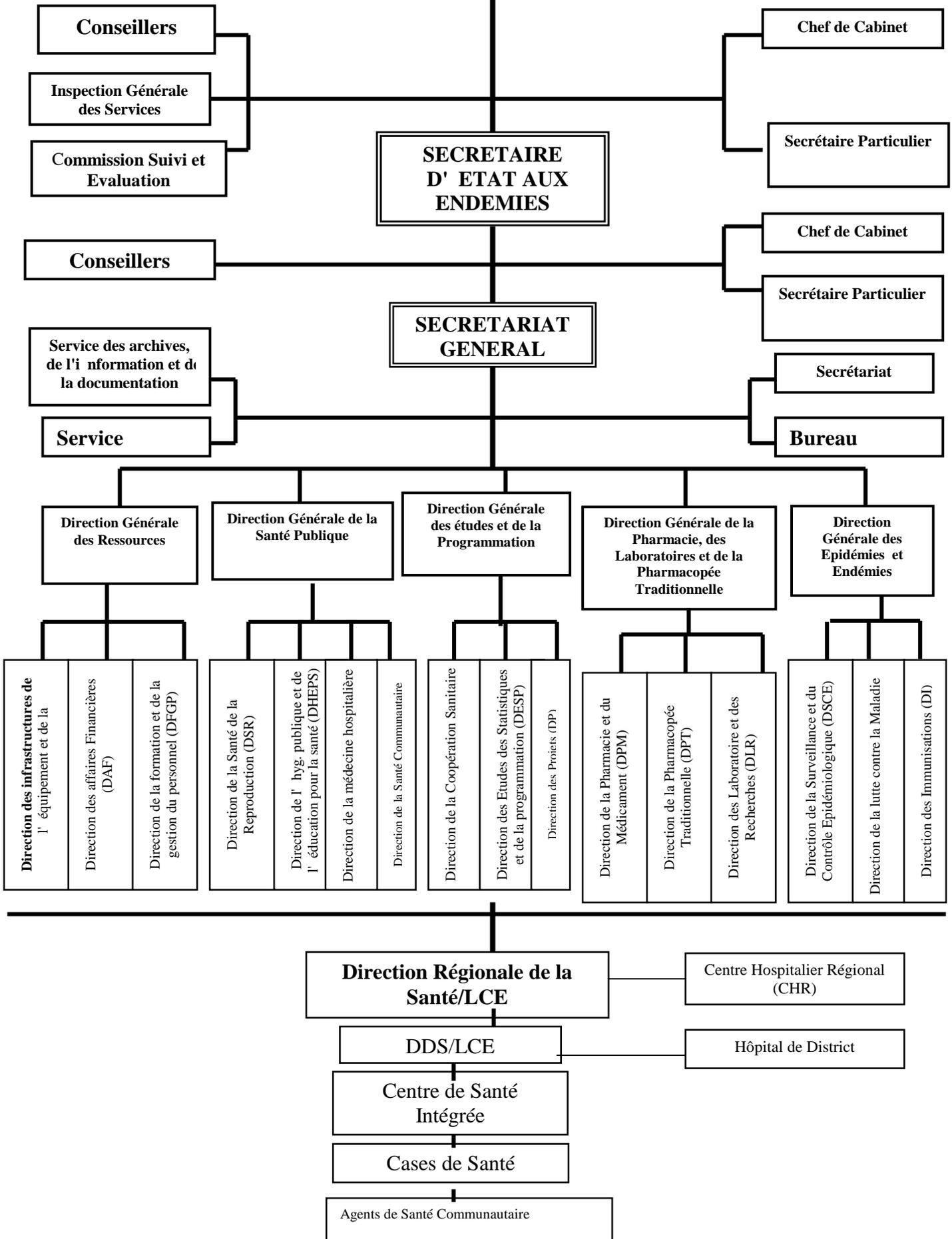
La situation épidémiologique actuelle au Niger se caractérise par une forte prédominance des maladies infectieuses et parasitaire. Les affections les plus fréquentes sont :

- Paludisme 37,38 %
- IRA 13,69 %
- Diarrhée & déshydratation 7,69 %
- Méningite 7,36 %
- Rougeole 5,68 %

Quelques indicateurs sanitaires

- Accès à l'eau salubre : 52 %
- Couverture sanitaire : 42 % (0- 15 Km)
- Taux de couverture vaccinale : 36 % (1999)
- Taux de mortalité infantile : 123,1 ‰
- Taux de mortalité infanto-juvénile : 273,8 ‰
- Taux de mortalité maternelle : 7 ‰

**MINISTRE DE LA
SANTÉ PUBLIQUE
ET DE LA LUTTE
ENDEMIQUES**



2. Présentation du centre de recherche médicale et sanitaire (CERMES)

Le centre de recherche sur les méningites et les schistosomiasis (CERMES) était un institut de recherche dépendant de l'O.C.C.G.E. (Organisation de Coopération et de Coopération pour la lutte contre les Grandes Endémies), organisme inter-étatique regroupant huit pays d'Afrique de l'Ouest.

Résultant du transfert de deux laboratoires du Centre Muraz à Bobo Dioulasso au Burkina Faso, le CERMES a été créé en 1977 et a ouvert ses portes à Niamey au Niger en 1980.

La vocation du CERMES est la recherche opérationnelle dans les domaines de l'évaluation des endémies (méningites et schistosomiasis notamment) et de la lutte préventive (chimiothérapie et vaccination). La mise au point des outils méthodologiques s'accompagne de leur mise à disposition des Etats en collaboration avec les équipes nationales ainsi que le transfert de connaissance ou de technologie auprès de techniciens et chercheurs nationaux.

En deux décennies, le CERMES a acquis une réputation internationale. Cet établissement est devenu Centre Collaborateur O.M.S. pour la recherche et la lutte contre les schistosomiasis depuis 1991 et Laboratoire sous-régional de référence O.M.S. pour le diagnostic des méningites depuis juin 1997. Il est aussi reconnu comme l'un des rares centres d'essais cliniques existant en Afrique.

Après la dissolution de l'OCCGE (Délibération n°1076/CA/46) intervenue de manière effective le 31 décembre 2000, le CERMES est intégré aux structures sanitaires nationales de santé.

Le CERMES est devenu Centre de Recherche Médicale et Sanitaire gardant la même dénomination « CERMES » C'est un établissement public à caractère scientifique, culturel et technique (EPCST) disposant de l'autonomie financière et administrative, ce qui devrait lui permettre de poursuivre ses activités sans difficultés majeures.

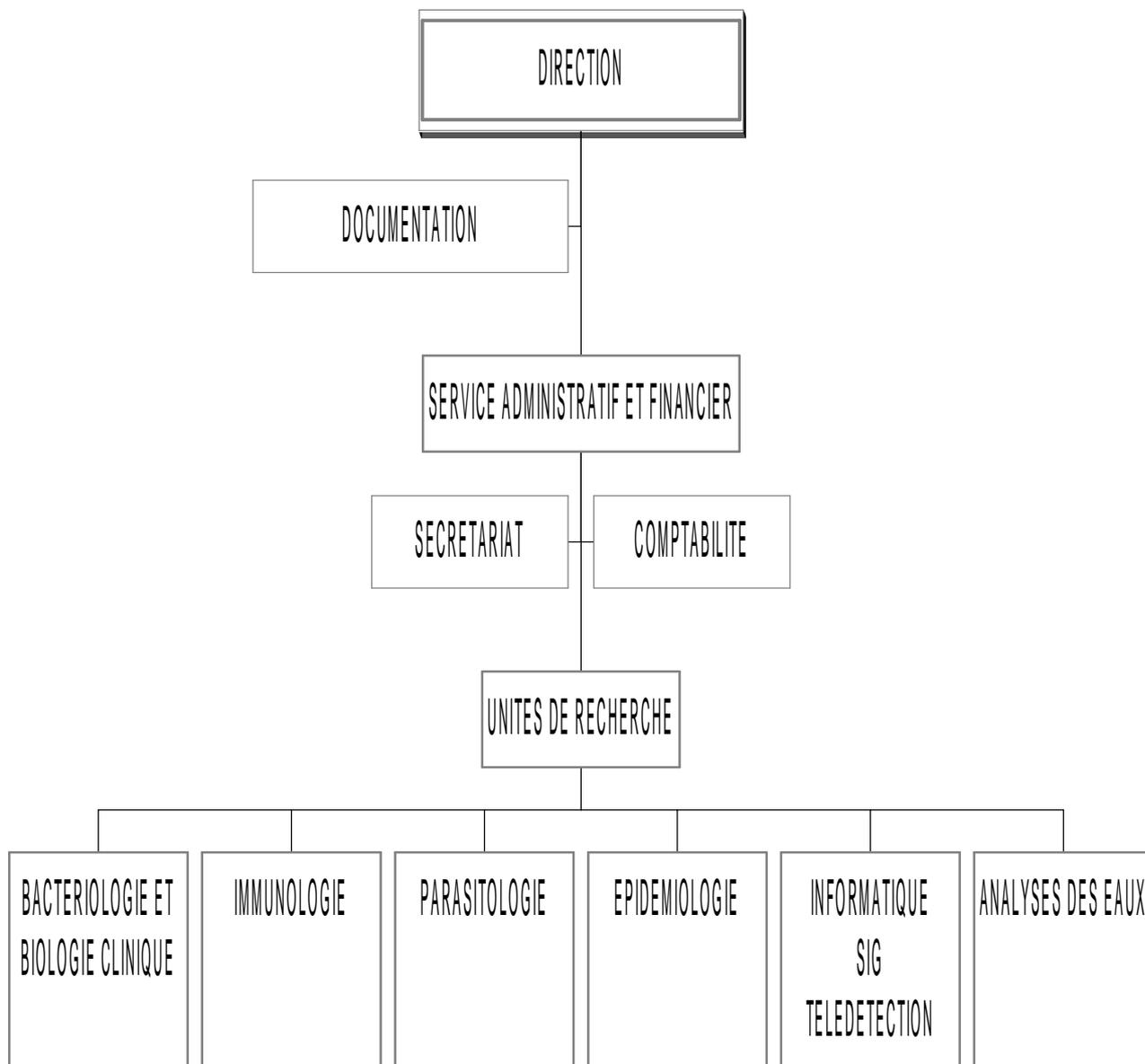


FIGURE 6: ORGANIGRAMME DE STRUCTURE DU CERMES

B-Evaluation du test salivaire Wellcozyme HIV 1/2 GACELISA et du test sanguin Genscreen HIV 1/2 version 2 par rapport au test de référence Inno-Lia HIV confirmation

1. Matériel d'étude

Pour la détermination des performances diagnostiques des tests Wellcozyme et Genscreen, un total de 300 couples de sérum- salive de sujets de sujets séropositifs ou séronégatifs déjà collectés à la banque de sang de l'Hôpital National de Niamey (HNN) et 30 autres couples de sérum –salive de sujets séropositifs ou malades du Sida collectés à l'Hôpital National de Lamordé (HNL), ont été testés au laboratoire d'immunologie du CERMES.

L'ensemble des prélèvements a été collecté entre juillet et août 2001.

2. Technique et outils de collecte des échantillons

Les prélèvements salivaires et sanguins ont été faits dans les 2 hôpitaux. Le sang a été collecté dans des tubes secs et centrifugé pour prélever le sérum, qui a été conservé à 2-8°C puis acheminés au CERMES en fin de journée. Pour la salive, le prélèvement a été fait dans des tubes Corning® sans traitement spécial et acheminé au CERMES. Tous les prélèvements ont été aliquotés dans des cryotubes et conservés à - 20°C.

Les 300 sujets de l'HNN sont des nouveaux bacheliers, qui viennent à l'hôpital faire un test de dépistage du VIH, obligatoire pour les demandeurs de bourses à l'étranger. Ils sont donc volontaires et informés de l'utilisation de leurs prélèvements. Et les 30 autres sont des sujets séropositifs ou malades du SIDA inclus dans un essai clinique expérimental à l'HNL.

3. Analyse des échantillons

Toutes les manipulations ont été réalisées dans l'unité d'Immunologie du CERMES.

Après avoir codé aléatoirement tous les échantillons de salive et de sérum, ceux-ci sont décongelés et centrifugés avant utilisation.

Les prélèvements salivaires ont été analysés avec le test de dépistage Wellcozyme[®] HIV 1 + 2 GACELISA (Abott), tandis que les prélèvements sanguins ont été testés avec le Genscreen[®] HIV1/2 version 2 (Biorad).

Les prélèvements donnant des résultats discordants ont été dosés à nouveau au GACELISA et au Genscreen, et testés également au Vironostika[®] HIV UniForm II Ag /Ab (Organon Teknika). En cas de résultat positif au Vironostika[®] ou en cas de discordance persistante, un test de confirmation Inno-lia[®] HIV Confirmation (InnoGenetics) a été utilisé.

Tous ces tests ont été réalisés conformément au protocole du fabricant. (voir annexe 2)

La chaîne ELISA est composée d'un laveur de plaques Wellwash Ascent[®] et d'un lecteur Multiskan Ascent[®] (Labsystems) .

C-Evaluation des performances diagnostiques des tests Genscreen,

Vironostika, ImmunoCoub et Détermine en utilisant le sérum et le sang capillaire par rapport au test de référence Inno-Lia HIV Confirmation .

1.Matériel d'étude

Un total de 45 couples de prélèvements (sérum et sang capillaire sur buvard) a été prélevé dont 30 au laboratoire d'analyse médicale du CERMES et 15 autres chez des sujets séropositifs ou malades du Sida connus à l'HNL.

2. Sélection des sujets

Tous les patients âgés de 15 à 49 ans qui se sont présentés à l'unité de bactériologie et de biologie clinique ont été interrogés. Une lettre de consentement éclairé a été lue à chaque patient (annexe3). Après obtention du consentement écrit (signature) de l'intéressé à participer à l'étude, le patient est prélevé.

3. Considérations éthiques :

Il y a encore très peu d'études de grande envergure sur la prévalence du SIDA au Niger. Il s'agit là d'un domaine très sensible où la stigmatisation, les fausses croyances et autres comportements néfastes sont très présents. Le sujet est entré dans les nombreux tabous entretenus pendant longtemps par un mur de silence à tous les stades de la société. Mais d'un autre côté, depuis que cette pandémie a éclaté des progrès importants ont été réalisés dans la mise en œuvre des stratégies de prévention.

Compte tenu des problèmes d'éthique liés à toute investigation relative à l'infection au VIH et l'insuffisance de structures organisées de prise en charge des personnes vivant avec le VIH/SIDA, la sérologie s'est effectuée de manière anonyme. Cependant les personnes désirant connaître leur statut sérologique peuvent venir chercher leur résultat. En cas de résultat positif le sujet est transféré dans un centre de prise en charge des personnes vivants avec le VIH/SIDA.

4. Technique de collecte et stockage des échantillons avant analyse

Il a été fait pour chaque sujet un prélèvement veineux sur tube sec et un prélèvement capillaire sur un morceau de papier filtre spécialement conçu et standardisé , appelé sérobuvard LDA²². Chaque sérobuvard est prévu pour 5 sujets, avec pour chacun 6 pastilles prédécoupées (cf.photo). Une goutte de sang entier est obtenue par piqûre au bout du doigt à l'aide d'une lancette de sécurité qui permet d'éviter les piqûres accidentelles après prélèvement et de garantir une élimination sans risque des déchets. Chaque pastille doit être bien remplie de sang (la tâche de sang doit déborder de la pastille et être visible au verso). Les buvards sont suspendus à une corde à linge ou sur des potences spécialement conçues à cet effet pour permettre au sang de sécher

complètement. Ils sont donc séchés à température ambiante, mis dans des sachets mini grip[®] puis conservés à 2-8° C.

Les sérum ont été aliquotés dans des cryotubes puis conservés à - 20° C.

5. Analyse des échantillons

Les sérums et les pastilles ont été testés dans l'unité d'Immunologie du CERMES avec les 4 tests de dépistage suivants : Genscreen[®] HIV1/2 version 2, Vironostika[®] HIV Uni-form 2 Ag-Ab, ImmunoComb[®] 2 BiSpot et Détermine[®] HIV1/2. Les résultats positifs ou discordants ont été passés au test de confirmation Inno Lia HIV confirmation

Nous avons procédé à l'extraction des pastilles avec une pince. Une pastille par patient était placée dans un cryotube avec 200µl de PBS à 2-8°C toute une nuit.

Les analyses de sérum et de sang capillaire réhydraté ont été réalisées en suivant le mode opératoire technique indiqué dans chaque notice d'utilisation du laboratoire fournisseur.

D-Détermination de l'algorithme de dépistage à utiliser pour l'enquête en population générale

1. Matériel d'étude

Pour la détermination de l'algorithme de dépistage, les tests Genscreen, Vironostika et ImmunoComb ont été réalisés sur 180 patients, dont 150 proviennent du centre de dépistage anonyme et volontaire (CEDAV) de Niamey, et 30 de l'HNL. Parmi ces derniers, 28 sont séropositifs ou malades du sida et 2 sont séronégatifs.

2. Technique de collecte et stockage des échantillons avant analyse

Il a été fait pour chaque sujet un prélèvement veineux sur tube sec et un prélèvement capillaire sur sérobuvard LDA²². La technique de collecte et de stockage des échantillons est identique à celle décrite précédemment pour la comparaison sérum-pastille. Les sérums et les pastilles non utilisés ont été stockés respectivement à -20°C et +4°C. Ils ont été utilisés, toujours dans le

cadre de la préparation de l'enquête de séroprévalence en population générale, pour le choix des tests hépatiques (VHB, VHC).

3. Analyse des échantillons

Les sérums ont été immédiatement passés au test de confirmation Inno Lia HIV confirmation et le résultat transmis au CEDAV ou à l'HNL (pour confirmation seulement). Lorsque le nombre nécessaire de prélèvements a été atteint (180 échantillons permettent de réaliser deux plaques complètes en ELISA), ceux ci ont été dosés en aveugle avec les tests suivants : Genscreen[®] HIV1/2 version 2, Vironostika[®] HIV Uni-form 2 Ag-Ab et ImmunoComb[®] 2 BiSpot. Les résultats ont été ensuite confrontés entre eux et avec ceux obtenus avec le test de confirmation.

4. Traitement des données :

Les résultats ont été saisis sur Word et Excel. Les performances diagnostiques ont été calculées à l'aide de EpiTable Epi6Fr du logiciel EpiInfo. Tous les résultats obtenus avec Epi info ont été calculés avec un intervalle de confiance (IC) à 95%.

Définitions des performances diagnostiques des tests (55)

Tableau V: Cadre d'étude des performances diagnostiques

		Maladie	
		Présente	Absente
Test	+	a (VP)	c (FP)
	-	b (FN)	d (VN)

VP = vrais positifs VN = vrais négatifs FN = faux négatifs FP = faux positifs

La sensibilité d'un test

C'est la capacité du test à identifier correctement les individus qui ont la maladie. C'est le rapport du nombre de patients qui ont un test positif et ont la maladie (vrais positifs) sur le nombre total de patients qui ont la maladie. Elle est donnée par la formule suivante :

$$\text{Sensibilité} = a / a+b$$

La spécificité d'un test

C'est la capacité du test à correctement identifier les individus qui n'ont pas la maladie. C'est le rapport du nombre de patient qui ont un test négatif et n'ont pas la maladie (vrais négatifs) sur le nombre total de patient qui n'ont pas la maladie. Elle se calcule à partir de la formule suivante :

$$\text{Spécificité} = d / c+d$$

La valeur prédictive positive d'un test

C'est la proportion des tests positifs qui correspondent à de vrais malades. C'est le rapport du nombre de vrais positifs sur le nombre total de tests positifs. Il est donné par la formule :

$$\text{VPP} = a / a+c$$

La valeur prédictive négative d'un test

C'est la proportion des tests négatifs qui correspond à des non malades. C'est le rapport du nombre de vrais négatifs sur le nombre total de tests négatifs. Elle est donnée par la formule suivante :

$$\text{VPN} = d / b+d$$



RESULTATS

V. RESULTATS

1- Valeurs intrinsèques du test salivaire Wellcozyme HIV 1/2 GACELISA et du test sanguin Genscreen HIV 1/2 par rapport au test de confirmation InnoLia HIV confirmation

Sur les 330 prélèvements, 15 ont été considérés inexploitable pour des problèmes de quantité ou de qualité du prélèvement salivaire. De plus, 2 résultats ont été considérés indéterminés au test de confirmation « InnoLia HIV confirmation ». Ces deux prélèvements ont été sortis de l'étude car nous n'avons jamais pu savoir auprès du fournisseur comment considérer ces résultats. Ce qui fait que nous avons un total net de 313 échantillons exploitables. La salive et le sérum de chaque échantillon ont été dosés en simple, respectivement avec les tests Wellcozyme HIV1/2 GACELISA et Genscreen HIV 1/2 Version 2. Les premiers résultats obtenus ont révélé 242 paires concordantes et 71 paires discordantes entre les deux tests. Les échantillons discordants ont été dosés à nouveau avec le Wellcozyme HIV1/2 GACELISA (pour la salive) et les tests ELISA Genscreen HIV 1/2 Version 2 et parfois aussi Vironostika® HIV Uni-form 2 Ag-Ab (pour le sérum). A l'issue de ces nouveaux dosages, des discordances ont persisté entre la salive et le sérum de 11 individus. Un test de confirmation a alors été réalisé sur ces 11 sérums. Il est à noter que toutes les discordances obtenues ont donné un résultat final négatif. Ceci indique que tous les tests utilisés sont parfaitement sensibles, mais qu'ils ne sont pas parfaitement spécifiques. Les tableaux ci-dessous relatent les performances diagnostiques des tests Wellcozyme HIV1/2 GACELISA et Genscreen HIV 1/2 Version 2 obtenues avec l'échantillonnage utilisé.

Tableau VI : Performances diagnostiques du test salivaire Wellcozyme HIV1/2

GACELISA par rapport au test Inno Lia HIV confirmation

	Test de référence (Inno-Lia)		Total
	positif	négatif	
Wellcozyme positif	32	18	50
Wellcozyme négatif	0	263	263
Total	32	281	313

Sensibilité = 100,0 % (32/32) IC = [86,7 – 100,0]

Spécificité = 93,6 % (263/281) IC = [89,9 – 96,0]

Valeur Prédictive Positive = 64,0 % (32/50) IC = [49,1 – 76,7]

Valeur Prédictive Négative = 100,0 % (263/263) IC = [98,2 – 100,0]

Le test salivaire Wellcozyme HIV ½ présente une sensibilité maximum (100%) par rapport au test Inno-Lia HIV confirmation pris comme référence. Sa spécificité est relativement bonne. Lorsque le test salivaire est positif, la probabilité pour que ce résultat soit vrai est de 64 % . Par contre si le test salivaire est négatif la probabilité pour que ce résultat soit vrai est maximum (100%)

Tableau VII : Performances diagnostiques du test Genscreen HIV 1/2 Version 2 par rapport au test de confirmation Inno-Lia Hiv confirmation

	Test de référence(Inno-Lia)		Total
	positif	négatif	
Genscreen positif	32	32	64
Genscreen négatif	0	249	249
Total	32	281	313

Sensibilité = 100,0 %

IC = [86,7 – 100,0]

Spécificité = 88,6 %

IC = [84,2 – 92,0]

Valeur Prédictive Positive = 50,0 %

IC = [37,4 – 62,6]

Valeur Prédictive Négative = 100,0%

IC = [98,2 – 100,0]

Le test sanguin Genscreen HIV 1/2 version 2 a une sensibilité maximale de 100% et une spécificité assez bonne.. La probabilité pour qu'un résultat rendu positif par ce test soit réellement vrai est de 50 %. Et si ce test est négatif la probabilité pour que cela soit vrai est de 100%

2-Valeurs intrinsèques des tests sanguins Genscreen, Vironostika, ImmunoCoub et Détermine utilisant le sérum et le sang capillaire sur papier filtre par rapport au test de référence Inno-Lia
Sur les 45 couples d'échantillons testés, 2 ont été considérés indéterminés au test de confirmation InnoLia HIV confirmation..

Le tableau ci dessous résume les densité optiques (DO) obtenues avec les tests Genscreen et Vironostika et pour les deux types de prélèvement. Les colonnes (différence de DO) ΔDO montrent que les résultats obtenus en sérum et en

pastille sont généralement bien concordants. Néanmoins, pour un même test, nous avons noté des discordances entre pastille et sérum d'un même individu.

Les discordances entre sérum testé en Genscreen et en Inno-Lia sont au nombre de 7 (patients n°3,11,16,17,18,34 et 45), de même que celles détectées entre pastille testée en Genscreen et sérum en Inno-Lia (patients n° 3,4,9,11,13,41 et 45), mais seulement 3 de ces discordances concernent les mêmes individus (patients n° 3,11 et 45) (cf. tableau des DO).

Les discordances entre sérum testé en Vironostika et en Inno-Lia sont au nombre de 3 (patients n°2,14 et 36), alors que seul le patient n°2 a été détecté discordant entre pastille testée en Vironostika et sérum en Inno-Lia, ce patient étant donc trouvé doublement discordant.

A noter que dans ce tableau, les résultats ont été reportés par numéro d'ordre, mais que les dosages ont été réalisés dans un ordre aléatoire, différent pour les deux tests.

**Tableau VIII : Densités optiques obtenues avec les tests ELISA
Genscreen et Vironostika**

N° d'ordre	GENSCREEN			VIRONOSTIKA		
	SERUM	PASTILLE	ΔDO	SERUM	PASTILLE	ΔDO
1	0,000	0,046	0,046	0,078	0,124	0,047
2	0,024	0,066	0,042	0,219	0,296	0,077
3	0,630	0,815	0,186	0,094	0,108	0,015
4	0,048	0,202	0,154	0,075	0,154	0,079
5	0,023	0,063	0,040	0,071	0,173	0,102
6	0,027	0,050	0,023	0,072	0,075	0,003
7	0,034	0,042	0,008	0,073	0,071	-0,002
8	0,044	0,044	0,000	0,078	0,073	-0,004
9	0,051	0,133	0,082	0,112	0,085	-0,027
10	0,036	0,056	0,020	0,064	0,077	0,013
11	0,249	0,640	0,391	0,215	0,081	-0,134
12	0,022	0,056	0,034	0,077	0,083	0,006
13	0,020	0,126	0,106	0,080	0,077	-0,003
14	0,063	0,047	-0,016	0,277	0,108	-0,169
15	0,040	0,071	0,031	0,074	0,067	-0,007
16	0,303	0,041	-0,262	0,106	0,103	-0,003
17	1,238	0,061	-1,177	0,077	0,076	-0,001
18	0,126	0,089	-0,037	0,083	0,097	0,014
19	4,260	4,316	0,055	4,353	4,240	-0,113
20	4,405	4,510	0,105	4,476	4,362	-0,114
21	4,360	4,506	0,146	4,227	4,480	0,253
22	4,338	4,432	0,094	4,471	4,358	-0,113
23	4,324	4,489	0,165	4,161	4,417	0,257
24	4,289	4,595	0,306	3,852	4,321	0,469
25	4,165	4,466	0,302	3,928	4,253	0,325
26	4,326	4,440	0,114	4,261	4,432	0,171
27	4,321	4,431	0,110	4,001	4,333	0,332
28	4,345	4,408	0,063	3,775	4,407	0,632
29	4,380	4,492	0,112	4,018	4,361	0,343
30	4,324	4,278	-0,047	4,257	4,370	0,112
31	4,344	4,129	-0,215	4,093	4,566	0,473
32	4,346	4,329	-0,017	2,522	4,492	1,970
33	4,228	4,175	-0,052	3,444	4,429	0,985
34	0,171	0,061	-0,110	0,076	0,143	0,067
35	0,106	0,060	-0,046	0,067	0,125	0,058
36	0,034	0,060	0,026	0,567	0,126	-0,441
37	0,028	0,057	0,028	0,075	0,111	0,036
38	0,097	0,045	-0,052	0,062	0,081	0,019
39	0,047	0,038	-0,009	0,061	0,074	0,013
40	0,039	0,048	0,009	0,062	0,077	0,015
41	-0,008	0,193	0,201	0,075	0,078	0,003
42	0,040	0,068	0,027	0,077	0,091	0,014
43	0,069	0,081	0,012	0,102	0,080	-0,022
44	0,057	0,057	0,000	0,096	0,077	-0,019
45	0,356	0,192	-0,163	0,161	0,208	0,047

Toutes les discordances observées ont donné un résultat négatif au test de confirmation. Ceci indique à nouveau que les tests Genscreen et Vironostika utilisés sont parfaitement sensibles, mais qu'ils ne sont pas parfaitement spécifiques. Les tableaux ci-dessous relatent les performances diagnostiques des tests Genscreen HIV ½ Version 2 et Vironostika® HIV Uni-form 2 Ag-Ab obtenues avec l'échantillonnage utilisé. Comme dans le cas salive-sérum, les deux prélèvements identifiés comme indéterminés au test de confirmation Inno-Lia ont été sortis de l'étude car nous n'avons jamais pu savoir auprès du fournisseur comment considérer ces résultats.

Tableau IX : Performances diagnostiques du test Genscreen en utilisant le sérum.

	Test de référence (Inno-Lia)		Total
	positif	négatif	
Genscreen positif	15	7	22
Genscreen négatif	0	21	21
Total	15	28	43

Sensibilité = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Spécificité = 75,0 %

IC = [54,8 – 88,6]

Valeur Prédictive Positive = 68,2 %

IC = [45,1 – 85,3]

Valeur Prédictive Négative = 100,0%

IC = [82,2 – 100,0]

Ce test Genscreen en utilisant le sérum à une sensibilité maximale de 100. La spécificité quant à elle est moins bonne (75%) ; La probabilité pour qu'un résultat rendu positif par ce test soit vrai est de 68,2% et la probabilité pour qu'un résultat rendu négatif par ce test soit réellement négatif est de 100%.

Tableau X : Performances diagnostiques du test Genscreen utilisant le sang capillaire sur papier filtre.

	Test de référence (Inno-Lia)		Total
	positif	négatif	
Genscreen positif	15	7	22
Genscreen négatif	0	21	21
Total	15	28	43

Sensibilité = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Spécificité = 75,0 %

IC = [54,8 – 88,6]

Valeur Prédictive Positive = 68,2 %

IC = [45,1 – 85,3]

Valeur Prédictive Négative = 100,0 %

IC = [80,8 – 100,0]

Comme dans le cas du sérum, nous avons une sensibilité maximale du Genscreen (par rapport au test de référence Inno-Lia)qui garde aussi la même spécificité (75%) . La probabilité pour qu'un résultat obtenue avec du sang séché réhydraté au test Genscreen soit réellement positif est de 68,2%. Par contre la probabilité pour qu'un résultat négatif par ce test soit réellement négatif est de 100%

Tableau XI : Performances diagnostiques du test Vironostika en utilisant le sérum

	Test de référence (Inno-Lia)		Total
	positif	négatif	
Vironostika positif	15	3	18
Vironostika négatif	0	25	25
Total	15	28	43

Sensibilité = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Spécificité = 89,3 %

IC = [70,6 – 97,2]

Valeur Prédictive Positive = 83,3 %

IC = [57,7 – 95,6]

Valeur Prédictive Négative = 100,0 %

IC = [83,4 – 100,0]

La sensibilité du test Vironostika en utilisant le sérum est optimale (100%) par rapport au test de confirmation Inno-Lia HIV confirmation et la spécificité est relativement bonne. Lorsque le test Vironostika utilisant le sérum est vrai, la probabilité pour que ce résultat soit vrai est de 83,3%. Par contre lorsque ce test est négatif, la probabilité pour que cela soit vrai est maximale (100%)

Tableau XII Performances diagnostiques du test Vironostika en utilisant le sang capillaire sur papier filtre

	Test de référence (Inno-Lia)		Total
	positif	négalif	
Vironostika positif	15	1	16
Vironostika négatif	0	27	27
Total	15	28	43

Sensibilité = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Spécificité = 96,4 %

IC = [79,8 – 99,8]

Valeur Prédictive Positive = 93,8 %

IC = [67,7 – 99,7]

Valeur Prédictive Négative = 100,0 %

IC = [84,5 – 100,0]

Le test Vironostika utilisant le sang séché réhydraté présente une sensibilité maximale par rapport au test de référence Inno-Lia. Sa spécificité est très bonne (96,4) . Lorsque le test Vironostika en utilisant le sang séché réhydraté est positif, la probabilité pour que ce résultat soit vrai est de 93,8 %. Mais quand le test est négatif la probabilité pour que cela soit vrai est de 100 %

Les tests rapides Détermine et Immuno Comb, passés sur les 45 couples de prélèvements ont donné des résultats parfaitement concordants avec le test de confirmation Inno-Lia, à l'exception près des deux échantillons indéterminés. Les performances diagnostiques de ces deux tests rapides, résumées ci dessous, révèlent une parfaite sensibilité ainsi qu'une parfaite spécificité.

Tableau XIII : Performances diagnostiques du test Détermine en utilisant le sérum

	Test de référence (Inno-Lia)		Total
	positif	négatif	
Détermine positif	15	0	15
Détermine négatif	0	28	28
Total	15	28	43

Sensibilité = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Spécificité = 100,0 %

IC = [85,0 – 100,0]

Valeur Prédictive Positive = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Valeur Prédictive Négative = 100,0 %

IC = [85,0– 100,0]

Le test Détermine en utilisant le sérum présente une sensibilité maximale par rapport au test de référence Inno-Lia. Sa spécificité est excellente (100 %). Lorsque le test Détermine est positif, la probabilité pour que ce résultat soit vrai est de 100 % et aussi quand ce test est négatif la probabilité pour que cela soit vrai est de 100 %.

Tableau XIV : Performances diagnostiques du test Détermine en utilisant le sang capillaire sur papier filtre.

	Test de référence (Inno-Lia)		Total
	positif	négatif	
Détermine positif	15	0	15
Détermine négatif	0	28	28
Total	15	28	43

Sensibilité = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Spécificité = 100,0

IC = [85,0 – 100,0]

Valeur Prédictive Positive = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Valeur Prédictive Négative = 100,0 %

IC = [85,0– 100,0]

Le test Détermine en utilisant le sang séché réhydraté présente une parfaite sensibilité (100 %) ainsi qu'une parfaite spécificité (100%) par rapport au test de référence Inno-Lia HIV confirmation. Lorsque le test détermine est positif, la probabilité pour que ce résultat soit vrai est de 100 %. De même lorsque le test Détermine est négatif, la probabilité pour que ce résultat soit vrai est de 100 %.

La figure 6 ci-dessous montre des exemples de résultats négatifs (n°12, 13, 12', 13') et positifs (n° 27, 28, 27', 28') obtenus en sérum (n°12, 13, 27, 28) et en pastille (n°12', 13', 27', 28') avec le test rapide Détermine. La partie supérieure de la bandelette est le contrôle interne du test qui permet de valider le résultat apparaissant dans la partie inférieure.

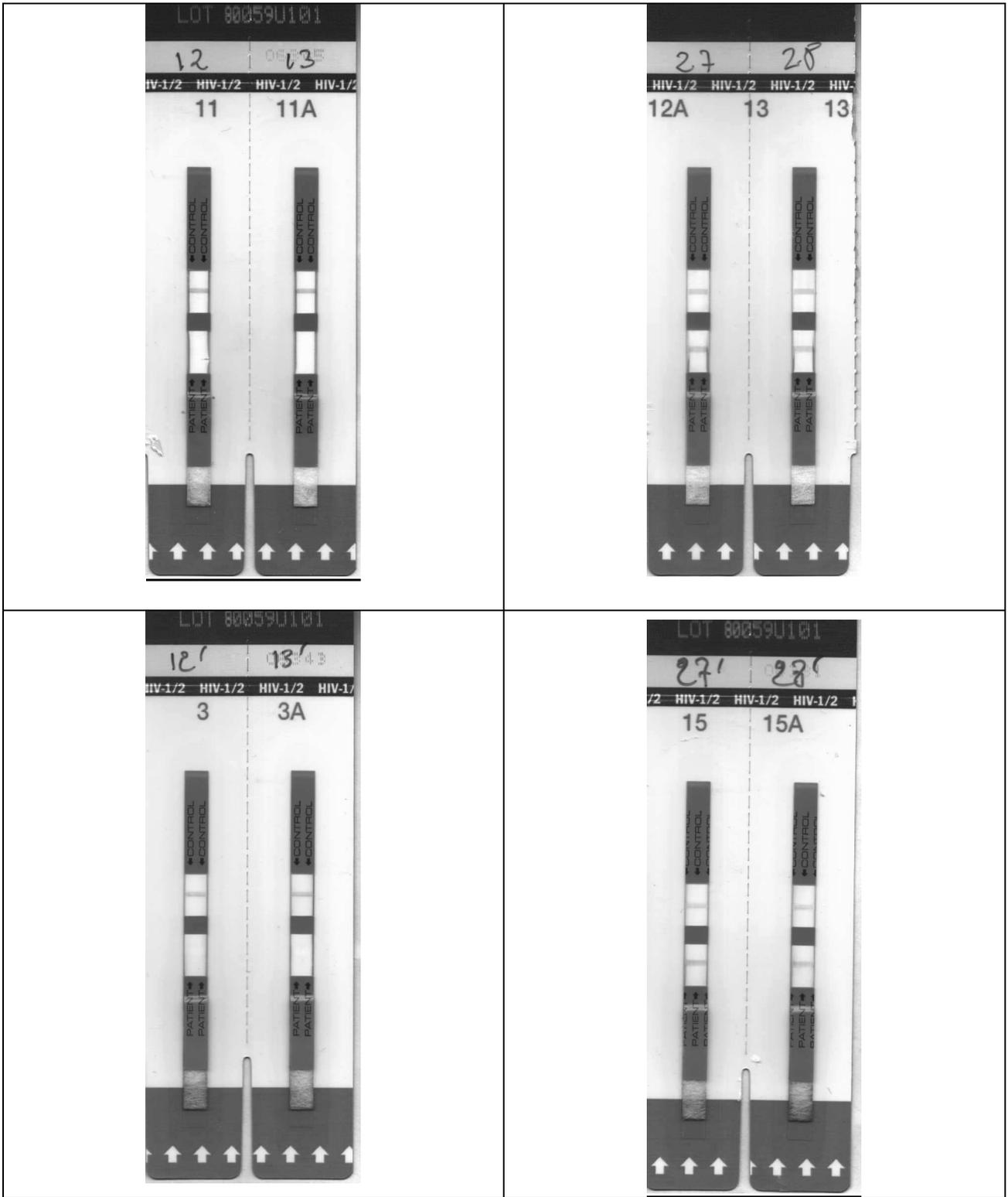


Figure 6 : Exemple de résultats du test Détermine

Tableau XV : Performance diagnostiques du test Immuno Coumb en utilisant le sérum

	Test de référence (Inno-Lia)		Total
	positif	négatif	
Immuno Coumb +	15	0	15
Immuno Coumb -	0	28	28
Total	15	28	43

Sensibilité = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Spécificité = 100,0 %

IC = [85,0 – 100,0]

Valeur Prédictive Positive = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Valeur Prédictive Négative = 100,0 %

IC = [85,0– 100,0]

Le test Immuno Coumb en utilisant le sérum présente une parfaite sensibilité (100 %) et une parfaite spécificité (100 %) par rapport au test de référence Inno-Lia. Lorsque le test Immuno Coumb est positif, la probabilité pour que ce résultat soit vrai est de 100 %. Et aussi quand le test est négatif, la probabilité pour que le résultat soit vrai est optimale (100 %)

Tableau XVI : Performances diagnostiques du test Immuno Coumb en utilisant le sang capillaire sur buvard.

	Test de référence (Inno-Lia)		Total
	positif	négatif	
Test positif	15	0	15
Test négatif	0	28	28
Total	15	28	43

Sensibilité = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Spécificité = 100,0 %

IC = [85,0 – 100,0]

Valeur Prédictive Positive = 100,0 %

IC = [74,7 – 100,0]

Valeur Prédictive Négative = 100,0 %

IC = [85,0– 100,0]

Le test Immuno Coumb en utilisant le sang séché réhydraté présente une sensibilité maximale (100%) et une excellente spécificité (100% également). Lorsque le test Immuno Coumb est positif, la probabilité pour que ce résultat soit vrai est de 100%. De même lorsque le test Immuno Coumb est négatif, la probabilité pour que ce résultat soit vrai est de 100%.

La figure 7 ci dessous montre des exemples de résultats négatifs (n°19, 20, 21, 19', 20', 21') et positifs (n° 22, 23, 22', 23') obtenus en sérum (n°19, 20, 21, 22, 23) et en pastille (n°19', 20', 21', 22', 23') avec le test rapide Immuno Comb. Les témoins positif et négatifs se situent au niveau des deux premières dents du peigne en partant de la gauche.

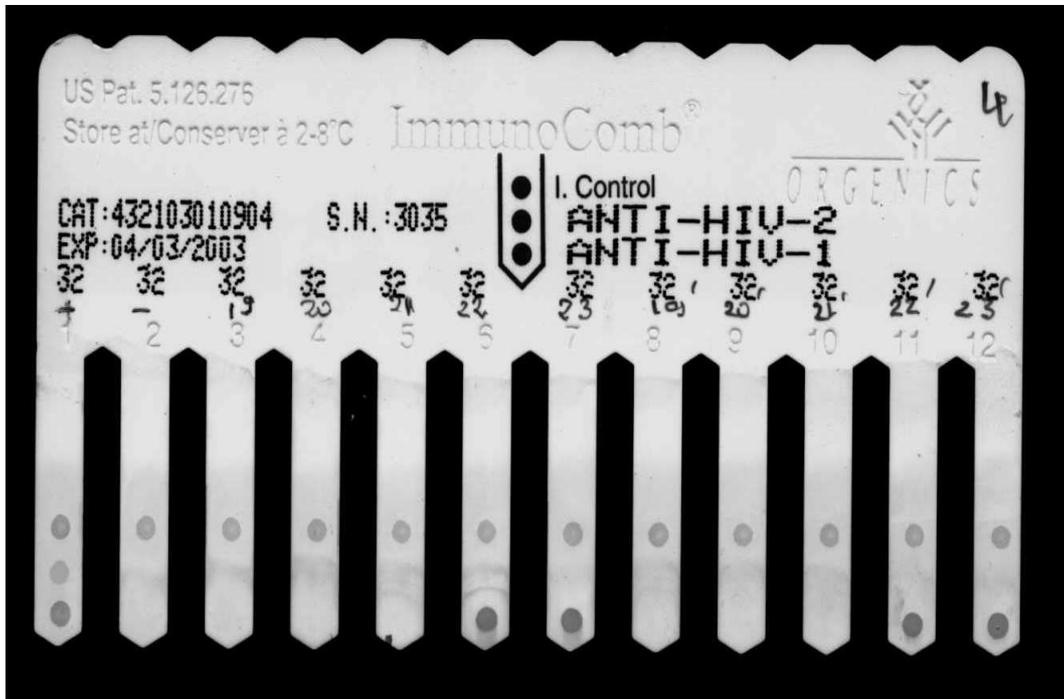


Figure 7 : Exemple de résultats du test Immuno Comb

La figure 8 ci après est un exemple de résultats obtenus avec le test de confirmation Inno-Lia. Les échantillons 02, 03, 11 et 10 sont considérés comme négatifs, les patients positifs portent les numéros 04 et 01, et le patient n° 05 est un exemple de résultat interprété comme indéterminé selon les recommandations du fabricant (une seule bande d'intensité supérieure au niveau +/- est visible au niveau de la sgp 105). Les contrôles positif et négatif sont respectivement les deux premières bandelettes situées à gauche. Au niveau de chaque bandelette, les contrôles internes sont constitués d'une bande streptavidine qui ne doit jamais s'allumer (sinon le résultat devient ininterprétable), et de trois contrôles positifs d'intensité variable.

Figure XX

Figure 8 : Exemple de résultat du test Inno-Lia HIV Confirmation

3. Détermination de l'algorithme de dépistage qui sera utilisé au cours de l'enquête en population générale au Niger

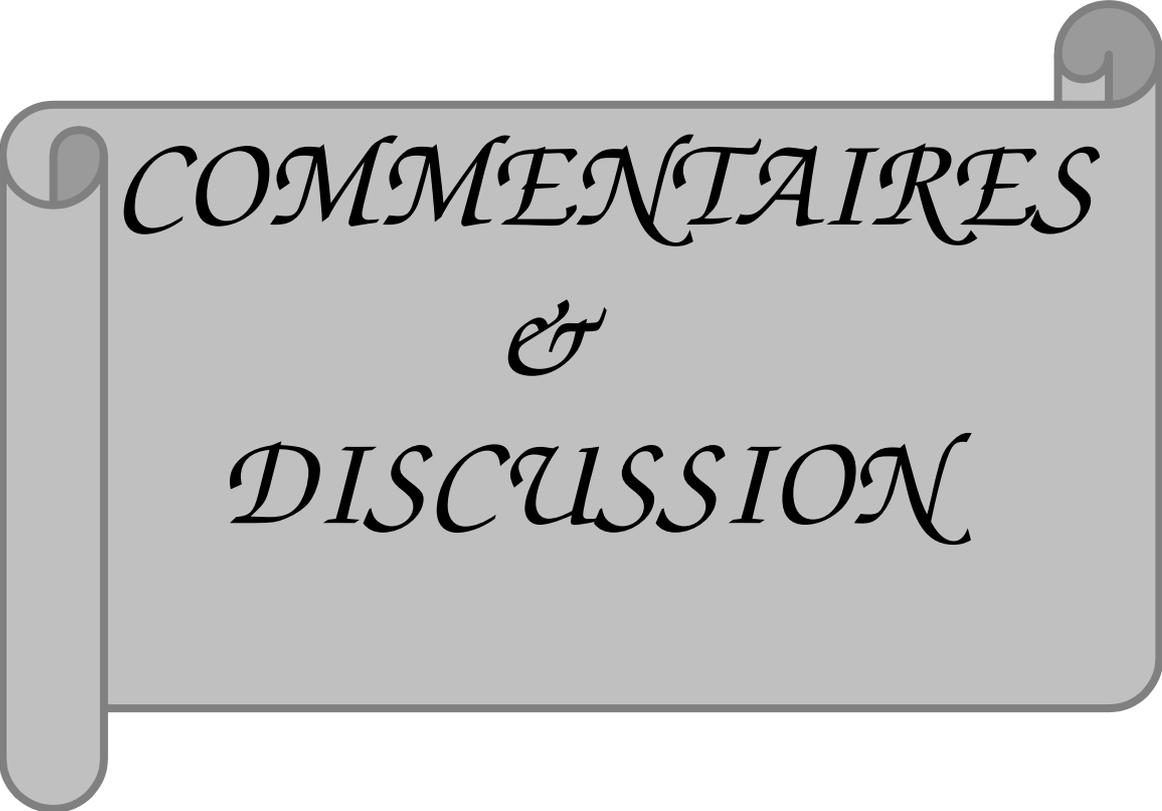
Cette partie du travail a été réalisée sur 180 prélèvements. Les tests Genscreen, Vironostika et Immuno Comb réalisés sur pastille ont été confrontés aux résultats Inno Lia obtenus avec les sérums des mêmes patients. Aucun faux résultat négatif n'a été enregistré, confirmant une fois encore que les tests utilisés sont parfaitement sensibles. Les tests ELISA Genscreen et Vironostika donnent cependant des résultats faussement positifs, mettant à nouveau en défaut leur spécificité. Par rapport à l'analyse précédente, le test Genscreen est cette fois-ci plus spécifique (91% au lieu de 76.7%). Au contraire, le test Vironostika apparaît moins spécifique (84% au lieu de 96.7% avec pastille). Au final, si le test Vironostika semblait être plus prometteur que le Genscreen au vu des résultats sérum-pastille, les observations au niveau de cette étude ne confortent pas cette idée puisque le Genscreen a cette fois-ci une meilleure spécificité (91%) que le Vironostika (84%).

Le test rapide Immuno Comb est quant à lui parfaitement sensible et parfaitement spécifique, comme nous l'avons déjà constaté lors de la comparaison sérum-pastille.

Le tableau XX synthétise les résultats obtenus avec les trois tests de dépistage, en comparaison au test Inno Lia de référence.

Tableau XVII : Performances diagnostiques des tests Genscreen, Vironostika et Immuno Comb en utilisant le sang capillaire

<u>type de test</u>	<u>GENSCREEN</u>	<u>VIRONOSIIKA</u>	<u>IMMUNOCOMB2</u>	<u>test de référence</u>
<u>type de prélèvement</u>	<i>PASTILLE</i>	<i>PASTILLE</i>	<i>PASTILLE</i>	<i>SERUM</i>
positifs	46 positifs	57 positifs	33 positifs	33 positifs
faux positifs	13	24	0	
faux négatifs	0	0	0	
sensibilité	100%	100%	100%	
spécificité	91%	84%	100%	
VPP	72%	58%	100%	
VFN	100%	100%	100%	



*COMMENTAIRES
&
DISCUSSION*

VI COMMENTAIRES ET DISCUSSION

1. Etude salive-sérum

L'utilisation de liquides biologiques autres que le sang pour le dépistage du VIH a été un sujet de recherche dès le début de la mise en évidence du virus en 1983. L'utilisation de la salive a été suggérée comme une alternative à la ponction veineuse pour le dépistage du virus de l'immunodéficience humaine chez l'homme pour plusieurs raisons. En effet, elle présente les avantages d'une meilleure sécurité en réduisant le risque professionnel lié aux piqûres d'aiguilles, aux coupures et à l'élimination des déchets. Les risques liés aux piqûres d'aiguilles ont été incriminés dans la contamination non seulement du VIH mais aussi des hépatites. Selon Kane *et coll*, 8 à 16 millions d'infections à VHB, 2,4 à 4,7 millions d'infections à VHC et 80 000 à 160 000 infections à VIH sont dues aux injections piqûres accidentelles. (56).

De plus, les prélèvements sanguins sont risqués dans les populations cibles telles que les consommateurs de drogues, les prostituées, les homosexuels etc., et parfois techniquement difficiles à réaliser.

Sa nature non invasive, sa facilité d'exécution et la réduction du risque de contamination pour le personnel manipulateur font de la salive un mode de prélèvement plus acceptable que la ponction veineuse dans les enquêtes de masse.(57).

Cependant, les prélèvements salivaires présenteraient aussi des inconvénients. Selon Tamashiro *et coll*, la difficulté réside dans l'obtention d'un volume suffisant d'échantillon, notamment pour les programmes études d'assurance qualité.(58) De plus, les protéines contenues dans les sécrétions buccales pourraient être dégradées en l'absence de stabilisant, ce qui pourraient influencer sur le dosage des anticorps.(58). Par ailleurs, la facilité d'obtention du prélèvement salivaire et l'existence de tests simples et rapides peuvent entraîner

son utilisation en dehors de tout circuit médical, dans une intention malsaine, et alors poser des problèmes éthiques.(58,59)

La salive peut être recueillie soit directement, soit en utilisant un système de collecte commercialisée. Concernant la collecte directe de la salive, elle est recueillie en demandant au sujet de rejeter sa salive dans un tube. Dans une étude réalisée en Côte d'Ivoire, Gershy-Damel et *coll* ont demandé aux sujets de « cracher » dans un pot.(60) Ils ont conservé les échantillons à 4° C sans traitement et à 4° C. Pour notre étude, nous avons recueilli la les salives dans des tubes Corning® sans ajout de conservateur, et les avons aliquotées dans des cryotubes, puis congelées à – 20° C.

Le prélèvement a été fait sans rinçage de la bouche, or l'on sait que la cavité buccale contient beaucoup d'éléments dont des microorganismes, des enzymes et des débris alimentaires qui peuvent interférer sur les résultats. Affoué et *coll*, dans une étude réalisée en Côte d'Ivoire, avaient observé que certains sujets avaient du tabac dans la bouche, que d'autres venaient de croquer des légumes frais ou de la cola, ,mais cela n'a pas créé d'int référence sur les résultats. (61)

Nous avons été confrontés à un problème de qualité de certains prélèvements, d'une part parce que la salive était parfois impossible à pipeter car trop gluante ou présentait souvent des particules, et d'autre part à cause du volume parfois insuffisant pour la réalisation de toutes nos manipulations.

Plusieurs systèmes de collecte commercialisés sont utilisés pour le recueil de la salive (60). Certains sont constitués d'une tige en plastique portant un tampon absorbant que l'on place sous la langue ou au niveau des collets dentaires. Dans d'autres cas, il est demandé au sujet de mâcher un tampon; le liquide recueilli est ensuite expulsé du tampon et transféré dans un milieu contenant un stabilisant jusqu'au moment du test. La salive est stable dans ces systèmes de collecte pendant 3 semaines à température ambiante et pour une durée plus longue, elle peut être réfrigérée ou congelée. (58,59)

Cependant, l'influence du système de collecte de la salive sur les résultats obtenus à notre connaissance n'a pas fait l'objet d'étude.

Nous avons voulu faire une étude comparative entre les performances d'un test réalisé sur de la salive prélevée avec un système de collecte approprié et le même test réalisé avec de la salive prélevée sans collecteur, mais nous n'avons pas pu recevoir les collecteurs en temps voulu

A notre connaissance aucune enquête utilisant les tests salivaires n'a été réalisée en population générale à ce jour. Cependant, plusieurs études ont été conduites pour évaluer les performances diagnostiques des méthodes de dépistage des anticorps anti-VIH sur des prélèvements constitués de sécrétions buccales. . Les calculs des performances ont été établis en prenant comme référence des tests utilisant du sérum, (59) et quelques variabilités quant aux performances ont été reportées. En 1992, Frerichs et *coll.* ont évalué le test Wellcozyme HIV 1/2 GACELISA en Thaïlande sur des groupes à risque et ont trouvé une sensibilité de 98,0 % et une spécificité de 99,4 %.(57). En 1995, Ettiégne –Traoré et *coll.* ont obtenu 99,4 % de sensibilité et 99,3 % de spécificité avec le même test sur une population de prostituées ivoiriennes ; les valeurs prédictives positives et négative étant respectivement de 97,5 % et de 100 %.(62). Une autre étude, réalisée en Côte d'Ivoire en 1994, a utilisé le test salivaire sur des groupes variés de populations constitués de tuberculeux, de femmes enceintes, de lycéens, d'enfants de l'école primaire, d'instituteurs et de prostituées. Affoué et *coll.* ont initialement trouvé une sensibilité de 86,48 % et une spécificité de 100 %. Après optimisation en doublant la quantité de salive, ils ont amélioré la sensibilité à 98,69 % tout en maintenant la même spécificité. Selon eux, les faux négatifs obtenus au départ seraient liés à la présence du fixateur qui dilue le taux d'anticorps dans la salive.(59)

Contrairement à cette équipe, nous avons obtenu une parfaite sensibilité (100 %) probablement parce que nous n'avons pas utilisé de tube collecteur avec fixateur mais la salive brute.

Quant à la spécificité que nous avons obtenue, bien qu'elle soit inférieure à celle des autres auteurs (57,58,61,62) elle est supérieure à celle du test sanguin (Genscreen®) que nous avons utilisé en parallèle (93,3 % contre 88,6 %)

Les premières comparaisons tests salivaires versus tests sanguins ont donné de nombreux résultats discordants (71 sur 313 soit 22,6 %). En reprenant les échantillons discordants et en les testant à nouveau en Wellcozyme HIV1/2 GACELISA (pour la salive) et en ELISA Genscreen HIV ½ Version 2 et parfois aussi en Vironostika® HIV Uni-form 2 Ag-Ab (pour le sérum), nous avons pu réduire le nombre de discordants à 11, soit 3,5%. Les discordances initiales correspondent en général soit à des faux positifs en salive soit à des faux positifs en sérum, indiquant que les tests utilisés ne sont pas très spécifiques. Nous n'avons par contre pas retrouvé de faux négatif, contrairement à Affoué et coll. Les 11 discordances persistantes ont été vérifiées par le test de confirmation Inno-LIA et correspondent finalement à des résultats négatifs. Les tests utilisés sont donc parfaitement sensibles et la valeur prédictive négative est de 100 % indiquant que tous les non-malades ont un résultat négatif. Par contre la spécificité est insuffisante puisque certains non-malades ont donné un résultat positif en salive ou en sérum. C'est ce qui explique que la valeur prédictive positive n'est pas de 100 %. En effet, ce n'est pas parce qu'un résultat est positif que l'individu est forcément malade.

Au début de l'évaluation des performances de notre test salivaire, nous avons été confrontés à un fort taux de discordance entre les résultats du test salivaire et ceux du test sanguin (70 discordances) que nous avons pu réduire (à 11) après reprise des tests.

Avec une spécificité de 93,6% versus 88,6% respectivement, la comparaison des performances diagnostiques du test salivaire et du test sanguin n'est pas en faveur de ce dernier, pourtant le test salivaire n'a pas été retenu pour l'enquête en population générale. Il y a plusieurs raisons à cela :

- Tout d'abord, le test salivaire ne figure pas dans les recommandations de l'OMS. Il n'a pas encore été souvent employé par les équipes travaillant sur le VIH-SIDA, et doit donc être validé. Le fournisseur lui même, conscient des limites d'utilisation de son test, ne nous a pas vraiment incité à l'utiliser dans le cadre d'une enquête en population générale
- Comme nous l'avons déjà mentionné, nous n'avons pas pu réaliser la comparaison des prélèvements salivaires obtenus avec ou sans collecteur et nous ne disposons pas d'étude sur ce sujet.
- Dans le protocole d'enquête en population générale, d'autres examens comme l'hépatite B ou C ont été rajoutés. Il fallait donc choisir un prélèvement qui permette de réaliser à la fois le test HIV et les tests hépatiques.
- Le coût du test salivaire est très élevé par rapport à l'ensemble des tests sanguins qui sont par ailleurs disponibles au PNLIS.
- Enfin, il n'existe pas de diversité suffisante au niveau des tests salivaires pour permettre de réaliser la confirmation des échantillons détectés positifs lors du test de première intention.

Pour l'ensemble de ces raisons, il était alors, nécessaire pour nous d'envisager un autre type de prélèvement qui se prête aux enquêtes de grande envergure.

2. Etude pastille-sérum

Le sang total capillaire prélevé sur support buvard a été utilisé employé pour le dépistage de plusieurs examens pathologies (paludisme, hépatite, schistosomiase, amibiase (63), ou peste (S Chanteau, communication personnelle). Cette méthode de prélèvement présente plusieurs avantages. Le prélèvement capillaire obtenu par piqûre au bout du doigt ne nécessite pas de tubes de collecte ni de chaîne de froid. Par ailleurs, le prélèvement, d'une extrême simplicité, peut être réalisé par du personnel non médical ou non

diplômé. L'utilisation du papier buvard pour le dépistage du VIH est d'introduction assez récente. Dans notre étude, nous avons utilisé le papier sérobuvard LDA²² tandis qu'au Mali, Flabou *et coll.* ont utilisé du papier filtre (64). Le LDA²² présente l'avantage d'avoir des pastilles prédécoupées tandis que le papier filtre nécessite l'utilisation d'une perforieuse pour le découpage des pastilles.

Le papier filtre est séché à température ambiante (24 °C) et peut être conservé dans des sachets contenant un dessiccateur (silicagel), à 24°C, +4°C, -20°C ou -70°C (63)

Dans l'étude de Boillot *et coll.* les pastilles buvard ont été conservées dans des Zip-lock en nylon et conservées à température ambiante (65). Au Mali, Flabou *et coll.* ont également conservé les papiers filtres dans des sachets plastiques Zip-lock, mais sans mentionner à quelle température. Au cours de notre étude, les échantillons ont été conservés dans des sachets mini grip à +4°C.

En ce qui concerne la réalisation des analyses, comme Boillot *et coll.* nous avons fait incuber les pastilles la nuit dans du PBS à +4°C à la différence près que nous n'avons pas agité les échantillons pendant 90 minutes avant incubation. L'équipe de Evengard a procédé quant à elle à une incubation à température ambiante pendant 2 heures (62). L'éluat est récupéré le lendemain et les examens ont été réalisés sans centrifugation. Notre technique diffère de celle de Flabou *et coll.* qui, non seulement procèdent à une élution sous agitation mais aussi centrifugent les échantillons avant de réaliser les ELISA (63). L'étude de l'influence de la centrifugation n'a à notre connaissance jamais été réalisée.

.Bien que, selon Tashmarino *et coll.* la plupart des fournisseurs commerciaux d'ELISA et de Western Blot aient adapté leur protocole de façon à permettre l'analyse d'échantillons de sang entier prélevé sur ce nouveau support (58), les kits que nous avons utilisés (Genscreen, [®]Vironostika[®]) ne sont normalement pas prévus pour un dépistage du VIH avec du sang total. Ils devraient être

utilisés soit sur du sérum, soit sur du plasma. En réalité, le test rapide Détermine[®] est le seul test que nous ayons utilisé qui prévoit l'utilisation de sang total et un prélèvement au bout du doigt. Les résultats que nous avons obtenus sur pastilles réhydratées et sur sérum sont néanmoins globalement superposables (cf tableau des DO) pour les tests ELISA, avec respectivement 95.,55 % (43/45) et 82.,2 % (37/45) de concordances en Vironostika[®] et Genscreen[®]. Cependant, nous avons observé des densités optiques plus élevées avec les pastilles. Les discordances observées ne peuvent être uniquement liées au type de prélèvement, mais peuvent résulter du manque de spécificité des tests.

Nous avons obtenu une concordance parfaite (100 %) entre sérum et pastille pour les tests Détermine[®] et Immuno Comb[®]. De surcroît, la comparaison des résultats obtenus avec ces tests rapides et les tests de confirmation Inno-LIA[®] indique que dans notre étude, Détermine[®] et Immuno Comb[®] ont une sensibilité et une spécificité de 100 %.

La comparaison de performance de ces deux types de prélèvement n'a pas été étudiée par les autres équipes. Cependant, notre échantillon étant très petit, il serait nécessaire d'évaluer ces performances sur un plus grand nombre de prélèvements. Néanmoins, l'étude en aveugle réalisée sur 180 nouveaux échantillons au niveau de l'algorithme de dépistage a permis de valider les performances du sang total recueilli sur sérobuvar pour les différents tests.

Le cas des deux échantillons donnant un résultat indéterminé en test de confirmation Inno-LIA est gênant. Il s'agit des échantillons ayant les numéros d'ordre 3 et 17 dans le tableau XX (page 56 dans les résultats). Ils ont donné un résultat positif en Genscreen (en sérum et pastille pour le n°3 et en sérum seulement pour le n°17) mais négatif en Vironostika, Détermine et Immuno Comb (résultat non présenté). Dans l'étude précédente salive-sérum, également deux échantillons étaient indéterminés avec le test de confirmation Inno-LIA. Il s'agissait de prélèvements donnant des résultats discordants (positif en salive et négatif en sérum avec Genscreen ou vice et versa) qui ont été trouvés négatifs

avec le test Vironostika. Il est à rappeler que dans un cas comme dans l'autre, ces échantillons n'ont pas été considérés pour les calculs de sensibilité et spécificité. En effet, ainsi que nous l'avons déjà mentionné précédemment, nous n'avons jamais pu savoir auprès du fournisseur comment considérer ces résultats. Notre impression est quand même que ces échantillons pourraient être considérés comme négatifs. Il faudrait néanmoins essayer de comprendre les raisons pour lesquelles une réactivité apparaît au niveau de certaines protéines ou glycoprotéines du VIH. Ce travail devait faire l'objet d'un sujet de recherche pour un post-doctorant dans l'équipe du Professeur Delaporte à Montpellier en 2001 (O Oukem, communication personnelle), mais nous n'avons pas eu d'information récente à ce sujet.

3. Algorithme de dépistage

Les résultats obtenus en aveugle avec les tests Genscreen[®], Vironostika[®], Immuno Comb[®] sur sérobuvar en comparaison au test de confirmation Inno-LIA[®] pratiqué sur sérum nous permettent de proposer l'algorithme de dépistage suivant pour l'enquête en population générale :

- **Passer tous les échantillons en ELISA Genscreen[®].** En effet, il est 100% sensible et est apparu, malgré les apparences plus spécifique que le test Vironostika. Par ailleurs, le PNLS dispose de nombreux kits Genscreen en stock qui seront périmés rapidement (d'ici le dernier trimestre 2002). Pour ces raisons, il est donc préférable de choisir le test Genscreen en première intention. **Les négatifs sont rendus négatifs sans aucune autre confirmation puisque la sensibilité et donc la VPN de ce test sont de 100%.**
- **Les positifs correspondant à des vrais positifs ou des faux positifs sont testés ensuite en ELISA Vironostika[®].** Comme ce test a aussi une VPN de 100%, les résultats négatifs seront rendus négatifs même s'ils avaient donné un résultat (faussement) positif en Genscreen. A ce stade, les

positifs seront donc des échantillons qui auront été détectés positifs par les deux tests ELISA. Il peut encore s'agir de résultats faussement positifs à deux reprises, comme nous l'avons constaté une fois (cas d'un échantillon détecté négatif en salive, positif en sérum avec Genscreen et avec Vironostika et confirmé négatif avec le teste Inno-Lia). Mais nous pensons que dans la plupart des cas, ces échantillons seront effectivement confirmés positifs. La nécessité de réaliser ce deuxième test ELISA provient du fait que dans nos études, les ELISA ne sont pas suffisamment spécifiques. Avec une excellente spécificité, nous aurions sans doute pu ne réaliser qu'un seul ELISA, suivi d'un test Immuno Comb® pour confirmation des positifs et discrimination entre les souches de VIH. Le fait de réaliser deux ELISA consécutifs diminuera le nombre de tests rapides Immuno Comb à faire, ce qui devrait être préférable en terme de temps et de coût. En effet, lorsque beaucoup d'échantillons sont à passer en test rapide, cela peut prendre plus de temps que de faire un ELISA sur le même nombre d'échantillon. Autrement dit, un test rapide n'est rapide que s'il est pratiqué sur un nombre restreint d'échantillons en même temps. De plus, l'Immuno Comb est proportionnellement moins bon marché qu'un test ELISA.

- **Les positifs correspondant à des vrais positifs ou des faux positifs sont testés en Immuno Comb®.** Si le résultat obtenu est encore positif, l'échantillon sera considéré positif et la discrimination VIH1-VIH2 sera alors effectuée à l'aide de ce test. Comme il s'agit d'une enquête en population générale dans laquelle aucun résultat individuel ne sera rendu, il ne nous paraît pas nécessaire de confirmer en Inno-LIA un résultat donné trois fois positif (Genscreen, Vironostika, Immuno Comb). Si le résultat obtenu est négatif, il peut s'agir d'un individu négatif qui aura été détecté deux fois positivement à tort (par manque de spécificité des tests ELISA) ou, moins probablement, d'un individu positif qui n'aurait pas été

déecté en Immuno Comb. Contrairement au cas précédent, ce cas de figure ne nous est jamais arrivé, et nous considérons donc qu'il n'a que peu de probabilité de se produire. En tout état de cause, un résultat négatif en Immuno Comb consécutif à deux résultats positifs en ELISA devra être passé en confirmation avec un test Inno-LIA. C'est le résultat de ce test de confirmation qui servira à rendre le résultat définitif sur cet échantillon.

Cet algorithme, proposé par le CERMES à une expertise extérieure, a été validé par les Instituts Pasteur de Bangui et de Madagascar. Il s'inspire des algorithmes proposés par l'OMS tout en étant légèrement différent. En effet, sur les échantillons détectés positifs par deux tests différents, nous réalisons un troisième test (Immuno Comb) permettant de discriminer le type de VIH vis à vis duquel des anticorps ont été détectés. Par cette démarche, nous nous inscrivons dans une stratégie n°II « améliorée » (48). En effet, il faut se rappeler que notre enquête va être effectuée sur sérobuvard et non sur sérum, et que ce support récent, malgré les bonnes concordances obtenues entre pastille et sérum, mérite de prendre des précautions supplémentaires. Notre algorithme diffère néanmoins de la stratégie II puisque lorsqu'il y a une discordance entre les deux premiers tests (positif au premier ELISA et négatif au second) nous considérons que l'échantillon est négatif puisque la VPN est de 100 % pour les tests ELISA. Par contre, nous pouvons réaliser jusqu'à 4 tests pour un même échantillon en cas de discordance entre les deux premiers tests (ELISA positifs) et l'Immuno Comb (négatif), avec l'utilisation déterminante d'un test de confirmation (Inno - LIA). Rappelons enfin que nous sommes dans une démarche d'enquête de masse où aucun résultat ne sera transmis individuellement. Dans ce cadre, nous pensons que notre algorithme suit les recommandations de l'OMS, et que nous prenons des précautions supplémentaires à cause du mode de prélèvement (sérobuvard) qui n'est pas encore parfaitement répandu. Les tests utilisés dans cet algorithme diffèrent de ceux utilisés au Mali dans l'EDSM-III (64) qui avait utilisé en première intention le Murex 1.2.0. Ensuite le Vironostika est appliqué

sur les résultats positifs du Murex et sur 1000 négatifs au Murex. S'il y a une discordance significative entre les deux tests, l'ensemble des négatifs au Murex est soumis au Vironostika dans le cas contraire on s'en tient aux 1000. Dans tous les cas, les échantillons discordants entre Vironostika et Murex seront soumis à un troisième ELISA Genscreen. Le Western Blot est appliqué sur tous les échantillons positifs.

Nous attendons pour le Niger moins de 2 % de prévalence.



CONCLUSIONS

VII CONCLUSIONS

A la suite de notre étude sur la détermination des performances diagnostiques du test Wellcozyme HIV 1/2 et du test Genscreen HIV 1/2 version 2 réalisée à l'unité d'immunologie du CERMES sur 330 couples de prélèvement salive - sérum, nous avons abouti aux conclusions suivantes :

- Les anticorps anti-VIH sont détectables dans la salive et qu'il s'agit d'un prélèvement plutôt bien accepté
- Le test salivaire Wellcozyme HIV 1/2 GACELISA donne de bonnes performances diagnostiques par rapport au test de référence Inno-Lia HIV confirmation (100% de sensibilité et 93,6% de spécificité.)
- La qualité du prélèvement n'est pas toujours garantie
- Le coût du test salivaire est relativement plus élevé que celui du test sanguin.

En revanche son utilisation demande une optimisation

Notons que l'absence de stratégie de confirmation du test salivaire nous a amenés à la recherche d'une autre alternative à la ponction veineuse et il s'avère que le prélèvement capillaire sur buvard répond à nos réalités. En effet la pastille est une bonne technique de recueil de sang en vue d'une enquête en population générale et le problème de logistique lié au mode de prélèvement ne se pose plus dans la mesure où elle ne demande qu'une faible quantité de sang recueilli sur un papier buvard.

Les résultats sont superposables avec ceux obtenus avec le prélèvement veineux et la pastille permet aussi la confirmation des échantillons par un test de confirmation ce qui n'est pas le cas du prélèvement salivaire.

Son coût est moindre et elle permet d'autres types d'analyses (hépatite B et C génotypage du VIH)

Pour l'élaboration de l'algorithme, les tests Genscreen, Vironostika et Immuno Coumb démontrent une parfaite sensibilité (100% pour tous les test) et une

spécificité discutable (Immuno Coumb 100%, 91% et 84% respectivement pour Genscreen et Vironostika).

Malgré le coût apparemment élevé, les enquêtes en population générale sont les seules à donner des résultats fiables de l'infection à VIH dans un pays.

Le prélèvement du sang sur sérobuvard est le prélèvement alternatif à la ponction veineuse pour la conduite de l'enquête de prévalence du VIH en population générale.



RECOMMENDATIONS

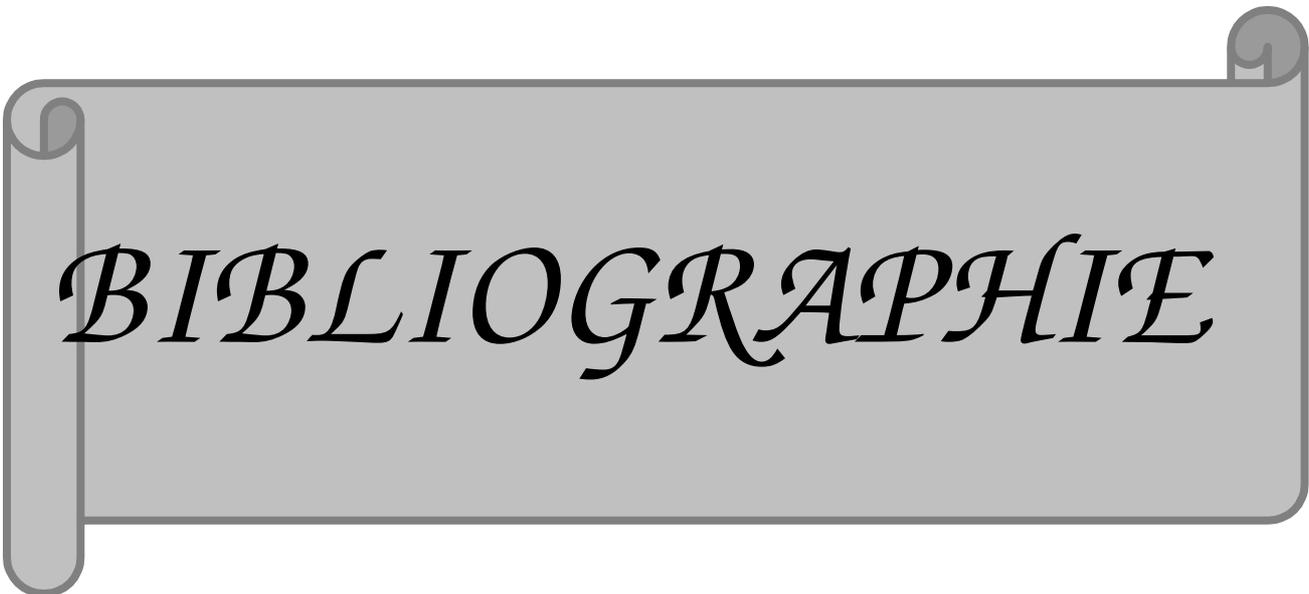
VIII RECOMMANDATIONS

Au terme de nos travaux et au regard de tout ce que nous avons observé et constaté nous recommandons :

- Aux autorités sanitaires du Niger, au PNLIS et aux partenaires au développement :
 - l'organisation d'une enquête en population générale pour la surveillance du VIH/SIDA au Niger afin de prendre des mesures pour la lutte contre ce fléau mondial.
 - L'utilisation du prélèvement sur buvard pour la réalisation de cette enquête
 - Le renforcement des services de dépistage en personnel, équipement, réactifs, et aussi en contrôle de qualité.
 - La décentralisation des structures de conseil dépistage volontaire.
- Au CERMES
 - De poursuivre l'évaluation du test salivaire en vue de l'optimisation de son utilisation
 - D'élaborer un algorithme de dépistage fiable et pratique basé sur des tests de dépistage à moindre coût.
- A la population

D'accepter les prélèvements pour le dépistage du VIH chaque fois que la suspicion clinique existe, pour la personne elle même d'abord et ensuite pour ses partenaires, ce qui permettra une prise en charge rapide.

 - De fréquenter régulièrement les centres de conseil et dépistage volontaires afin de connaître son statut sérologique.



BIBLIOGRAPHIE

IX BIBLIOGRAPHIE

1. OMS/ONUSIDA.

Directives pour la surveillance de deuxième génération du VIH.
WHO/CDS/CRC/EDC/2000, document 40 pages

2. GTZ, HIV-AIDS.

Surveillance in developing countries.Division 4300. Sector project HIV.
Prevention and control in developing countries.

3. CDC Atlanta CDC

Guidelines for National Human Immunodeficiency Virus case, Surveillance,
Including, Monitoring for Human Immunodeficiency Syndrome. *MMWR*,
december10, 1999, Vol. **48**, N°. RR-13

4. GENTILLINI M.

Médecine tropicale, Médecine Sciences Flammarion ; 5^{ème} édition 1993 ;
928p

5. FLEURY HJA.

Virologie Humaine, 3ème édition MASSON; 205 p

6. PEETERS M, MULANGA-KABEYA C , DELAPORTE E

La diversité génétique du VIH1 *virologie* 2000, **4**, 371-381

7. MAMADOU S, MONTAVON C, BEN A, DJIBO A, RABIOU S *et al.*

Predominance of CRFO2 AG and CRFO6 – CPx in Niger. *West Africa
AIDS research and human retro viruse*. Vol **18** 2002 (Sous presse).

8. OMS.

Le point sur la pandémie mondiale de VIH/SIDA, fin 2001. *REH* 2001, **76**,
381 – 386 n° (49) .

9. ONUSIDA

Rapport sur l'épidémie mondiale VIH/SISA ; Juin 2000, document de 135
pages.

10. Réseau de suivi de la pandémie du Sida (Monitoring the Aids Pandemic MAP)

La situation et les tendances des épidémies de VIH/SIDA en Afrique Subsaharienne. Rapport final. Abidjan, Côte d'Ivoire 3-4 décembre 1997. Symposium satellite officiel de la XI^{ème} conférence internationale sur les MST et le SIDA en Afrique, 24 pages

11. CASTEBON K, LEROY V, SPIRA R, DABIS F

Prévenir la transmission mère-enfant du VIH 1 en Afrique en l'an 2000. *Cahier santé*, 2000 ; **10** ; 103-113

12. ONUSIDA.

Transmission du VIH de la mère à l'enfant. collection meilleures pratiques de l'ONUSIDA, mars 1999

13. OMS

Surveillance Mondiale du sida : *REH* 2001, **76**, 380-396 n° (50)

14. Banque Mondiale. Rapport d'experts, 1998

Intensifier la lutte contre le VIH/SIDA

15. PNLS/IST.

Rapport service épidémiologique 2001 Niger

16. PNLS/IST

Cadre stratégique de lutte contre le VIH/SIDA

17. OMS.

Définition OMS du cas de sida aux fins de surveillance pour les adultes et les adolescents. *R E H* 1994, **69**. 273-275.

18. BOUCRAYD-O

Problème spécifique des diarrhées de l'Immuno déprimé : *Med Trop* : 2001. **61.224**

19. FAMILY HEALTH INTERNATIONAL.

La lutte contre la tuberculose à l'ère de VIH. Coordination des programmes de lutte contre le VIH et la tuberculose. Juin 2001. <http://www.fhi.org>

20. BOWEN E, RICE P, COOKE N, WHITFIELD R, RAYNER C;
HIV seroprevalence by anonymous testing in patients with *Mycobacterium tuberculosis* and in tuberculosis contacts *The Lancet*, Vol **356**. October 28, 2000: 1488-1489
21. HARRIES AD, NYANGULU DS, HARGREAVES, KALUWA O, SALANIPONI.
Preventing antiretroviral anarchy in sub-Saharan Africa. *The Lancet* 2001, **358**: 410-14.
22. OMS
Initiative VIH/SIDA et infections sexuellement transmissibles. Sécurité et efficacité des traitements antiretroviraux chez l'adulte plus particulièrement en situation de ressources limitées. WHO/HSI/2000
23. MOLINA JM, YENI P
. Comment utiliser les anti-rétroviraux disponibles. *Méd thérapeutique* vol **5** hors série n°s mars 1999. 58-63
24. ONUSIDA.
Accès aux médicaments. collection meilleures pratiques de l'ONUSIDA, mars 1999
25. JOINT UNICEF, UNAIDS, WHO/EDM. MSF project.
26. Selected drugs used in the care of people living with HIV sources and prices. October 2000 ; 20p.
27. FAMILY HEALTH INTERNATIONAL.
L'introduction efficace et sans risque des anti-retroviraux pour le VIH/SIDA. Juillet 2001. <http://www.fhi.org>
28. VAN PRAAG E, FERNYAK S, KATZ AM.
Les incidences des traitements anti-retroviraux. Consultation informelle ; Avril 1997. Document OMS/ONUSIDA, 142 pages.
29. LALOGÉ M.

Prise en charge thérapeutique du VIH/SIDA : des produits à manier avec prudence et un suivi médical important. *La lettre du CEDIM* ; Bull d'information pharmacothérapeutique du Burkina Faso. 6^{ème} année, Vol 4 n° 11, Décembre 2001

30. BRUN VEZINET F, CLAVEL F,

Résistance du VIH aux anti-retroviraux, mécanisme et outils de recherche. *Méd thérapeutique* Vol 5 hors série n°1 mars 1999 ; 24-31

31. JOUAN M, KATLAMA C,

Prophylaxie des infections opportunistes au cours du SIDA à l'ère des traitements anti-retroviraux avec antiprotéases, *Méd Thérapeutique* Vol 5 hors série n°1 mars 1999 ; 24-31

32. ANGLARET X,

Trimethoprim-sulfamethoxazole prophylaxis in sub-saharan African; *The lancet* Vol 358; September 29, 2001, 1027

33. LEVY Y,

Immunothérapie de l'infection par le VIH , *Médecine thérapeutique* Vol 5 hors série n°1 mars 1999 ; 85-93

34. HODONOU M.

Implication des guérisseurs dans la prévention du VIH/SIDA et des MST ; **11PT3-232** ; 167-168. XII^{ème} Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique; (CISMA) Burkina Faso . livre des résumés.

35. GBODOSSOU EV.

Implication des guérisseurs dans la recherche de solutions thérapeutiques au VIH/SIDA; **13 PT3-4** , p 352. XII^{ème} Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique ; Burkina Faso . livre des résumés.

36. GAMANIEL S, OANIAGU S, NWINYI F.

Acute and sub acute toxicological evaluation of shedix a herbal drug used against anti HIV/AIDS in Nigerian traditional medicine; **13 PT3-5**, p 352.

XIIème Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique ;Burkina Faso . livre des résumés.

37.SIMPORE JK, NIKIEMA J, PIGNATELLI S, SIA D.

Evaluation thérapeutique des médicaments traditionnels dans la prise en charge des personnes vivant avec le VIH/SIDA ; **13 PT3-6** ; p353 XIIème Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique ;Burkina Faso . livre des résumés.

38.BOUVET E,

Prise en charge d'une exposition par le VIH. *Méd thérapeutique* Vol 5 hors série n°1 mars 1999 ; 79-84

39.DIALLO MB, DIAKHATE A, DIOP B, MBOUP S, TARANTOLA A.

Stratégies de prises en charge des accidents d'exposition au sang (AES) dans le cadre de l'initiative Sénégalaise d'accès aux anti-retroviraux (ISMRV) ; **12BT3-5** ; 222-223 ; XIIème Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique ;Burkina Faso . livre des résumés

40.COULBALY I.

Risques professionnels en milieu de soins: les accidents d'exposition au sang dans les différents CHU d'Abidjan. **12BT3-2**, p221. XIIème Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique ;Burkina Faso . livre des résumés.

41.EHUI E, EHOLIE S, KAKOU A, TANON A, DOUMBIA S *et al.*

Chimioprophylaxie anti-retro virale après expositions potentielles au VIH à Abidjan/ Résultats préliminaires problèmes pratiques et éthiques, **12PT3-280**

42..SOW S, BOUVET E, CLAEYS P, DIALLO M, DOUMBIA S, *et al.*

Connaissances et pratiques à risque d'accident exposant au sang (AES) chez les soignants en médecine dans trois pays d'Afrique de l'ouest. **12**

- BT3-4** ; p 222. XIIème Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique ;Burkina Faso . livre des résumés.
- 43..AKA C , BOUVET E, BRUCKER G, DOUMBIA S, EHOLIE S et *al* .
etude descriptive des 454 accidents exposant au sang chez des personnes soignantes dans 3 pays d'Afrique de l' Ouest ; **12BT3-6** ; 223 ; XIIème Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique ;Burkina Faso . livre des résumés.
- 44.DIALLO MB, DIAKHATE A, DIOP B, MBOUP S, TARANTOLA A.
Stratégies de prises en charge des accidents d'exposition au sang (AES) dans le cadre de l'initiative Sénégalaise d'accès aux anti-retroviraux (ISM RV) ; **12BT3-5** ; 222-223 ; XIIème Conférence Internationale sur le SIDA et les MST en Afrique ;Burkina Faso . livre des résumés.
- 45.PIOT P, COLL-SECK A. Prévention de la transmission du VIH de la mère à l'enfant en Afrique. *Bull de l'OMS*, Recueil d'article n°2, 2000
- 46.NEWELL ML. Prevention of mother to child transmission of HIV challenges for current decade. *Bull of the WHO* 2001, **79** (12); 1138-1143
- 47.LEVY JP. Problème vaccinal. *Méd thérapeutique* Vol **5** hors série n°1 mars 1999. 105-108
- 48.OMS/ONUSIDA
Recommandations concernant le choix et l'utilisation des tests de mise en évidence des anticorps anti-VIH, version révisée. *REH*, 1997, **72**, 81-87
- 49.CONSTANTINE NT, CALLAHAN BS, WATTS DM.
Dépistage HIV & contrôle de qualité. *AIDSTECH*, 1991; Family Health International ; 171p
- 50..CDC,UNAIDS, WHO
Guidelines for using HIV testing technologies in surveillance; Selection, Evaluation, and implementation , doc 38 pages
- 51.OMS/ONUSIDA.

Importance des tests simples rapides pour la recherche des anticorps anti VIH
REH,1998,**73**,321-328

52. ONJUSIDA

Conseil et dépistage volontaire du VIH à l'intention des femmes enceintes dans les pays à forte prévalence , données et problèmes. Collections Meilleures pratiques de l'ONUSIDA, doc 24 pages

53. ATTAMA S, MICHKA S, KOURGUENI AI, KOICHE H, BARRERE B.

Enquête démographique et de santé Niger, 1998. Calverton, Maryland, USA/ Care International Inc., 1999 ; 358 p

54. REPUBLIQUE DU NIGER.

Document de stratégie de réduction de la pauvreté. 2001 document, 200 pages.

55. ROUQUETTE CR, BLONDEL B, BREAT G.

Epidémiologie: Méthodes et pratiques. Collection Statistique en Biologie et en Médecine. Médecine Sciences Flammarion

56. KANE A; LLOYD J; ZAFFRAN M; SIMONSEN L; KANE M :

Transmission des virus de l'hépatite B, de l'hépatite C et de l'immunodéficience humaine par les injections à risque dans les pays en développement : estimations régionales modélisées. *Bull de l'OMS* ; Recueil d'article n° **2**, 2000, 44-49

57. FRERICHS RR, SILARUG N, ESKES N, PAGCHAROENPOL P,

RODKLAI A et al ,

Saliva based HIV-antibody testing in Thailand; *AIDS* 1994, **8**: 885-894

58. TAMASHIRO H, CONSTANTINE NT.

Serological diagnosis of HIV infection using oral fluid samples, *Bull of the WHO*, 1994, **72** (1): 135-143

59. SANGARE K A, KOFFI AR, COULIBALY IM, COULIBALY D.

La salive permet elle de détecter la séroconversion au VIH . *Cahier Santé* 1997 ;**7** :303-307

60. GERSHY-DAMET G .M, KOFFI K, ABOUYA L, SASSON-

MOROKRO M, BRATTEGAARD K *et al*

Salivary and urinary diagnosis of human immunodeficiency viruses 1 and 2 infection in Côte d'Ivoire , using two assay. *Transactions of the Royal Soc of Trop Med and Hyg* (1992), **86**, 670-671

61. ARLENE K, STEPHEN A M, DARREL C, MICHAEL R, PETER J M *et al*

Accuracy of a saliva test for HIV antibody. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology*, Vol **9**, n°2, 1995, 172-175

62. ETTIEGNE-TRAORE V, GHYS PD, MAURICE C, HOYI-ADONSOU YM, SOROH D *et al*.

Evaluation of an HIV test for detection of HIV-1 and HIV-2 antibodies in high-risk populations in Abidjan, Côte d'Ivoire. *Int J STD AIDS* 1998, **9**, 173-174.

63. EVENGARD B; LINDER E; LUNDEGH P.

Standardization of filter paper technique for blood sampling . *Annals of Trop Med and Par* Vol **92**, n°3, 295-303

64. MINISTERE DE LA SANTE.

Enquête démographique et de santé. Mali 2001. Rapport final

65. BOILLOT F, PEETERS M, KOSIA A, DELAPORTE E,
Prevalence of human immunodeficiency virus among patients with tuberculosis in Sierra Leone established from dried blood spots on filter paper: *INT J Tuberc Lung Dis* 1(**6**) 493-497 1997 IUATLD

FICHE SIGNALÉTIQUE

NOM: AMADOU HAMIDOU

PRENOM : Amina

**TITRE : PREPARATION D'UNE EVALUATION DE LA
SEROPREVALENCE DU VIH EN POPULATION GENERALE
AU NIGER. QUELS PRELEVEMENTS ? POUR QUELS
TESTS ?**

VILLE DE SOUTENANCE : Bamako

PAYS D'ORIGINE : Niger

LIEU DE DEPOT : Bibliothèque de la Faculté de Médecine, de Pharmacie et
d'OdontoStomatologie

SECTEUR D'INTERET : Immuno-virologie, Santé Publique

RESUME :

Au Niger, très peu d'enquêtes ont été consacrées à la surveillance de la séroprévalence du VIH en population générale. Le but de notre travail est j d'évaluer les performances diagnostiques des tests Wellcozyme HIV ½ GACELISA, Genscreen HIV ½ version 2, Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab, Immuno Comb II HIV 1&2 BiSpot et Détermine HIV1/2 par rapport au test de référence Inno-Lia HIV Confirmation. en fonction du mode de prélèvement : salivaire, capillaire sur sérobuvard et de trouver un mode de prélèvement alternatif à la ponction veineuse afin d'élaborer un algorithme de dépistage pour une enquête en population générale.

Notre étude a été menée à l'unité d'immunologie du CERMES sur 330 couples de prélèvements salive-sérum, 45 couples sérum-sang capillaire sur sérobuvard et 180 autres couples sérum-sang capillaire sur sérobuvard.

Le prélèvement capillaire sur sérobuvard présente plus d'avantages que le prélèvement salivaire.

La sensibilité est excellente (100%) pour tous les tests, la spécificité quant à elle, est moins bonne pour les test ELISA(Genscreen et Vironostika) mais parfaite pour les tests Immuno Comb et Détermine (100%).

La spécificité du test salivaire Wellcozyme qui est de 93,6% est supérieure à celle du test sanguin Genscreen (88,6%) utilisé en parallèle.

L'ensemble de nos tests ELISA ayant une sensibilité maximale, le test de premier choix de notre algorithme est le test Genscreen qui a la meilleure spécificité (91% contre 84% pour le Vironostika)

MOTS CLES : VIH, séroprévalence, sensibilité, spécificité, algorithme, dépistage.



ANNEXES

ANNEXE 1 CONSENTEMENT ECLAIRE

Evaluation de la prévalence du VIH en population générale

Mon nom est Amina, je travaille pour le Ministère de la Santé Publique. Nous voulons avoir une image globale de l'infection à VIH au Niger et pour cela le Programme National de Lutte contre le SIDA a décidé de faire une pré-enquête pour l'évaluation des tests et des modes de prélèvements qui seront utilisés au cours de l'enquête en population générale. Ces tests et ces modes de prélèvement ont déjà été validés dans des conditions peu différentes de celles de notre pays. Nous voulons à présent valider l'usage de ces tests et des modes de prélèvement au CERMES, qui est le centre autorisé à faire ces tests au cours de l'enquête en population générale.

Nous souhaiterions que vous participiez au test du VIH dans le cadre de cette enquête en donnant quelques gouttes de sang d'un doigt et un échantillon de sang veineux. Pour faire les prélèvements, on utilise des instruments complètement sans risque. Ces échantillons seront analysés dans le laboratoire du CERMES. Pour assurer la confidentialité des résultats du test, aucun nom ne sera attaché à l'échantillon de sang envoyé au laboratoire pour être testé. Seul un numéro d'identification nous permettra de lier les résultats des tests effectués avec votre nom. Le registre comportant votre nom et votre numéro d'identification sera gardé dans une armoire bien fermée ici au CERMES.

La participation à cette enquête est tout à fait volontaire et même si vous refusez de participer, vous aurez les mêmes droits que ceux qui vont participer à l'enquête.

Avez-vous des questions ?

Puis-je vous demander si vous acceptez de participer à cette enquête ? Cependant, si vous décidez de refuser, sachez que vous en avez le droit et que nous respectons votre décision.

Maintenant, pouvez-vous me dire si vous acceptez de participer à l'enquête ?

ACCEPTÉ : 1

REFUSE : 2

SIGNER