

Ministère de l'Éducation
Université de Bamako
Faculté de Médecine de Pharmacie et
d'OdontoStomatologie

REPUBLIQUE DU MALI
Un peuple-Un but-Une foi

Thèse n° 18
Année 2003- 2004

**DEFINITION D'UNE STRATEGIE DE
DEPISTAGE DE L'INFECTION A VIH PAR
DEUX TESTS RAPIDES AU NIGER**

THESE

**Présentée et soutenue publiquement le devant la Faculté de Médecine de
Pharmacie et d'OdontoStomatologie du Mali**

Par : M^{elle} KOUKA HASSANE Nafissa

Pour l'obtention du grade de DOCTEUR EN PHARMACIE

DIPLOME d'ETAT

Membres du Jury :

Président : Pr Amadou DIALLO

Membres :

- Dr Abdrahamane Sideye MAIGA

- Dr Suzanne CHANTEAU

Codirecteur : Dr Pascal Boisier

Directeur de thèse : Dr Ibrahim MAIGA

12

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2002 - 2003

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR

1^{ER} ASSESSEUR : MASSA SANOGO - MAITRE DE CONFERENCES

2^{EME} ASSESSEUR : GANGALY DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

AGENT COMPTABLE : MADAME FATOUMATA TALL - CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA

Mr Bocar SALL

Mr Souleymane SANGARE

Mr Yaya FOFANA

Mr Mamadou L. TRAORE

Mr Balla COULIBALY

Mr Mamadou DEMBELE

Mr Mamadou KOUMARE

Mr Mohamed TOURE

Mr Ali Nouhoum DIALLO

Mr Aly GUINDO

Ophtalmologie

Orthopédie Traumatologie - Secourisme

Pneumo-phtisiologie

Hématologie

Chirurgie Générale

Pédiatrie

Chirurgie Générale

Pharmacognosie

Pédiatrie

Médecine interne

Gastro-Entérologie

LISTE DU PERSONNEL ENSEIGNANT PAR D.E.R. & PAR GRADE

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE

Mr Sambou SOUMARE

Mr Abdou Alassane TOURE

Mr Kalilou OUATTARA

Mr Amadou DOLO

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

Orthopédie - Traumatologie, **Chef de D.E.R.**

Urologie

Gynéco Obstétrique

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Abdoulaye DIALLO

Mr Djibril SANGARE

Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP

Mr Alhousseini Ag MOHAMED

Mr Abdoulaye DIALLO

Mr Gangaly DIALLO

Ophtalmologie

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

O.R.L.

Anesthésie - Réanimation

Chirurgie Viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïda SOW

Mr Salif DIAKITE

Gynéco-Obstétrique

Gynéco-Obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE

Mr. Mamadou TRAORE

Mr Sadio YENA

Mr Filifing SISSOKO

Mr Issa DIARRA

Gynéco-Obstétrique

Gynéco-Obstétrique

Chirurgie Générale

Chirurgie Générale

Gynéco-obstétrique

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Mamadou L. DIOMBANA
Mr Sékou SIDIBE
Mr Abdoulaye DIALLO
Mr Tiéman COULIBALY
Mme TRAORE J. THOMAS
Mr Nouhoum ONGOIBA
Mr Zanafon OUATTARA
Mr Zimogo Zié SANOGO
Mr Adama SANGARE
Mr Youssouf COULIBALY
Mr Samba Karim TIMBO
Mme TOGOLA Fanta KONIPO
Mr Sanoussi BAMANI
Mr Doulaye SACKO
Mr Ibrahim ALWATA
Mr Lamine TRAORE
Mr Mady MAKALOU
Mr Aly TEMBELY
Mr Niani MOUNKORO
Mr Djénèba DOUMBIA
Mr Tiemoko D. COULIBALY
Mr Souleymane TOGORA
Mr Mohamed KEITA

Stomatologie
Orthopédie, Traumatologie
Anesthésie - Réanimation
Orthopédie Traumatologie
Ophtalmologie
Anatomie & Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Orthopédie - Traumatologie
Anesthésie - Réanimation
ORL
ORL
Ophtalmologie
Ophtalmologie
Orthopédie - Traumatologie
Ophtalmologie
Orthopédie/Traumatologie
Urologie
Gynécologie/Obstétrique
Anesthésie/Réanimation
Odontologie
Odontologie
ORL

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO
Mr Bréhima KOUMARE
Mr Siné BAYO
Mr Yéya T. TOURE
Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA
Mr Ogobara DOUMBO

Chimie Générale & Minérale
Bactériologie-Virologie
Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Biologie
Biologie
Chimie Organique
Parasitologie - Mycologie **Chef de D.E.R.**

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE
Mr Anatole TOUNKARA
Mr Amadou TOURE
Mr. Flabou Bougoudogo

Chimie Organique
Immunologie
Histoembryologie
Bactériologie-Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdourahmane S. MAIGA
Mr Adama DIARRA
Mr Mamadou KONE
Mr.Massa SANOGO

Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Physiologie
Chimie Analytique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE
Mr Sékou F.M. TRAORE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Abdourahmane TOUNKARA
Mr Ibrahim I. MAIGA
Mr Moussa Issa DIARRA
Mr Amagana DOLO
Mr Kaourou DOUCOURE
Mr Bouréma KOURIBA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Cheik Bougadari TRAORE

Biologie
Entomologie médicale
Malacologie, Biologie Animale
Biochimie
Bactériologie - Virologie
Biophysique
Parasitologie
Biologie
Immunologie
Bactériologie-Virologie
Anatomie-Pathologie

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY
Mr Mahamadou A. THERA

Hématologie
Parasitologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdoulaye Ag RHALY
Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAIGA
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE
Mr Issa TRAORE
Mr Mamadou M. KEITA
Mr Hamar A. TRAORE
Mr Dapa Aly DIALLO

Médecine Interne
Cardiologie
Néphrologie
Psychiatrie, **Chef de DER**
Neurologie
Radiologie
Pédiatrie
Médecine Interne
Hématologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Toumani SIDIBE
Mr Bah KEITA
Mr Boubacar DIALLO
Mr Somita KEITA
Mr Moussa Y. MAIGA
Mr Abdel Kader TRAORE
Mr Siaka SIDIBE

Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Cardiologie
Dermato-Leprologie
Gastro-entérologie
Médecine Interne
Radiologie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mamadou DEMBELE
Mr Mamady KANE
Mme Tatiana KEITA
Mr Diankiné KAYENTAO †
Mme TRAORE Mariam SYLLA
Mr Adama D. KEITA
Mme SIDIBE Assa TRAORE
Mme Habibatou DIAWARA

Médecine Interne
Radiologie
Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Pédiatrie
Radiologie
Endocrinologie
Dermatologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE
Mr Bougouzié SANOGO
Mr Saharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY
Mr Kassoum SANOGO
Mr Seydou DIAKITE
Mr Mahamadou B. CISSE
Mr Arouna TOGORA
Mme DIARRA Assétou SOUCKO
Mr Boubacar TOGO
Mr Mahamadou B. TOURE
Mr Idrissa A. CISSE
Mr Mamadou B. DIARRA
Mr Anselme KONATE
Mr Moussa T. DIARRA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Daouda K. MINTA
Mr Soungalo DAO

Psychiatrie
Gastro-entérologie
Néphrologie
Psychiatrie
Cardiologie
Cardiologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Médecine Interne
Pédiatrie
Radiologie
Dermatologie
Cardiologie
Hépatogastro-entérologie
Hépatogastro-entérologie
Pneumologie
Psychologie
Maladies infectieuses
Maladies Infectieuses

5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO

Neurologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA †	Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA	Pharmacie Chimique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Boukassoum HAIDARA	Législation
Mr Elimane MARIKO	Pharmacologie, Chef de D.E.R.

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Drissa DIALLO	Matières Médicales
Mr Alou KEITA	Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA	Toxicologie
Mr Yaya KANE	Galénique

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique, Chef de D.E.R.
---------------------	---------------------------------------

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA	Santé Publique
--------------------	----------------

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique
--------------------	----------------

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Bocar G. TOURE	Santé Publique
Mr Adama DIAWARA	Santé Publique
Mr Hamadoun SANGHO	Santé Publique
Mr Massambou SACKO	Santé Publique
Mr Alassane A. DIKCO	Santé Publique

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA
Mr Boubou DIARRA
Mr Salikou SANOGO
Mr Bokary Y. SACKO
Mr Boubacar KANTE
Mr Souleymane GUINDO
Mme DEMBELE Sira DIARRA
Mr Modibo DIARRA
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA
Mr Arouna COULIBALY
Mr Mahamadou TRAORE
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Yaya COULIBALY
Mme Rokia SANOGO
Mr Boubacar TRAORE
Mr Saïbou MAIGA
Mr Ousmane KOITA
Mr Samba DIOP
Mr Seydou DOUMBIA
Mr Oumar THIERO
Mr Mangara M. BAGAYOGO
Mr Guimogo DOLO
Mr Abdoulaye TOURE
Mr Djibril SANGARE
Mr Mouctar DIALLO

Botanique
Bactériologie
Physique
Biochimie
Galénique
Gestion
Mathématiques
Nutrition
Hygiène du Milieu
Mathématiques
Génétique
Psychologie Médicale
Législation
Pharmacognosie
Pharmacognosie
Législation
Parasitologie Moléculaire
Anthropologie Médicale
Epidémiologie
Biostatistique
Entomologie Moléculaire Médicale
Entomologie Moléculaire Médicale
Entomologie Moléculaire Médicale
Entomologie Moléculaire Médicale
Biologie Parasitologie

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA
Pr. Babacar FAYE
Pr. Eric PICHARD
Pr. Mounirou CISSE
Pr. Amadou Papa DIOP

Bromatologie
Pharmacodynamie
Pathologie Infectieuse
Hydrologie
Biochimie

TABLE DES MATIERES

Pages

I. INTRODUCTION.....	4
II. GENERALITES SUR LE VIH.....	9
1. HISTORIQUE DU VIH/SIDA.....	9
2. EPIDEMIOLOGIE.....	9
2-1. Agent causal.....	9
2.1.1. Structure.....	10
2.1.2. Organisation génétique.....	11
2.1.3. La réplication virale	11
2.1.4. La variabilité génétique	13
2.2. Distribution des cas d'infection à VIH/SIDA dans le monde	13
2.2.1 Situation mondiale	13
2.2.2. Situation au Niger	15
2.3. Modes de transmission	16
2.3.1. Voie sexuelle.....	16
2.3.2. Voie sanguine.....	17
2.3.3. Voie materno- foetale et périnatale.....	18
2.3.4 Autres voies de transmission	18
2.4. Actions de prévention	18
2.4.1. La prévention de la transmission sexuelle	19
2.4.2. La prévention de la transmission sanguine.....	19
2.4.3. La prévention de la transmission mère – enfant (TME)	20
2.4.4. La prévention des infections sexuellement transmissibles	21
3- DEFINITION CLINIQUE DU SIDA	22
3.1. Définition clinique du SIDA de l'adulte en Afrique	22
3.2. Définition clinique du SIDA chez l'enfant selon O.M.S	22
4. LES TECHNIQUES ET LES STRATEGIES DE DEPISTAGE DU VIH.....	23
4.1. Les échantillons utilisés pour les tests de dépistage du VIH	23
4.1.1. Analyse de sang.....	23
4.1.1.1. Sérum et plasma	23
4.1.1.2. Le sang total sur papier filtre	24
4.1.1.3. Avantages et inconvénients du sang total, du sérum et du plasma	25
4.1.1.3.1. Avantages	25
4.1.1.3.2. Inconvénients	25
4.1.2. Analyse d'urine et de salive.....	26
4.1.2.1. Avantages et inconvénients des échantillons d'urine et de salive	27
4.1.2.1.1. Avantages	27
4.1.2.1.2. Inconvénients.....	27
4.2. Les techniques de dépistage du VIH.....	28
4.2.1. Les indications	28
4.2.2. Les techniques.....	28



DEDICACES

Je dédie ce travail :

A la mémoire de ma mère Ramatoulaye OUEDRAOGO

Nous te devons tout, tu as suscité en nous cet amour qui nous unit. Tu n'as jamais ménagé tes efforts pour les nombreux sacrifices que tu as consentis pour nous, tes conseils, et ton optimisme pour notre réussite dans la vie ont permis à l'aboutissement de mes études. Malheureusement tu as été arraché à notre affection, que ce travail soit un gage de mon profond amour. Qu'Allah le tout puissant t'accorde sa grâce et t'accueille dans son paradis Amen.

A mon père Hassane KOUKA

Tes encouragements et tes conseils me m'ont jamais fait défaut Puisses ce travail être d'abord ta récompense avant d'être la mienne.

A Mmes Jacqueline AFODA et Reynatou BADO

Vous avez été à nos côtés dans les moments les plus difficiles.

Votre soutien moral et financier ne nous ont jamais fait défaut. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude et de ma profonde tendresse. Que Dieu puisse vous accorder de nombreuses années d'existence parmi nous . Amen.

A mes sœurs et frères

Le courage et la persévérance sont des armes indispensables pour affronter les difficultés de la vie, or c'est dans les difficultés que naît le courage .

Que ce travail vous serve d'exemple pour réussir dans la vie et Que Dieu guide vos pas. Amen.

A mes cousins et cousines

En témoignage de mes sentiments fraternels, que ce travail vous serve d'exemple afin que vous puissiez faire plus.

A Hassana MAHAMANE ET MARIAMA KONE

Vos encouragements et vos conseils ne m'ont jamais fait défaut merci pour tout

A mes oncles et tantes maternels et paternels

Pour vos encouragements

A decorative horizontal banner with a textured, stippled background. The banner has a slightly raised, three-dimensional appearance with rounded ends. The word "REMERCIEMENTS" is written across the center in a large, elegant, black serif font with a slight shadow effect.

REMERCIEMENTS

A decorative horizontal banner with a textured, stippled background. The banner has a slightly raised, scroll-like appearance at its ends. The word "REMERCIEMENTS" is written across the center in a large, elegant, black serif font with a slight shadow effect.

REMERCIEMENTS

Mes remerciements vont :

Au peuple malien pour son hospitalité

Dr Suzanne CHANTEAU

Directrice du CERMES qui à permis la réalisation de ce travail, vous avez mis à ma disposition tous les moyens nécessaires à la réalisation de ce travail. Trouvez ici l'expression de ma profonde gratitude.

Dr Amina AMADOU

pour ta compréhension, ta patience, et tes contributions précieuses et avisés
merci pour tout.

Dr IBRAHIM Mahamane Laminou, ELHADJ MAHAMANE Ali, Mamane Sani HALADOU, Habsatou MINDADOU, ramatou MOUSTAPHA

pour votre collaboration particulièrement agréable, efficace et amicale, vos réflexions, suggestions et commentaires, merci de votre aide.

Dr Laurent CLER pour votre disponibilité et votre collaboration

Pr Ali Ibrahim TOURE pour votre collaboration à la réalisation de ce travail

Au personnel du CNAT, du CHU et de l'HNN, pour votre collaboration à la réalisation de ce travail

A tout le personnel du CERMES en particulier FATI SIDIKOU, SADOU, ADAMOU, HALIMA, ZOULEY, ISSAKA, AMINA.

A mes promotionnaires

Les durs moments que nous avons passés ensemble ont été forts enrichissants pour nous tous. Nous avons ensemble envisagé un avenir meilleur. Puisse l'ensemble de l'enseignement reçu nous guider dans notre vie active.

A la famille SYLLA trouvez ici toute ma gratitude

A Tous mes amis (es)

TITI, RAMATOU, REKIA, DIDJE, AMY, RACHIDA, RAHILA, MARIE, NAFI, ARIMA, LAWI, AMINOU, MAMANY, SOUL, HADIZA, HABIBOU, DAVID, PELE, MOUSSA, PATRICK.

Vous avez contribué chacun à sa façon au bon cheminement de ces longues années d'études. Je vous serais toujours gré .

A tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail et dont je n'ai pu citer le nom, qu'ils trouvent ici mes sincères remerciements.

*A NOS MAITRES
&
JUGES*

A notre Maître et Président du jury,

Professeur Amadou DIALLO

Professeur agrégé de Biologie animale.

Chargé de cours de Biologie animale et de Zoologie à la FMPOS.

Cher Maître, Vous nous avez fait l'honneur d'accepter de présider notre jury de thèse. Au cours de nos études, nous avons bénéficié de vos connaissances multiples et avons apprécié vos qualités pédagogiques. Trouvez ici l'expression de notre gratitude.

A notre Maître et juge

Docteur Suzanne CHANTEAU

Docteur en Biologie.

Directrice du Centre de Recherche Médicale et Sanitaire (CERMES).

Cher Maître, Malgré vos multiples activités, vous avez accepté de juger ce travail. Merci pour tous vos conseils avisés et votre grande disponibilité. Trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A notre maître et Juge

Docteur Abdrahamane SIDEYE MAÏGA

Maître de conférence en Parasitologie

Chef du service de Parasitologie à l'INRSP

Chargé de cours de Parasitologie à la FMPOS.

Cher Maître, nous vous remercions d'avoir accepté de juger ce travail en dépit de vos multiples occupations, soyez assuré de notre profonde reconnaissance

A notre Maître et Codirecteur

Docteur Pascal BOISIER

Docteur en Médecine.

Docteur en Sciences Médicales et biologiques.

Chef de l'unité d'épidémiologie au CERMES.

Cher Maître, malgré vos multiples tâches, vous avez accepté de diriger ce travail. Votre amabilité et le plaisir constant de servir joints à l'impressionnante atmosphère joyeuse que vous faites régner ont fait de vous un maître très apprécié. Votre modestie n'altère en rien vos exigences constantes de la rigueur scientifique. Trouvez ici l'expression de ma gratitude infinie.

A notre Maître et Directeur de thèse

Docteur Ibrahim I. MAÏGA

Maître Assistant de Bactériologie Virologie à la FMPOS.

Chef du service du laboratoire de Biologie Médicale de l'Hôpital du Point G.

Cher Maître, En dépit de vos occupations multiples vous avez accepté de diriger ce travail. Pendant la réalisation de cette thèse nous avons eu l'occasion d'apprécier votre esprit de synthèse et vos qualités humaines. Cela a été un privilège de travailler avec vous.

PLAN

- I. INTRODUCTION
- II. GENERALITES SUR LE VIH
- III. METHODOLOGIE
- IV. RESULTATS
- V. COMMENTAIRES ET DISCUSSION
- VI. CONCLUSIONS
- VII. RECOMMANDATIONS
- VIII. BIBLIOGRAPHIE
- IX. FICHE SIGNALETIQUE
- X. ANNEXES

ABREVIATIONS

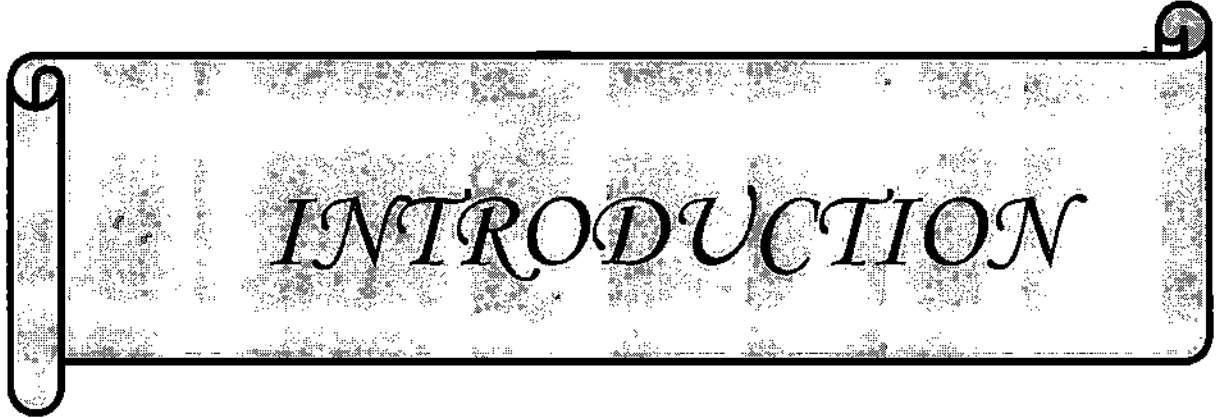
ANRS:	Agence nationale de recherches sur le SIDA
CDC:	Centre for Diseases Control and prevention
CERMES:	Centre de Recherche Médicale et Sanitaire
CM :	Cytomégalovirus
DO :	Densité optique
ELISA :	Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
FN :	Faux négatif
FP :	Faux positif
HSV :	Herpes Simplex Virus
HN L :	Hôpital National de Lamordé
HNN :	Hôpital National de Niamey
IST :	Infections Sexuellement Transmissibles
IRA :	Infections Respiratoires Aiguës
OMS :	Organisation Mondiale de la Santé
PBS :	Phosphate Buffer Saline
PCR :	Polymerase Chain Reaction
PNLS/IST:	Programme National de lutte contre le Sida et les Infections Sexuellement Transmissibles
RT :	Reverse Transcriptase
SIDA :	Syndrome de l'ImmunoDéfiance Acquise
TI :	Transcriptase inverse
TME :	Transmission Mère Enfant
VIH :	Virus de l'Immunodéfiance Humaine
VN :	Vrai Négatif
VP :	Vrai Positif

4.2.2.1. Tests immuno-enzymatiques	29
4.2.2.1.1. Description générale	29
4.2.2.1.3. Les tests ELISA	31
4.2.2.1.3.1. ELISA indirects	32
4.2.2.1.3.2. ELISA par compétition	33
4.2.2.1.3.3. ELISA de capture d'antigènes	33
4.2.2.2. Tests rapides	34
4.2.2.2.1. Description générale	34
4.2.2.2.2. Caractéristique des tests rapides	34
4.2.2.2.3. Les épreuves d'agglutination	36
4.2.2.2.4. Les épreuves dot blot	38
4.2.2.2.5. Epreuves utilisant des protéines recombinantes	38
4.2.2.2.6. Epreuves utilisant les peptides synthétiques	39
Leur spécificité est suffisante pour discriminer entre le VIH1 et le VIH	39
4.2.2.3. Les tests sémi-rapides (mini ELISA)	41
4.2.2.4. Les épreuves de confirmation de l'infection par le VIH	41
4.2.2.4.1. Western blot	41
4.2.2.4.2. Immunofluorescence indirecte (IFA)	42
4.2.2.4.3. Radio-immunoprécipitation (RIPA)	42
4.2.2.5. Marqueurs biologiques de l'infection due au VIH	43
4.2.2.5.1. ARN-VIH plasmatique ou mesure de la charge virale plasmatique	43
4.2.2.5.2. Antigénémie P 24	44
4.2.2.5.3. ADN proviral	44
4.2.2.5.4. Détection des Anticorps anti-VIH	45
4.2.2.5.5. Isolement du virus	45
4.2.3. Stratégies pour la recherche des anticorps anti-VIH	48
4.2.3.1. Objectifs du test	48
4.2.3.2. Sensibilité et spécificité des tests	49
4.2.3.3. Prévalence de l'infection à VIH	50
4.2.3.4. Les stratégies de dépistage du VIH recommandées par l'ONUSIDA et l'OMS	51

III. METHODOLOGIE

3.1. Cadre de l'étude	54
3.1.1. Présentation du Niger	54
3.1.1.1. Situation géographique	54
3.1.1.2. Situation démographique	56
3.1.1.3. Situation socioculturelle	56
3.1.1.4. Situation économique	57
3.1.1.5. Situation sanitaire	57
3.1.2. Présentation du centre de recherche médicale et sanitaire (CERMES)	59
3.2. MATERIEL ET METHODES	62
3.2.1. Matériel	62
3.2.1.1. Population d'étude	62
3.2.1.2. Réactifs de l'étude	62
3.2.2. Méthodologie	62
3.2.2.1. Technique de collecte et stockage des échantillons avant analyse	62

3.2.2.2. Analyses des échantillons.....	63
3.2.2.3. Considérations éthiques.....	65
3.2.2.4. Analyse des données	65
IV. RESULTATS.....	67
4.1. Statut VIH des sujets recrutés	67
4.2. Cas particuliers des 5 sujets de statut « VIH Indéterminés ».....	67
4.3. Détermination de la performance diagnostique des tests rapides	70
4.3.1. Test DETERMINE	70
4.3.2. Test GENIE II.....	71
4.3.3. Test DOUBLECHECK Gold	73
4.3.4. Test INO ⁻ CHECK.....	75
4.3.5. Test CAPILLUS.....	76
4.4. Choix de l'algorithme.....	82
V - COMMENTAIRE ET DISCUSSION.....	90
5. 1. Tests sanguins.....	90
5.2. Tests urinaires	94
5.3. Algorithme de dépistage.....	96
5.3.1. Détermination d'une stratégie de dépistage utilisant deux tests rapides	96
5.3.2. Choix de la stratégie « Tests rapides » : sélection des deux algorithmes les plus performants.....	97
VI - CONCLUSION.....	100
VII – RECOMMANDATIONS.....	102
VIII – REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	104
IX. FICHE SIGNALÉTIQUE.....	113
X - ANNEXES.....	115



INTRODUCTION

I. INTRODUCTION

L'épidémie d'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) frappe actuellement tous les pays du globe, mais revêt une gravité particulière dans les pays en voie de développement, ébranlant des structures sanitaires fragiles, et s'ajoutant encore aux problèmes de santé endémiques.

Selon les estimations de l'OMS et de l'ONUSIDA, il y avait au total dans le monde 42 millions de personnes vivant avec le VIH/SIDA en 2002, dont 38,6 millions d'adultes (19,2 millions de femmes) et 3,2 millions d'enfants de moins de 15 ans (38, 40) Le continent le plus touché reste l'Afrique Subsaharienne avec 2,4 millions de personnes tuées en 2002, et 3,5 millions de nouveaux cas.

Avec un taux de séroprévalence du VIH de 0,87% dans la tranche d'âge de 15 à 49 ans, en population générale, le Niger est l'un des pays de l'Afrique Subsaharienne les moins touchés par l'épidémie. Néanmoins, les résultats montrent que le Niger est en pleine phase d'extension (7).

La stratégie conventionnelle du diagnostic de l'infection par le VIH, associe le dépistage des anticorps spécifiques par une technique immuno-enzymatique de type ELISA, suivi de la confirmation d'un résultat positif par un test très spécifique, comme le western blot (39).

Le dépistage du VIH selon cette stratégie s'avère souvent difficile dans les pays en développement en raison de plusieurs facteurs: coût élevé des tests utilisés, rareté de matériels et équipements adéquats, manque de personnel qualifié, difficulté d'interprétation des résultats, délais longs d'obtention des résultats.

La sensibilité qui caractérise le phénomène SIDA lié surtout aux considérations éthiques, sociales, juridiques etc. impose un diagnostic exact.

Eu égard à cela, le choix d'une stratégie alternative de diagnostic de l'infection par le VIH, aussi fiable, s'impose pour les régions ayant de faibles capacités en laboratoires.

L'apparition d'une nouvelle génération de tests rapides très sensibles et très spécifiques a permis de répondre à ce besoin.

En effet, les tests rapides sont des tests qui donnent des résultats fiables en quelques minutes sans nécessiter d'équipements ou de grosses infrastructures, ce qui les rend particulièrement adaptés aux centres de conseil et de dépistage et aux services de consultations prénatales pour la prévention de la transmission mère-enfant du VIH.

Les tests simples rapides permettraient d'étendre les services de dépistage à beaucoup d'hôpitaux dans les zones rurales, qui souvent manquent d'équipements de laboratoire de base.

Ces stratégies dites alternatives, plus simples et moins coûteuses, semblent beaucoup plus adaptées à la réalité des pays en développement (25,42).

Elles consistent à faire un premier test de dépistage privilégiant la sensibilité suivie d'un deuxième test de dépistage privilégiant la spécificité et ceci sans faire appel au test de confirmation par le western blot.

Plusieurs combinaisons de tests ont été expérimentées pour une approche de diagnostic, et l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) recommande d'utiliser des stratégies alternatives basées sur l'utilisation de combinaisons de tests rapides et/ou d'ELISA(39).

Notre présente étude avait pour buts :

Objectif général

Déterminer un algorithme de dépistage de l'infection à VIH associant deux tests rapides au Niger.

Objectifs spécifiques

- ✓ évaluer sur des types d'échantillons cliniques différents, les valeurs intrinsèques de cinq tests rapides, en référence à l'algorithme ELISA défini pour le Niger ;
- ✓ répertorier les avantages et inconvénients opérationnels de chaque test rapide ;

- ✓ proposer un ou deux algorithmes de dépistage de l'infection à VIH par l'utilisation séquentielle de deux tests rapides différents ;
- ✓ calculer les valeurs prédictives positives et négatives de chaque test rapide séparément, et de l'association de deux tests sélectionnés, dans le contexte d'une application en population générale au Niger.



GENERALITES

II. GENERALITES SUR LE VIH

1. Historique du VIH/SIDA

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.

En juin 1981, 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 Acquisée). 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 (VIH).

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 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 (respectivement p24 ou p25). Une protéine de 18kda (p18), la protéine de matrice, 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 gp120 ou la gp120 à la surface du virus. Cette gp120 permettra la fixation du virus sur son récepteur cellulaire (19).

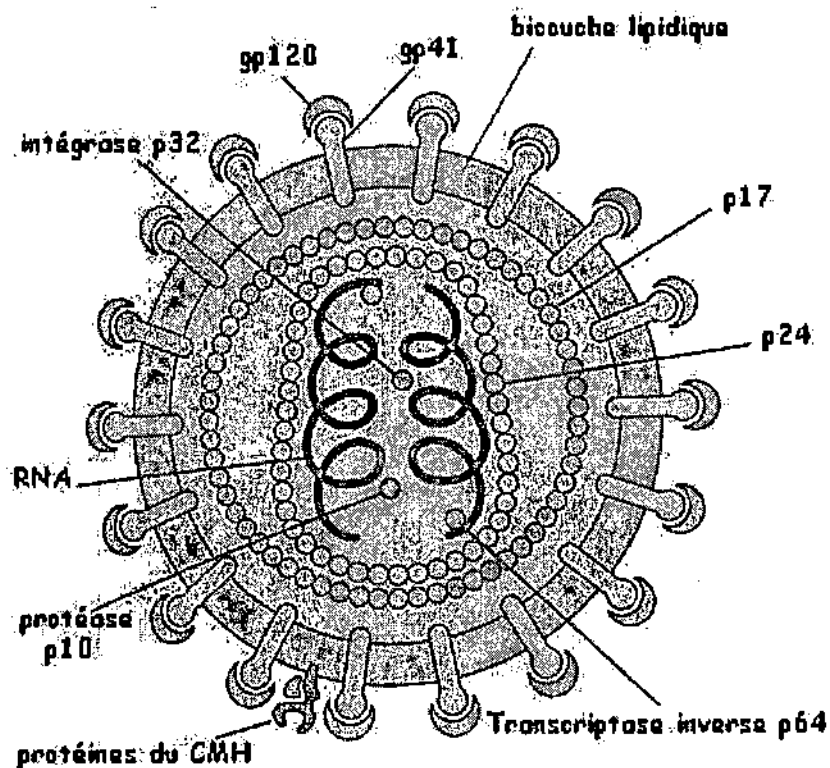


Figure 1 : Structure du VIH - 1

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 les protéines structurales respectivement du noyau et de l'enveloppe, le gène *pol* (pour polymérase) code les enzymes virales(24).

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

Le gène *pol* code 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 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 (gp 41 pour le VIH-I, de gp32 à gp41 pour le VIH-II)

La plupart des autres gènes (gènes *tat*, *rev*, *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.

2.1.3. La réplication virale (21,24)

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 T

portant l'antigène CD4 (lymphocyte T 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 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 (31,49)

L'analyse phylogénétique de nombreuses souches du VIH-I 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 classés 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 %) (31).

2.2. Distribution des cas d'infection à VIH/SIDA dans le monde

2.2.1 Situation mondiale (38,40)

L'infection à VIH/SIDA évolue actuellement de manière 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'OMS et de l'ONUSIDA, il y avait au total dans le monde 42 millions de personnes vivant avec le VIH/SIDA en fin 2002, dont 38,6 millions d'adultes (19,2 millions de femmes) et 3,2 millions d'enfants de

moins de 15 ans. On estime aussi que 5 millions de personnes ont été infectées par le VIH en 2002. L'épidémie de VIH/SIDA continue d'être la cause de nombreux décès (3,1 millions en 2002).

Au 22 novembre 2002, le nombre total des cas de sida officiellement notifié à l'OMS était de 2 822 111. Au cours de l'année 2002, en Afrique Subsaharienne, le sida a tué 2,4 millions de personnes et le nombre de nouveaux cas d'infection à VIH était estimé à 3,5 millions.

Entre 1992 et 2002, le nombre estimatif de personnes vivant avec le VIH/SIDA a presque triplé, passant de 10 822 753 à 29 115 679 et l'Afrique reste la région la plus touchée.

Les 21 pays où le taux de prévalence est le plus élevé se trouvent en Afrique (40). Un quart des adultes sont infecté au Botswana et au Zimbabwe et plus de 10% le sont dans au moins 10 autres pays africains.

Le VIH/SIDA continue de se propager dans toutes les régions du monde, mais dans certaines plus que dans d'autres.

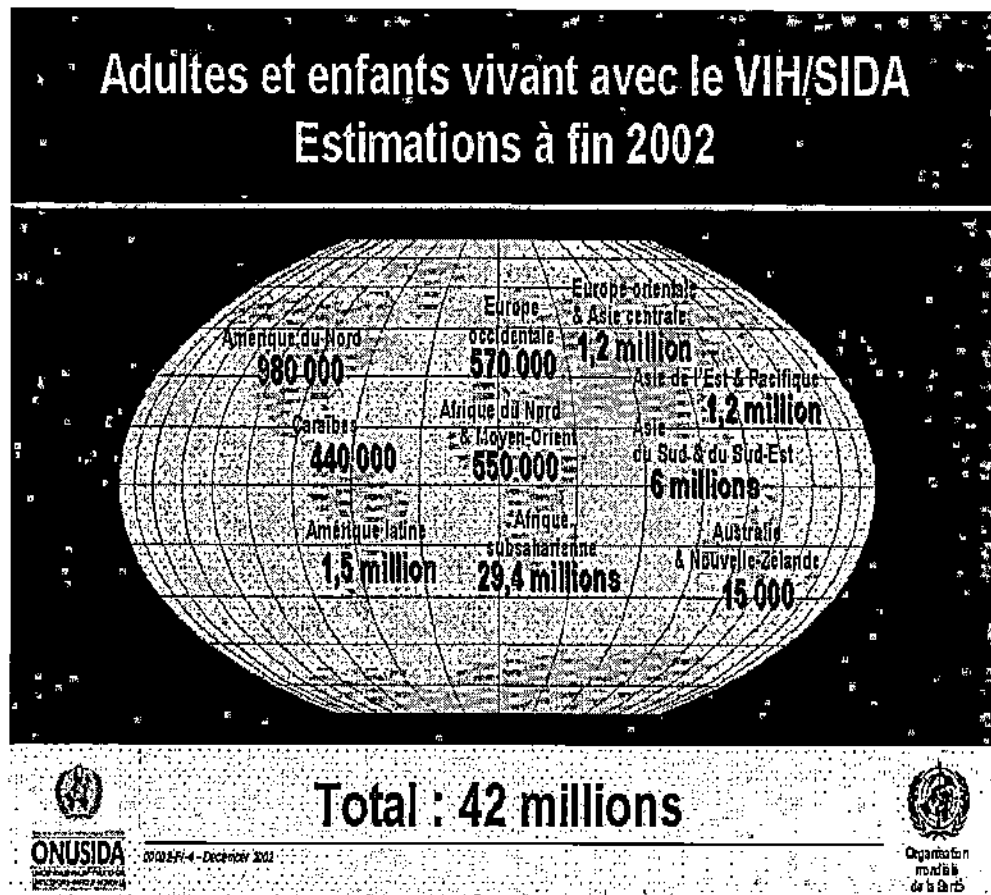


Figure 2 : Distribution des cas d'infection à VIH/SIDA dans le monde

2.2.2. Situation au Niger (7, 53)

Le premier cas de sida a été signalé en 1987 à Arlit, région d'Agadez dans le nord du pays. Treize ans après, 5598 cas de VIH/SIDA 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.

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.

En 2002, selon une enquête faite en population générale sur des sujets âgés de 15 à 49 ans, le taux de séroprévalence était de 0,87% (avec un intervalle de confiance à 95 % de [0,5% -1,3 %]). Selon cette même enquête, le taux de

séroprévalence varie en fonction des groupes cibles, toutefois il est plus élevé chez les professionnelles du sexe où il atteint 25,6%, les militaires 3,8% et les prisonniers 2,8%.

Sur la base d'une population nationale estimée à 10 586 772 habitants (Résultats provisoires RGP/H-2001, Avril 2002) dont 4 584 072 sujets âgés de 15 à 49 ans, l'effectif des séropositifs dans cette tranche d'âge au Niger est compris entre 22 134 et 57 735 personnes (avec un intervalle de confiance à 95% de 8 627 et 21 460 en zone rurale et de 13 507 et 21 460 en zone urbaine).

Avec un taux de prévalence de l'infection par le VIH inférieur à 1% dans la tranche d'âge de 15 à 49 ans, le Niger est l'un des pays de l'Afrique Subsaharienne les moins touchés par l'épidémie.

Néanmoins, les résultats montrent que le Niger est en pleine phase d'extension dans la population générale et qu'il est urgent de prendre les mesures nécessaires afin d'arrêter cette extension tant que c'est encore possible.

2.3. 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 dans la plupart des cas par voie sexuelle, voie sanguine et voie materno-fœtale et périnatale.

2.3.1. 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 est également imputable à cette forme de transmission (24)

Les rapports sexuels entre hommes constituent l'un des principaux moteurs de l'épidémie de VIH dans de nombreux pays développés et dans certaines régions de l'Amérique. 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

2.3.2. 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,
et 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 $\frac{1}{4}$ d'entre elles n'ont pas fait l'objet de dépistage afin de détecter des anticorps anti-VIH (15)

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 $\frac{2}{5}$ en Argentine et en République Islamique d'Iran (24).

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 (15).

2.3.3. 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 (46). 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 (22, 51). 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,
et une exposition intense du fœtus aux liquides organiques de la mère infectée, pendant la gestation ou lors de l'accouchement.

2.3.4 Autres voies de transmission

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

2.4. Actions de prévention

Considérée à l'origine comme un objectif à court terme, la mise au point d'un vaccin préventif efficace contre l'infection par le VIH demandera sans doute encore de nombreuses années.

Aussi, en absence de traitement antiviral radicalement efficace en l'état actuel des connaissances, on s'accorde à reconnaître que la prévention demeure la pièce maîtresse de toute stratégie de lutte contre la propagation du virus causal.

2.4.1. 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.

2.4.2. La prévention de la transmission sanguine

Les moyens sont connues 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.

2.4.3. 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. 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 voie intraveineuse pendant le travail puis pendant 6 semaines au nourrisson non nourri au sein réduit de deux tiers le risque de TME (51).

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

Les autres interventions susceptibles de prévenir la TME actuellement à l'étude sont : (51)

- 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 mucosités de la filière d'expulsion ;
- L'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 le VIH du nouveau né,
- Les autres adaptations de l'obstétrique peuvent contribuer à réduire le contact entre le nouveau né et les liquides organiques infectés de la mère. Il peut s'agir par exemple d'éviter les épisiotomies, la rupture artificielle de membrane.

2.4.4. 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.

3- Définition clinique du SIDA

3.1. Définition clinique du SIDA de l'adulte en Afrique (41)

On considère qu'un adulte ou un adolescent (plus de 12 ans) est atteint de SIDA, s'il présente au moins deux signes majeurs suivants accompagnés d'au moins un 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

- amaigrissement > à 10 %
- diarrhée > 1 mois (continue ou intermittente)
- fièvre > 1 mois (continue ou intermittente)

signes mineurs

- toux > 1 mois
- dermatite prurigineuse généralisée
- zona récidivant
- candidose oropharyngée
- herpès virose chronique
- lymphadénopathie généralisée

Signes d'exclusion

- cancer
- malnutrition sévère
- autre étiologie

La présence d'un sarcome de Kaposi agressif ou d'une méningite à cryptocoque prouvée est suffisante pour poser le diagnostic de SIDA.

3.2. Définition clinique du SIDA chez l'enfant 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
- infections banales récurrentes
- toux chronique (plus d'un 1 mois)
- dermatose généralisée
- candidoses oropharyngées
- infection à VIH confirmée chez la mère

4. Les techniques et les stratégies de dépistage du VIH

4.1. Les échantillons utilisés pour les tests de dépistage du VIH (42,44)

Pour le diagnostic biologique du VIH plusieurs types de prélèvements peuvent être utilisés : sérum, plasma, sang total, salive et urine.

Le choix du prélèvement dépend :

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

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

4.1.1. Analyse de sang

4.1.1.1. Sérum et plasma

Le sérum et le plasma sont des produits acceptables pour la plupart des méthodes de dépistage du VIH.

4.1.1.2. Le sang total sur papier filtre (30)

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 grande envergure ainsi qu'aux échantillons pédiatriques.

Le sang est obtenu 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 recueillir le sang en vue d'un examen sérologique.

- Munktell IF®
- Glassfibre® paper
- Munktell® 1600
- Schleicher and schüell®
- Sérobuvard LDA²²®
- 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 noter une baisse notable d'anticorps.

Dans les pays de forte humidité, on peut utiliser un dessiccateur 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.

4.1.1.3. Avantages et inconvénients du sang total, du sérum et du plasma

4.1.1.3.1. Avantages

- Ils contiennent de plus fortes concentrations d'anticorps anti-VIH que l'urine ou la salive.
- Un seul prélèvement peut être soumis à des tests supplémentaires courants (par exemple, dépistage de la syphilis, de l'hépatite B, de l'hépatite C).
- Ils peuvent se prêter à des études spéciales (par exemple, typage du VIH [VIH -1 ou VIH-2], sous-typage du VIH, résistance aux antirétroviraux).
- Ils sont faciles à prélever et à analyser dans un cadre clinique lorsqu'il y a un laboratoire et un agent qualifié pour pratiquer la prise de sang.
- Ils sont faciles à prélever dans un cadre non clinique (sang total par piqûre du bout du doigt).

4.1.1.3.2. Inconvénients

- Ils exigent une technique de prélèvement invasive.
- Ils exigent un technicien qualifié (pour prélever et traiter le sérum ou le plasma).
- Par rapport à l'urine et aux sécrétions buccales, ils exigent davantage de matériel (par exemple, aiguilles, tubes ou lancettes) et des installations de traitement des déchets biologiques dangereux.
- Il est difficile de prélever du sérum ou du plasma dans un cadre non clinique s'il faut pratiquer une ponction veineuse.
- Par rapport aux sécrétions buccales, le risque d'exposition par mégarde est plus grand pour les agents de santé et les techniciens en raison de l'utilisation d'un instrument pointu ou tranchant pour le prélèvement.

4.1.2. Analyse d'urine et de salive

Récemment, des méthodes ont été mises au point concernant des liquides biologiques autres que le sérum, en vue de détecter des anticorps anti-VIH.

La salive et l'urine ont été retenues puisqu'il est facile d'en obtenir des échantillons sans faire de ponction.

En outre, la collecte de salive et d'urine est nettement moins coûteuse que celle du sang. Bien que l'on sache depuis longtemps que la salive contient des anticorps, l'emploi de ce liquide à la recherche d'anticorps n'a pas été systématiquement adopté, sans doute du fait que les épreuves antérieures n'avaient pas la sensibilité suffisante pour détecter de façon fiable les anticorps. Les prélèvements d'urine ou de salive sont indolores et plus simples à réaliser qu'un prélèvement sanguin.

Par ailleurs, si on n'a pas tenté auparavant de concevoir une épreuve de dépistage d'anticorps dans l'urine, c'est probablement parce qu'on considère les anticorps comme trop larges (en masse moléculaire) pour traverser le glomérule des reins, sauf en présence d'organes sérieusement atteints.

De plus, la plupart des chercheurs ont estimé que le pH de l'urine nuirait aux épreuves immunologiques dépendantes du pH.

Selon certaines publications récentes, les nouvelles épreuves égaleraient presque en fiabilité les épreuves qui emploient du sérum, et elles détecteraient des molécules IgG intactes et non pas seulement des fragments.

En conclusion, on peut dire que les épreuves de dépistage des anticorps anti-VIH dans la salive et dans l'urine donnent des résultats prometteurs.

Ces liquides biologiques deviendront peut-être les plus couramment choisis pour la détection de l'infection par le VIH à mesure que la technique progressera.

4.1.2.1. Avantages et inconvénients des échantillons d'urine et de salive

4.1.2.1.1. Avantages

- Il n'y a pas besoin d'un technicien qualifié pour le prélèvement et le traitement des échantillons.
- Ils ne comportent pas de contact avec des instruments de laboratoire éventuellement contaminés, par exemple aiguilles ou lancettes usagées pour lesquelles il faut des installations d'élimination des déchets biologiques dangereux.
- Les sécrétions buccales peuvent être prélevées dans différents environnements notamment non cliniques, sur le terrain.
- Le prélèvement de sécrétions buccales est sans doute mieux accepté par des groupes de population difficiles à atteindre que le prélèvement d'échantillon par ponction veineuse ou par piqûre au bout du doigt. Un pourcentage plus important de la population cible acceptera donc de se soumettre au test.

4.1.2.1.2. Inconvénients

- Les tests immuno-enzymatiques pratiqués sur des échantillons d'urine sont moins sensibles et moins spécifiques que s'ils sont pratiqués sur des prélèvements de sang.
- Les échantillons d'urine doivent être testés dans un laboratoire (test immuno-enzymatique) ; il n'existe pas pour l'instant de test rapide.
- Le prélèvement de sécrétions buccales demande parfois un matériel spécial.
- Les techniques de dépistage actuellement disponibles pour ces types d'échantillons sont limitées.
- Les tests coûtent plus cher que s'ils sont pratiqués sur le sérum ou le plasma.

- Il faut parfois prélever un échantillon supplémentaire (par exemple, du sang) en vue d'une confirmation.

Le sang (sang total, sérum, plasma) est le prélèvement de choix pour les tests parce qu'il contient une plus forte concentration d'anticorps anti- VIH que l'urine ou les sécrétions buccales. Il permet également de faire d'autres tests systématiques, notamment dépistage de la syphilis, de l'hépatite B et de l'hépatite C, ainsi que des études spéciales sur les types et sous-types du VIH et sur la résistance aux antirétroviraux.

4.2. Les techniques de dépistage du VIH

Depuis 1985, le dépistage du VIH est indispensable pour garantir la sécurité des dons de sang, suivre l'épidémie et diagnostiquer les cas d'infection. Il existe aujourd'hui plusieurs épreuves permettant d'adapter les stratégies de dépistage aux conditions épidémiologiques et aux budgets des systèmes de santé nationaux. Les nouvelles techniques y compris les tests simples dont le résultat est instantané sont très prometteuses.

4.2.1. Les indications

La recherche des anticorps anti-VIH est important dans trois situations :

1. Le dépistage
2. La surveillance épidémiologique
3. le diagnostic de l'infection

L'intérêt du dépistage, quand il est positif, est de stabiliser l'évolution de la maladie par le traitement et de protéger l'entourage du malade ; quand il est négatif, il permet de rassurer la personne et de revoir avec elle les stratégies de prévention, le dépistage est un acte de diagnostic.

4.2.2. Les techniques

Les techniques de dépistage du VIH permettent aujourd'hui de mettre en évidence :

- les anticorps anti-VIH (par exemple, test immuno-enzymatique, test rapide, Western blot, immunofluorescence, agglutination de particules) ;
- des antigènes spécifiques du VIH (par exemple, test immuno-enzymatique, recherche des antigènes) ;
- l'acide nucléique du VIH (par exemple, par amplification génique ou par d'autres techniques) ;

pour la surveillance comme pour le diagnostic dans les pays en développement, les techniques qui permettent de mettre en évidence l'antigène du VIH, l'acide nucléique viral ou le VIH proprement dit sont coûteuses, techniquement plus difficiles à appliquer et bien souvent sujettes à des erreurs de laboratoire (42).

Dans la plupart des pays industrialisés, les méthodes actuelles de dépistage font appel à un titrage immuno-enzymatique pour analyser un prélèvement ; s'il est réactif, le résultat est confirmé après analyse par Western blot. Toutefois la génération la plus récente des tests immuno-enzymatiques et des tests rapides est aussi fiable que le Western blot pour la confirmation. De plus, les tests immuno-enzymatiques et les tests rapides sont moins coûteux que le Western blot, ils n'ont pas besoin d'être pratiqués ni interprétés par des spécialistes et ils donnent moins de résultats indéterminés.

4.2.2.1. Tests immuno-enzymatiques (42, 44)

4.2.2.1.1. Description générale

Les tests immuno-enzymatiques reposent sur l'interaction fondamentale antigène-anticorps et peuvent utiliser un lysat de virus entiers ou un ou plusieurs antigènes viraux. Les tout premiers tests donnaient un plus grand nombre de faux positifs que la troisième génération actuelle de tests. Au début, les préparations antigéniques présentaient plus de réactions croisées avec des composants de la cellule hôte (les lignées lymphocytaires humaines sur lesquelles était cultivé le virus). C'est ce qui explique que les prélèvements

initialement réactifs par test immuno-enzymatique aient toujours été confirmés par Western blot. Toutefois, les tests immuno-enzymatiques de deuxième et troisième génération se sont beaucoup améliorés du point de vue de la spécificité et de la sensibilité, si bien qu'ils peuvent être envisagés comme tests de confirmation. Le recours à des protéines recombinantes et à des peptides de synthèse a également amélioré la sensibilité, ce qui a réduit la période de non-réactivité qui suit l'infection initiale par le VIH et a permis de déceler l'infection plus tôt.

La plupart des tests immuno-enzymatiques de dépistage du VIH contiennent des antigènes du VIH-1 et du VIH-2 et ont été optimisés pour pouvoir mettre en évidence des anticorps dirigés contre les deux types du virus.

4.2.2.1.2. Caractéristiques des tests immuno-enzymatiques

Le mieux est de pratiquer ces tests dans un laboratoire régional ou national, car il faut des techniciens de laboratoire qualifiés ayant reçu une bonne formation, du matériel assez complexe (incubateurs, laveurs et spectrophotomètres) qui exige de la maintenance et une source d'énergie constante. Les tests immuno-enzymatiques offrent un maximum d'efficacité pour les laboratoires qui traitent de nombreux prélèvements (plus de 100) par jour ou pour les analyses par lots, qui se pratiquent couramment dans la surveillance sentinelle du VIH. En raison de leur conception, ils ne sont ni adaptés ni rentables lorsque les prélèvements sont peu nombreux. Toutefois, si un laboratoire traite régulièrement au moins 50 prélèvements par jour, les tests immuno-enzymatiques sont sans doute préférables aux tests rapides. Du fait que les laboratoires regroupent souvent les prélèvements en lots et les analysent en même temps, Etant donné que les tests immuno-enzymatiques sont généralement pratiqués au niveau régional ou national, ils n'ont sans doute

qu'une application limitée en milieu rural où l'infrastructure et le matériel de laboratoire sont souvent rudimentaires (Tableau I).

Pratiquer un test immuno-enzymatique coûte entre US \$1 et 2. Si l'on prend en compte les coûts à la fois directs et indirects (technologie, ressources humaines et matérielles nécessaires), le coût réel peut dépasser US \$15 à 20 par test mais si les coûts directs et indirects sont répartis entre tous les programmes (contrôle du sang, diagnostic et surveillance), on arrive à un coût plus réaliste de US \$4 à 6 pour les activités de surveillance.

Les tests immuno-enzymatiques sont efficaces pour les laboratoires qui traitent chaque jour de nombreux prélèvements, ce qui est le cas lorsqu'on pratique la surveillance sentinelle du VIH.

L'ONUSIDA et l'OMS recommandent de choisir des tests immuno-enzymatiques pour les régions qui disposent d'une bonne infrastructure de laboratoire et de personnel qualifié, et pour les hôpitaux qui effectuent au moins 100 tests par jour, car les tests immuno-enzymatiques sont très efficaces pour le dépistage par lots.

4.2.2.1.3. Les tests ELISA (12)

On dispose de toute une gamme d'épreuves ELISA, mais la majorité de celles qui servent à la détection des anticorps anti-VIH sont classées en trois catégories : indirecte, par compétition, et par capture d'antigène.

Les tests ELISA par exemple Genscreen (Bio-rad), vironostika (Organon Teknika) sont des tests sanguins standard de dépistage du VIH signifiant "Enzyme Linked ImmunoSorbant Assay" (ELISA).

Ces tests peuvent être légèrement différents d'un fabricant à un autre, mais la technique de base est la même pour tous.

Les batteries de matériel ELISA comportent des récipients spécialement préparés avec des antigènes VIH collés aux parois, s'il y a des anticorps du VIH dans le prélèvement sanguin ceux-ci se collent aux antigènes.

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.

Toutes les ELISA sont d'exécution facile, mais elles exigent néanmoins une application rigoureuse des procédures.

Tout écart dans les temps d'incubation, les températures ou les volumes peut modifier énormément les résultats.

Les procédures de rinçage doivent être scrupuleusement suivies, et les réactifs doivent être préparés exactement selon les indications.

Il faut mélanger les conjugués complètement, mais soigneusement afin d'éviter de dénaturer l'enzyme.

On doit préparer les substrats immédiatement avant usage et les garder à l'abri de la lumière avant de les ajouter à la préparation.

4.2.2.1.3.1. ELISA indirects

Dans l'ELISA indirecte, les antigènes mimant les VIH de type 1 et 2 sont fixés sur une phase solide. Les anticorps d'un patient infecté s'y fixent, un autre anticorps reconnaissant les anticorps humains et armé d'une enzyme se fixe à son tour et le tout est incubé pendant une période et à une température spécifiques.

Les ELISA indirectes produisent d'autant plus de réaction colorée que la concentration 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 est ajouté séparément, et un rinçage doit précéder l'addition de conjugué et l'addition de substrat. Ces rinçages sont destinés à éliminer les éléments non liés.

4.2.2.1.3.2. ELISA par compétition

Les ELISA par compétition sont différentes dans la mesure où l'anticorps anti-VIH de l'échantillon entre en compétition avec le conjugué (qui est un anticorps dirigé lui 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 d'anticorps de l'échantillon est élevée, très peu de conjugué pourra se lier à l'antigène immobilisé puisque les deux rivalisent pour les sites existant 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 coloration produite.

Les ELISA par compétition exigent au total moins de temps, puisqu'il y a moins d'étapes.

4.2.2.1.3.3. ELISA de capture d'antigènes

Les ELISA de capture d'antigènes peuvent être du genre indirect ou compétitif, et ne diffèrent des précédentes 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 aussi comme ayant une spécificité supérieure à celle des épreuves indirectes, qui emploient des lysats viraux entiers.

Ces tests se réalisent sur de grandes séries (jusqu'à 90 sérums en une fois) et nécessitent en moyenne 2 h 30 de travail.

4.2.2.2. Tests rapides (42, 44)

4.2.2.2.1. Description générale

L'intérêt suscité par les tests de dépistage des anticorps anti-VIH donnant des résultats le jour même et n'exigeant pas de réactif ou de matériel autre que celui de la trousse a débouché sur la mise au point des tests rapides de dépistage du VIH que l'on trouve aujourd'hui.

Ces tests se fondent sur quatre principes immunologiques: agglutination de particules, immunodot (bandelette), immunofiltration (sur membrane) et immunochromatographie (migration tangentielle)

La plupart des tests rapides contiennent des antigènes du VIH -1 et du VIH -2 et permettent de déceler des anticorps dirigés contre l'un et l'autre

Le résultat est positif s'il y a une agglutination ou apparition d'une tache, d'un point ou d'une ligne, selon le type du test. La sensibilité et la spécificité des tests rapides de dernière génération sont analogues à celles des tests immuno-enzymatiques. Bon nombre de tests rapides sont en cours d'évaluation ou sont actuellement utilisés dans les pays en développement pour le dépistage, le diagnostic et la surveillance.

4.2.2.2.2. Caractéristique des tests rapides

Les tests rapides conviennent pour les petits laboratoires qui pratiquent normalement moins de 100 tests de dépistage du VIH par jour, pour les

laboratoires qui n'ont ni électricité ni matériel et pour les régions où les infrastructures de laboratoire sont rudimentaires.

Dans certains cas, même si un laboratoire effectue plus de 100 tests par jour mais uniquement pendant une certaine période de l'année, les tests rapides seront préférables aux tests immuno-enzymatiques.

On peut généralement obtenir le résultat en moins de 45 minutes et il est facile à interpréter. Toutefois, il faut une certaine formation pour pratiquer correctement le test et bien interpréter les résultats.

Les trousse d'épreuve contiennent généralement tous les réactifs nécessaires pour procéder au titrage : il ne faut ni réactif ni matériel supplémentaire. Pour bon nombre de tests rapides, il n'y a besoin ni d'électricité, ni de matériel spécial, ni de réfrigération, ni de personnel très qualifié, encore que quelques-uns d'entre eux exigent une réfrigération des réactifs thermosensibles (43).

Les tests rapides sont utiles là où il n'est ni possible ni facile de pratiquer des tests immuno-enzymatiques et dans des régions où les infrastructures de laboratoire laissent à désirer. Ils peuvent être adaptés aux groupes de population difficiles à atteindre (par exemple toxicomanes I.V., professionnelles du sexe) ou vivant dans des zones reculées, dans ces cas, il n'y aura peut-être pas d'occasion de communiquer les résultats après le contact initial, si bien qu'il faut sans doute pratiquer sur place un test de dépistage et de confirmation le jour même où les prélèvements ont été recueillis.

L'usage de ces tests est recommandé dans les petits laboratoires et pour le dépistage d'urgence dans les pays en développement comme dans les pays industrialisés.

Un test rapide coûte généralement entre US \$1 et 3, soit légèrement plus qu'un test immuno-enzymatique. Toutefois, il peut présenter un meilleur rapport coût/efficacité si l'on prend en considération les coûts supplémentaires du test immuno-enzymatique (c'est-à-dire matériel, infrastructure de laboratoire et

formation des techniciens). Etant donné que le test rapide comporte très peu d'étapes, les risques d'erreur sont moindres qu'avec le test immuno-enzymatique. De plus, la plupart des tests rapides incluent un contrôle de qualité interne. Cependant, lorsqu'on les utilise, il faut mettre au point et appliquer des mesures d'assurance et de contrôle de qualité externes partout où ils sont utilisés (Tableau I).

L'ONUSIDA et l'OMS recommandent de choisir les tests rapides de préférence aux tests immuno-enzymatiques pour les zones reculées, les zones où il n'y a guère ou pas d'infrastructure de laboratoire ainsi que les petits hôpitaux qui pratiquent moins de 100 tests par jour. Dans ces cas, les tests rapides sont préférables, parce qu'ils sont faciles à pratiquer en très peu de temps et que la plupart ont une durée de vie plus longue que les réactifs des tests immuno-enzymatiques (ONUSIDA/OMS, 1998). Les tests rapides sont un instrument idéal au niveau local à cause de leur simplicité et de leur faible coût indirect (notamment en ce qui concerne le matériel et son entretien).

4.2.2.2.3. Les épreuves d'agglutination (12)

Les épreuves employant la technique d'agglutination aux fins de dépistage sont utilisés depuis de nombreuses années pour le diagnostic d'infections diverses, parce qu'elles ont pour la plupart une bonne sensibilité à la détection d'anticorps. 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. Dans les épreuves pour le VIH, on utilise communément comme porteurs des globules rouges du sang, des particules de latex, de gélatine, ainsi que des microbilles. 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.

Les antigènes sont liés sans mode particulier de fixation (c'est-à-dire qu'ils sont passivement absorbés sur les porteurs), aussi cette technique est-elle connue sous le nom d'agglutination passive. Un réseau en treillis se forme entre les particules enduites d'antigène et l'anticorps à mesure que l'anticorps de l'échantillon réagit dans la préparation.

Cette réaction provoque le groupement en masse compacte (agglutination) de particules.

L'une des difficultés possibles et sérieuses, que posent les épreuves d'agglutination, c'est le phénomène de zone.

On entend par phénomène de zone l'inhibition de l'agglutination en présence d'un excès d'anticorps, empêchant ainsi la combinaison voulue (du réseau en treillis). En d'autres termes, les concentrations d'antigène et d'anticorps ne sont pas optimales en vue de groupements en masses. Ceci peut donner lieu à une réaction faussement négative (pas d'agglutination) alors qu'il existe de fortes concentrations d'anticorps.

L'anticorps de l'échantillon ne peut donc être détecté que si on dilue ce dernier et qu'on lui fait subir une deuxième épreuve.

La dilution du sérum fait baisser la concentration des anticorps au point que l'on obtient le dosage optimal d'antigène et d'anticorps, et à ce moment là l'agglutination se produira.

Parfois une réaction équivoque peut avoir lieu en présence du sérum non dilué, laissant à penser qu'il pourrait se produire un phénomène de zone.

Bien qu'il se produise effectivement des phénomènes de zone; les dilutions initiales de l'échantillon selon les indications du fabricant empêchant généralement ce phénomène de poser de graves problèmes au plan de la fiabilité de l'épreuve. Les épreuves d'agglutination sont d'une réalisation facile et n'exigent pas de rinçage.

Il est parfois difficile d'observer des réseaux d'agglutination s'ils sont faibles.

C'est pourquoi il faut analyser les épreuves très soigneusement, généralement à la lumière d'une lampe de haute intensité.

4.2.2.2.4. Les épreuves dot blot

Les épreuves qui utilisent une membrane en papier ou de la nitrocellulose comme support solide sont souvent connues sous le nom d'épreuves dot blot.

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 conjugués anti-immunoglobuline humaine fixés aux enzymes sont employés communément pour la fixation de l'anticorps de l'échantillon, l'addition d'un substrat produit une coloration sur le papier.

Certaines de ces épreuves comportent une tache témoin qui permet d'assurer que l'épreuve est valide et que les réactifs sont bons.

4.2.2.2.5. Epreuves utilisant des protéines recombinantes

Les antigènes recombinants sont produits par l'introduction d'une portion du génome VIH dans le véhicule biologique (à savoir les cellules bactériennes) donnant lieu à la production du produit du gène (antigène) par le véhicule ainsi modifié. L'avantage de cette technique est que l'antigène qu'elle utilise est le seul antigène qui soit produit, puisqu'il a été encodé par un gène particulier.

Ceci donne lieu à la production d'antigènes spécifiques utilisables ensuite pour fabriquer des épreuves sérologiques à spécificité élevée (où on obtiendra peu de faux positifs).

Dans la plupart des cas, les antigènes utilisés dans ces épreuves à antigènes recombinants sont des mélanges d'au moins deux de ces antigènes recombinants, ou portions d'antigènes, ce qui permet de détecter des anticorps

de plusieurs éléments précis. Cette technique comporte cependant un désavantage, il y a aussi des contaminants provenant des éléments du véhicule (c'est-à-dire que le véhicule produit ses propres protéines).

La présence de ces protéines contaminantes peut parfois conduire à des réactions faussement positives. Dans la plupart des cas, cependant, ces épreuves fondées sur des antigènes recombinants sont excellentes.

4.2.2.2.6. Epreuves utilisant les peptides synthétiques

Les peptides synthétiques représentent l'addition la plus récente aux efforts d'amélioration des techniques de dépistage relatives au VIH.

Les épreuves fondées sur cette technique gagnent d'ailleurs en popularité.

Une fois déterminée la séquence des acides aminés d'un antigène, ces acides aminés se combinent dans le même ordre que ceux de l'antigène originel.

De plus, il est possible de synthétiser des portions d'antigènes (épitopes) afin de produire des antigènes qui ne réagissent qu'à des anticorps spécifiques.

Les peptides synthétiques sont constitués d'une chaîne de seulement 10 à 30 acides aminés. Il est par conséquent possible de développer des épreuves sérologiques en utilisant ces peptides hautement spécifiques ou des mélanges de deux ou trois de ces peptides.

Les épreuves ne détecteront que les anticorps aux antigènes (ou épitopes) qui les intéressent. Ces peptides synthétiques sont synthétisés au moyen d'un instrument appelé synthétiseur de protéines.

Puisqu'ils sont de forme relativement pure, on observe un rapport élevé de signal à bruit faible bruit de fond lorsqu'on les essaie, et ils sont essentiellement dépourvus d'éléments contaminants (pas de contaminants de cellules hôtes).

Ces qualités signifient que les épreuves fondées sur les peptides synthétiques sont d'une extrême sensibilité et spécificité, et représente sans doute le meilleur choix pour une épreuve de haute qualité.

Leur spécificité est suffisante pour discriminer entre le VIH1 et le VIH

Tableau I : Comparaison des techniques de dépistage du VIH des tests immuno-enzymatiques et tests rapides

Technique de dépistage du VIH	Echantillons	Avantages	Inconvénients	Coût US \$
Test immuno-enzymatique	Sérum Plasma Gouttes de sang séché Sécrétions buccales Urine	<ul style="list-style-type: none"> • Peut être pratiqué en lots : convient pour 100 échantillons en même temps • Peut être automatisé • Assurance et contrôle de la qualité des laboratoires nationaux et régionaux : plus faciles à contrôler • Coûte moins cher que le test rapide • Repère plus tôt les cas de séroconversion : haute sensibilité, ce qui réduit la période de non-réactivité 	<ul style="list-style-type: none"> • Pas de souplesse dans l'analyse (il faut un nombre minimum pour un maximum d'efficacité) • Exige un technicien qualifié ayant appris à pratiquer le test et à lire les résultats • Demande > 2 heures pour obtenir un résultat (s'il faut pratiquer 2 tests > 5 heures) • Exige un matériel spécial • Exige une maintenance du matériel • Les réactifs doivent être réfrigérés 	1-3
Test rapide	Sérum Plasma Sang total Sécrétions buccales	<ul style="list-style-type: none"> • Convient pour analyser jusqu'à 100 échantillons en même temps • N'exige qu'un minimum de matériel et de réactifs • Peut être pratiqué dans un dispensaire (analyse sur place) • N'exige pas de personnel très qualifié • Résultats très faciles à interpréter • Obtention des résultats < 45 min • Les trousse d'épreuve peuvent être conservées à température ambiante (stabilité accrue) 	<ul style="list-style-type: none"> • Ne convient pas pour analyser > 100 échantillons en même temps. • L'assurance et le contrôle de qualité sont effectués en plusieurs endroits : davantage de contrôles nécessaires • Peut coûter plus cher que le test immunoenzymatique • Le choix de la stratégie de dépistage peut exiger plusieurs échantillons • La variabilité entre lecteurs peut donner des résultats manquant de cohérence pour certains types de titrage (par exemple agglutination de particules) 	1-2

4.2.2.3. Les tests sémi-rapides (mini ELISA)

En dehors des tests ELISA et des tests simples et rapides il existe d'autres tests appelés tests sémi-rapides. Ce sont des tests immunoenzymatiques indirects en phase solide (EIA). Parmi ces tests on peut citer le Genie II (Bio-rad) et ImmunoComb (PBS Orgenics).

4.2.2.4. Les épreuves de confirmation de l'infection par le VIH (3, 12)

Les tests de dépistage sont suffisants pour garantir la sécurité des dons de sang, mais pour poser le diagnostic, c'est-à-dire confirmer un premier résultat positif indiquant la présence du virus, il faut procéder à d'autres tests plus spécifiques. Ces tests, qui permettent de déceler les anticorps spécifiques anti-VIH1 et/ou anti-VIH 2, sont plus chers que ceux utilisés pour le dépistage.

Les tests de confirmation les plus répandus sont le Western blot et les tests immunoblot utilisant des protéines de synthèse (LIA). L'immunofluorescence indirecte est encore utilisée dans certains pays bien qu'elle soit moins sensible que les tests de dépistage de nouvelle génération.

La principale raison d'être des épreuves de confirmation est de s'assurer qu'aucune personne ne soit déclarée à tort comme étant séropositive sur la seule base d'une réaction positive à une épreuve de dépistage.

4.2.2.4.1. Western blot

Le Western blot est sans doute 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 Western blot 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 le WB comporte trois étapes :

La séparation des lysats d'antigènes viraux par la technique de l'électrophorèse en gel de polyacrylamide au dodecyl-sulfate de sodium (SDS).

Le transfert (imprégnation) des antigènes séparés sur de 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.

Il s'agit d'une méthode simple, mais qu'il est nécessaire de suivre très soigneusement et dont les résultats doivent être interprétés de façon rigoureuse.

4.2.2.4.2. Immunofluorescence indirecte (IFA)

Il s'agit d'une épreuve peu coûteuse, d'exécution facile, et qui demande beaucoup moins de temps que la plupart des Western blots.

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.

En effet, il est très important de savoir reconnaître le schéma de fluorescence afin de déceler toute fluorescence éventuelle due à la présence d'éléments antinucléaires, antimitochondriaux, ou d'autres particules anticellulaires.

Plusieurs maladies de l'immunité peuvent entraîner la fixation de ces anticorps, et elles compliqueront la lecture de l'épreuve si bien qu'elles rendront possibles des résultats faussement positifs.

4.2.2.4.3. Radio-immunoprécipitation (RIPA)

L'épreuve de RIPA peut être employée en conjonction avec le western blot 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.

4.2.2.5. Marqueurs biologiques de l'infection due au VIH (3, 4)

Cinq marqueurs peuvent être actuellement utilisés pour le diagnostic biologique d'une infection due au VIH :

- l'ARN-VIH plasmatique (ARN-VIH)
- l'antigène p24 (Ag p24)
- les anticorps anti-VIH (Ac anti-VIH)
- l'ADN proviral (ADN)
- l'isolement du virus

4.2.2.5.1. ARN-VIH plasmatique ou mesure de la charge virale plasmatique

L'ARN-VIH plasmatique est le premier marqueur détectable lors de la primo-infection : 8 à 17 jours (en moyenne 10 jours) après le contact. Le taux d'ARN-VIH (charge virale) est variable et peut atteindre des valeurs élevées : jusqu'à 10^6 - 10^7 copies par ml de plasma. La virémie reste détectable tout au long de la maladie en l'absence de traitement antirétroviral.

La présence d'ARN-VIH dans le plasma témoigne de la réplication virale dans l'organisme. Cet examen quantifie les particules virales libres dans le plasma et permet d'évaluer la quantité de virus dans le sang à tous les stades de l'infection. Il est lourd et à ce jour uniquement disponible en laboratoires hospitaliers. Coûteux, il doit être réservé à des prescriptions justifiées et ne peut être utilisé systématiquement comme outil complémentaires au dépistage.

4.2.2.5.2. Antigénémie P 24

Test de détection précoce des protéines libres du VIH présentes dans le plasma, il est actuellement recommandé pour le diagnostic précoce des contaminations récentes sans signe clinique ou des primo-infections à VIH. Marqueur direct de l'infection, l'Ag p24 est détectable dans le sérum ou dans le plasma entre le 12^e et le 26^e jour après le contage (en moyenne 15^e jour), il est mis en évidence plus tard que l'ARN-VIH plasmatique (4 à 9 jours plus tard). sa détection est possible pendant les phases de répllication virale intense.

Seule la recherche de l'Ag p 24 du VIH-1 est actuellement possible avec les outils biologiques commercialisés, les résultats peuvent être disponibles en 3 à 5 heures.

Facile à réaliser, ce test est disponible dans la plupart des laboratoires d'analyses médicales.

4.2.2.5.3. ADN proviral

La recherche de l'ADN proviral du VIH-1 ou du VIH-2 dans le réservoir cellulaire repose sur l'utilisation d'une technique de biologie moléculaire, la PCR (*polymerase Chain reaction*). Cette technique est généralement pratiquée sur des cellules mononucléées du sang périphérique. Elle 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 le VIH
- Le suivi d'une thérapeutique antivirale
- Le diagnostic de l'infection par VIH chez le nouveau-né, et

- La distinction entre les infections par le 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.

Cette méthode de PCR est extrêmement sensible et spécifique, mais elle est sujette à de faux positifs ou à de faux négatifs si on ne l'exécute pas avec le plus grand soin.

Compliquée, elle exige une parfaite maîtrise des techniques de laboratoire, la plus infime 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.

4.2.2.5.4. Détection des Anticorps anti-VIH

La détection des Ac anti-VIH-1 est possible dans un délai compris entre le 20^e et le 45^e jour après le contage. Après leur apparition, les Ac anti-VIH sont présents pendant toute la durée de l'infection.

Méthode de référence de diagnostic de séroconversion, elle est la seule indiquée pour un dépistage en absence de risque récent.

Ces tests qui permettent de détecter la présence globale des anticorps, sont fiables et rapides.

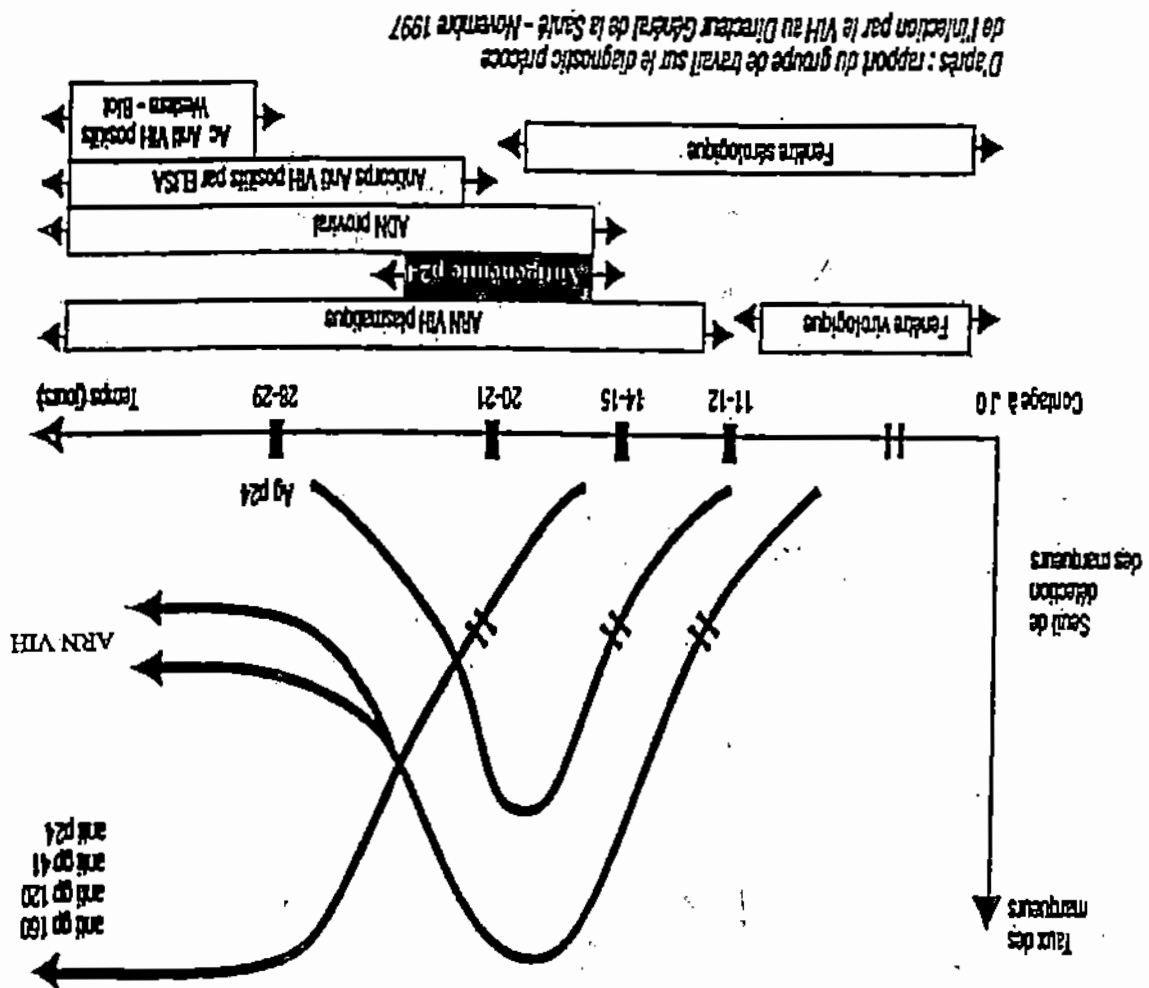
4.2.2.5.5. Isolement du virus

Il s'agit d'une technique réalisée *in vitro* par co-culture des lymphocytes du sujet suspect d'infection, avec des lymphocytes provenant d'un donneur séronégatif. La détection d'une activité « transcriptase inverse » ou de l'Ag p 24 dans le surnageant de culture indique la présence du virus VIH-1 ou VIH-2. Le délai d'obtention des résultats est de 10 à 30 jours. Cette technique est réservée à des laboratoires spécialement équipés, disposant de locaux en conformité avec

les normes de sécurité imposées pour ce type d'activité. Elle n'a pas sa place parmi les examens à réaliser en pratique courante pour le diagnostic biologique d'infection due au VIH.

Figure 3 : Représentation schématique des marqueurs virologiques de l'infection due au VIH au cours de la primo-infection

© Medespace/France Virus



4.2.3. Stratégies pour la recherche des anticorps anti-VIH (39)

En 1992, l'OMS a publié des recommandations concernant le choix et l'utilisation des tests de mise en évidence des anticorps anti-VIH dans le sérum ou le plasma. Elle recommandait trois stratégies de dépistage permettant d'obtenir une exactitude maximale pour un coût minimal.

Le choix d'une stratégie de dépistage, du test ou de la combinaison des tests les plus appropriés repose sur trois critères

- 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

Une fois définis ces trois critères, on peut choisir une stratégie de dépistage du VIH pour augmenter la sensibilité et la spécificité, tout en réduisant les coûts.

4.2.3.1. Objectifs du test

Il existe trois contextes dans lesquels la recherche des anticorps anti-VIH est réalisée :

1. 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. Dans ces cas il est recommandé d'utiliser des tests de haute sensibilité lorsque l'objectif est de réduire au maximum le nombre de résultats faussement positifs. Une confirmation n'est pas forcément nécessaire.
2. 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. La sensibilité est moins cruciale mais par contre l'épreuve choisie doit avoir une spécificité d'au moins 95%.
3. 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. Pour confirmer la

séropositivité d'une personne on utilisera des tests de haute spécificité afin d'éviter les résultats faussement positifs

4.2.3.2. Sensibilité et spécificité des tests (12)

La sensibilité et la spécificité sont des indicateurs de validité intrinsèques des épreuves diagnostiques.

La sensibilité d'un test est sa capacité à identifier correctement les individus qui ont la maladie. C'est le rapport du nombre de patients qui ont un test positif (vrais positifs) sur le nombre total de patients qui ont la maladie. Cette sensibilité est calculée d'après la formule suivante :

$$\text{Sensibilité} = (\text{VP} / (\text{VP} + \text{FN})) \times 100$$

Par contre la spécificité d'un test se définit comme étant sa capacité à identifier correctement les individus qui n'ont pas la maladie. C'est le rapport du nombre de patient qui ont un test négatif (vrais négatifs) sur le nombre total de patient qui n'ont pas la maladie. Elle se calcule comme suit :

$$\text{Spécificité} = (\text{VN} / (\text{FP} + \text{VN})) \times 100$$

Un test très spécifique détectera les anticorps qui sont effectivement dirigés contre le VIH et pas contre un autre antigène, il donnera très peu de résultats faussement positifs.

Ces tests doivent toutefois répondre aux normes en vigueur (sensibilité > 99% et spécificité > 98%) (44). Cependant, l'idéal serait un test spécifique à 100% il ne devrait jamais identifier la présence d'anticorps du VIH quand il n'y en a pas et sensible à 100% il devrait toujours identifier les anticorps quand ils existent

Tableau II : Cadre d'étude des performances diagnostiques

		Maladie	
		Présente	Absente
Test	+	VP	FP
	-	FN	VN

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

4.2.3.3. Prévalence de l'infection à VIH

La prévalence de l'infection dans la population d'où est issue la personne à tester peut avoir une incidence importante sur la probabilité que le résultat du test reflète bien la réalité.

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 provient.

La valeur prédictive positive d'un test 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. Elle est donnée par la formule suivante :

$$VPP = VP / (VP + FP)$$

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

La valeur prédictive négative d'un test est la proportion des tests négatifs qui correspondent 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 :

$$VPN = VN / (FN + VN)$$

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.

Dans les zones de faible prévalence du VIH, si le test n'est pas spécifique à 100%, la plupart des résultats positifs obtenus à l'issue du test initial peuvent être faussement positifs de sorte qu'il faut toujours effectuer des tests supplémentaires pour établir le diagnostic.

4.2.3.4. Les stratégies de dépistage du VIH recommandées par l'ONUSIDA et l'OMS (39)

Les trois stratégies recommandées par l'ONUSIDA et l'OMS s'appuyant sur des combinaisons de tests immuno-enzymatiques ou de tests rapides pour confirmer les tests positifs initiaux, sont décrites ci-dessous (Figure 4). Le premier test (test de dépistage) doit être extrêmement sensible de sorte que l'idéal est d'avoir un test plus sensible pour repérer tous les cas positifs, du fait qu'il y aura quelques faux positifs, Le deuxième test (test de confirmation) doit être extrêmement spécifique pour garantir que tous les résultats réellement négatifs sont repérés comme tels.

Stratégie I

Exige un seul test. A appliquer pour

- Les tests diagnostiques dans des groupes de population où la prévalence du VIH est $>30\%$ parmi les sujets présentant la symptomatologie clinique de l'infection à VIH.
- La qualification biologique du sang, quel que soit le taux de prévalence.
- Les tests de surveillance dans des groupes de population où la prévalence du VIH est $>10\%$ (par exemple tests anonymes non corrélés pour la surveillance parmi les femmes enceintes dans les dispensaires prénatals).

Stratégie II

Exige un maximum de deux tests. A appliquer pour

- Les tests diagnostiques dans des groupes de population où la prévalence du VIH est $\leq 30\%$ parmi les sujets présentant la symptomatologie clinique de l'infection à VIH ou $>10\%$ parmi les sujets asymptomatiques.
- Les tests de surveillance dans des groupes de population où la prévalence du VIH est $\leq 10\%$ (par exemple, tests anonymes non corrélé pour la surveillance dans les dispensaires prénatals ou les dispensaires antivénéériens).

Stratégie III

- Exige jusqu'à trois tests. A appliquer pour les tests diagnostiques dans des groupes de population où la prévalence du VIH est $\leq 10\%$ parmi les sujets asymptomatiques.

Pour les stratégies de dépistage du VIH exigeant plus d'un test (stratégies II et III), la sélection des techniques et l'ordre dans lequel elles sont utilisées (algorithme) sont importants si l'on veut obtenir des résultats précis.

De plus, lorsque la stratégie II ou III est appliquée, il est recommandé d'avoir recours aux tests qui peuvent être pratiqués sur du sérum, du plasma ou des gouttes de sang séché de telle sorte que plusieurs tests puissent être pratiqués.

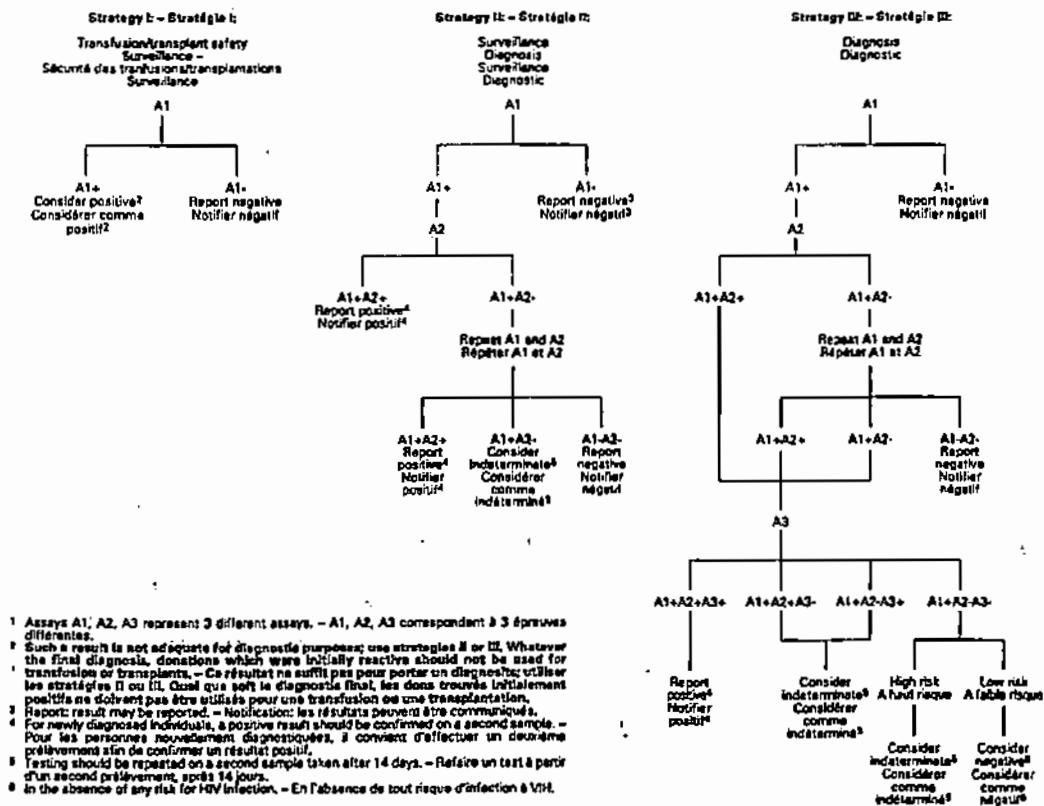


Figure 4 : Représentation schématique des stratégies ONUSIDA et OMS pour le dépistage du VIH



METHODOLOGIE

III. METHODOLOGIE

3.1. Cadre de l'étude

Notre étude a été menée au Centre de Recherche Médicale et Sanitaire à Niamey au Niger (CERMES).

3.1.1. Présentation du Niger

3.1.1.1. Situation géographique

Situé dans les confins de l'Afrique de l'Ouest, le Niger couvre une superficie de 1 267 000 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.

Le relief nigérien est un peu contrasté, le Nord-est est constitué de hauts plateaux (800 à 1000 mètres d'altitude), l'Ouest et le Sud de bas plateaux (200 à 500 mètres d'altitude), le massif de l'Aïr occupe le Nord du 17^{ème} parallèle, bordé à l'Ouest et au Sud par une dépression.

Le fleuve Niger traverse le Sud du pays d'Ouest en Est.

Le climat est tropical, chaud et sec, avec deux saisons qui alternent dans l'année : la saison sèche d'octobre à mai et la saison des pluies de juin à septembre.

Les températures moyennes les plus élevées sont enregistrées entre mars et avril (maximum supérieur à 40°C) tandis que les plus basses le sont de décembre à février (minimum de 8°C).

La pluviométrie définit trois zones climatiques qui partagent le pays :

Au Nord, la zone désertique du Sahara couvrant les 3/5èmes de la superficie du pays. Au Centre, une zone sahélienne qui reçoit des précipitations moyennes de 200 à 500 mm d'eau par an.

Au Sud, une zone soudanienne qui reçoit en moyenne de 600 à 650 mm de pluie par an.

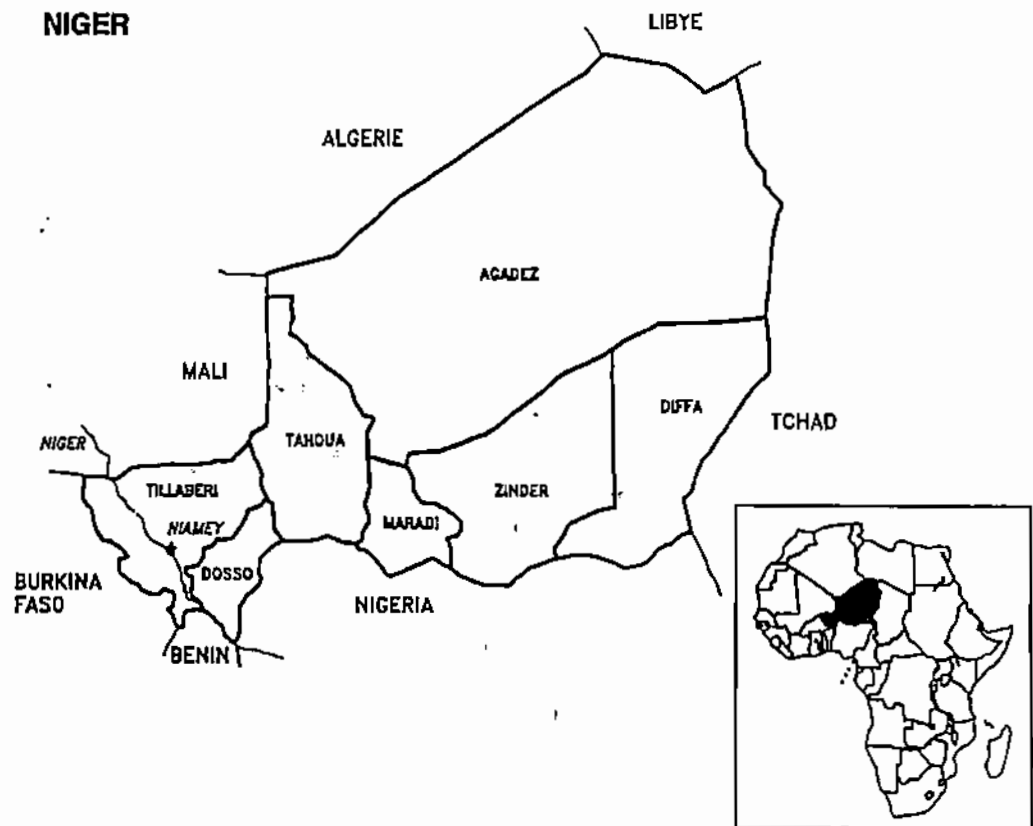


Figure 5 : Situation géographique du Niger

3.1.1.2. Situation démographique

Le Niger est l'un des pays les plus vastes de l'Afrique de l'ouest, l'une de ses caractéristiques majeures est l'inégale répartition de sa population.

En 2002, la population nigérienne était estimée à 10 586 772 habitants avec une densité moyenne de 7,75 habitants/km² (résultats provisoires RGP/H-2001, avril 2002).

Elle croît à un rythme annuel moyen de 3,3% avec un indice synthétique de fécondité de 7,5 enfants. L'espérance de vie à la naissance est de 48 ans.

Le Niger accuse des niveaux de fécondité et de mortalité infantile parmi les plus élevés du monde.

En outre, avec près de 50% de la population ayant moins de 15 ans, la société nigérienne se caractérise par une très grande prédominance de jeunes.

Cette jeunesse de la population est une potentialité majeure pour le développement mais aussi un défi conséquent en terme d'effort d'investissement pour satisfaire les besoins d'éducation, d'emploi, etc...

Les indicateurs socio-démographiques sont les suivants :

Femmes en âge de procréer	: 2 262 781
Taux de natalité	: 53 ‰
Taux brut de mortalité	: 19 ‰
Taux brut d'alphabétisation	: 19,9 %
Taux brut de scolarisation	: 32%
PNB par habitant	: 269 US \$

3.1.1.3. Situation socioculturelle

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

La langue officielle est le Français, les deux principales langues nationales sont le Djerma et le Haoussa.

3.1.1.4. Situation économique

En plus de son contexte socio-démographique contraignant, le Niger doit faire face à une crise économique et financière liée à un environnement géo-économique difficile : désertification croissante, poids excessif de l'endettement extérieur, chute du cours de l'uranium et détérioration des termes de l'échange.

En effet, depuis la chute du cours mondial de l'uranium, le Niger est confronté à des difficultés socio-économiques qui se sont caractérisées par une nette dégradation des finances publiques et un déséquilibre profond de la balance de paiement; tout ceci conduisant à une dégradation des conditions de vie des populations.

Cette crise économique affecte plus particulièrement le monde rural avec comme conséquence, le déficit alimentaire structurel, la dégradation continue de l'écosystème, la paupérisation croissante des campagnes, l'exode rural massif et un état de santé précaire.

Selon le rapport national sur le développement humain (Niger 2000) 63% des nigériens sont pauvres (57).

Mais depuis 1996, une croissance économique positive se situant à 3% (et 3,5% en 1997) a été enregistrée, la correction des déséquilibres semble donc sur la bonne voie. Ainsi donc, la persistance de la crise économique de même que la paupérisation des populations constituent d'importants facteurs qui entravent la lutte contre l'épidémie du VIH/SIDA.

3.1.1.5. Situation sanitaire (52)

Le système de santé au Niger est calqué sur le découpage administratif et comprend trois niveaux :

- Le niveau central ou niveau stratégique constitué du cabinet du ministre et secrétaire d'état, le secrétariat général et les directions nationales ;
- Le niveau intermédiaire qui sert d'appui technique constitué des directions régionales de la santé ;

- Le niveau périphérique ou opérationnel composé de 42 directions départementales de la santé ;

Au plan technique le système de santé est constitué de trois niveaux de prestations à savoir :

- Au premier niveau (périphérique) se trouve l'hôpital départemental, formation située dans une commune urbaine ou un chef-lieu d'arrondissement 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 du Niger se caractérise par une forte prédominance des maladies infectieuses et parasitaires.

Les affections les plus fréquentes sont :

Paludisme, IRA (Infection Respiratoire Aiguë), diarrhée et déshydratation, méningite, rougeole.

Quelques indicateurs sanitaires

– Accès à l'eau salubre	52%
– Couverture sanitaire	42% (0-15 km)
– Taux de mortalité infantile	123,5 ‰
– Taux de mortalité infanto-juvénile	273,8 ‰
– Taux de mortalité maternelle	7 ‰

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

Le CERMES (Centre de Recherche Médicale et Sanitaire) est un institut de recherche dépendant de l' O.C.C.G.E. (Organisation de Coopération et de Coordination pour la lutte contre les Grandes Endémies), organisation inter-étatique regroupant huit pays d'Afrique de l'Ouest (Bénin, Burkina Faso, Côte d'Ivoire, Mali, Mauritanie, Niger, Sénégal, Togo).

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

En deux décennies, le CERMES a acquis une réputation internationale, cet établissement est devenu centre collaborateur OMS pour la recherche et la lutte contre les schistosomoses depuis 1991. Depuis décembre 2000, suite à la dissolution de l'O.C.C.G.E, le CERMES est devenu un établissement nigérien.

Mais le processus de son intégration dans le système national et dans le Réseau International des Instituts Pasteur et Instituts Associés (RIPIA) s'est réalisé lentement.

Le 28 mai 2002, les textes créant le nouveau CERMES en tant qu'établissement public à caractère scientifique, culturel et technique (EPSCT) ont été adoptés par l'Assemblée Nationale.

Le CERMES, sous la tutelle du Ministre chargé de la Santé Publique est régi par l'ordonnance 99-34 du 27 août 1999, portant régime général des EPSCT et par les dispositions de son présent statut.

Il est doté d'une personnalité morale et jouit d'une autonomie administrative et financière, la composition de son Conseil d'Administration et de son Conseil Scientifique sont définies par son statut.

La "renaissance", du CERMES correspond à un grand besoin au Niger car actuellement aucune structure n'a les capacités biologiques de diagnostic, d'expertise ou d'évaluation des problèmes de santé

Aujourd'hui, le CERMES se doit d'une part de pallier la défaillance générale des laboratoires de biologie médicale et d'autre part d'entreprendre des recherches dans deux domaines de santé très préoccupants pour le pays, les méningites et le paludisme.

L'adhésion du CERMES au RIPIA devrait l'aider dans cette nouvelle orientation grâce à l'apport de compétences nouvelles et complémentaires dans les domaines de la biologie, l'entomologie, l'épidémiologie, l'environnement et le climat.

Dans ce partenariat franco-nigérien, l'accent sera également mis sur la formation des cadres, des chercheurs et des techniciens pour la pérennité du centre.

Ce faisant, le CERMES participera à la formation des étudiants de 3^{ème} cycle universitaire (Faculté des Sciences de la Santé de Niamey, Faculté de Pharmacie de Bamako) et des chercheurs-enseignants.

Le CERMES a pour missions :

- La recherche fondamentale, appliquée et opérationnelle dans le domaine médical et sanitaire
- L'appui aux institutions et services nationaux et éventuellement à tout autre Etat, pour tout ce qui concerne la biologie médicale et la santé publique.
- L'expertise des risques et évaluation du programme de lutte contre les endémies
- La formation des cadres sanitaires nationaux ou étrangers.

Pour assurer ses missions, il dispose de quatre unités de recherches :

- L'unité de Biologie
- L'unité d'Epidémiologie
- L'unité d'Entomo-Parasitologie
- L'unité de Santé, Environnement & Climat

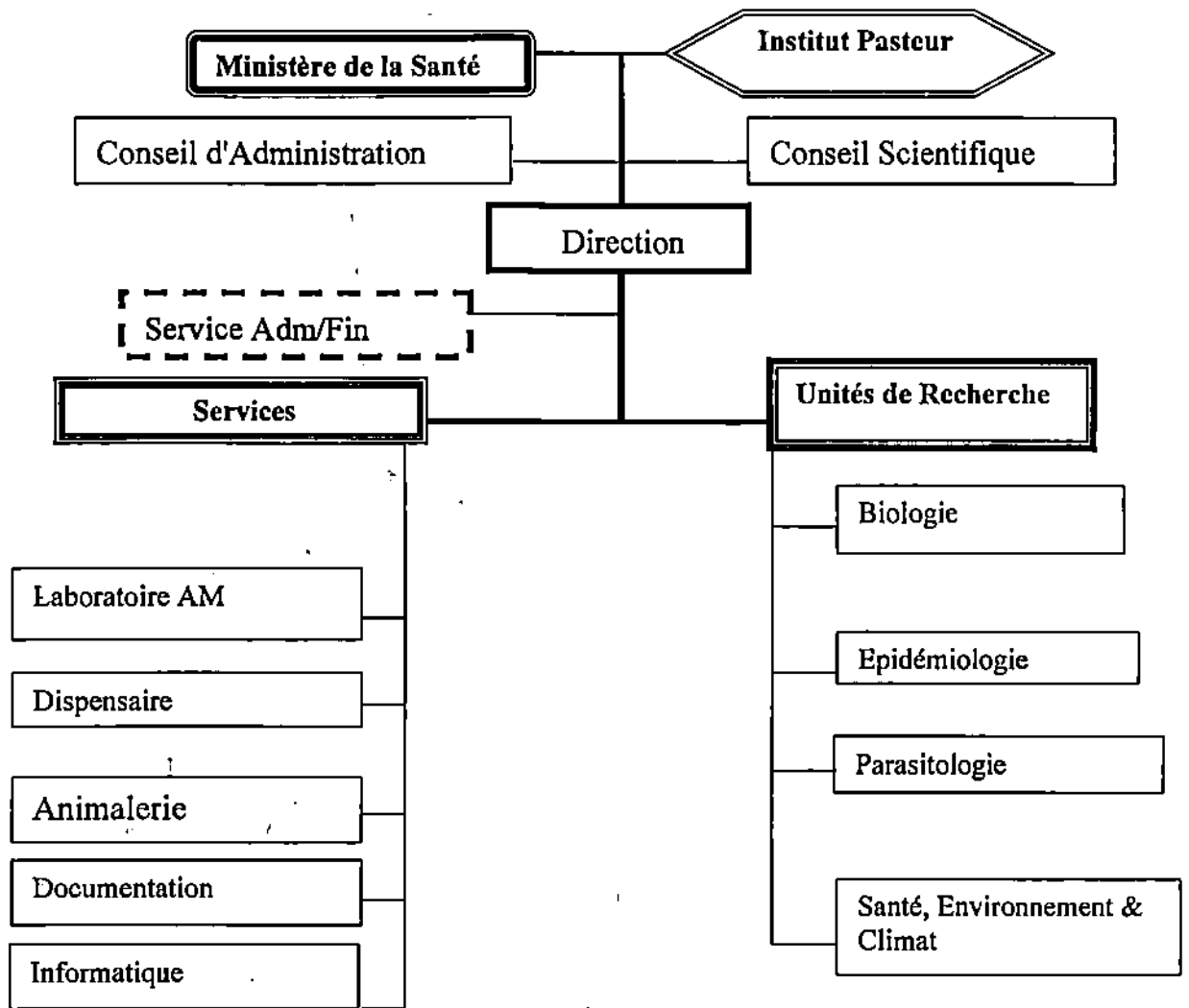


Figure 6 : Organigramme du CERMES

3.2. MATERIEL ET METHODES

3.2.1. Matériel

3.2.1.1. Population d'étude

Sur un total de 207 sujets testés, 114 sont des consultants du laboratoire d'analyses médicales du CERMES, 18 malades tuberculeux du Centre National Anti-Tuberculeux, 47 sujets hospitalisés de l'Hôpital National de Niamey (Pavillon Maladies Infectieuses et Médecine B2), et 28 malades sidéens provenant de l'hôpital National de Lamordé de Niamey.

3.2.1.2. Réactifs de l'étude

Les cinq tests rapides évalués dans cette étude sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau III : Les tests rapides évalués

Nom du test	Fournisseur
Determine ® HIV1/2	Abbott Laboratories
Génie II ® HIV1/2	Biorad
Capillus™ HIV1/2	Trinity Biotech
Double Check Gold™ HIV1/2	PBS Organics
Ino – Check ® HIV1/2	Inodia

3.2.2. Méthodologie

3.2.2.1. Technique de collecte et stockage des échantillons avant analyse

Pour chaque sujet nous avons prélevé :

- du sang capillaire sur sérobuvar LDA²²®

- du sang veineux sur anticoagulant qui a permis de tester du sang total et du plasma après centrifugation
- des urines

Le sang capillaire est obtenu par piqûre au bout du doigt à l'aide d'une lancette de sécurité et déposé sur le Sérobuvar comportant six pastilles calibrées et prédécoupées. Le Sérobuvar est séché à température ambiante pendant 3 h, mis dans des sachets Mini Grip® puis conservés à 2-8°C. Le sang veineux est prélevé dans des tubes stériles Vacutainer, contenant de l'EDTA comme anticoagulant. Dès l'arrivée au laboratoire du CERMES, une goutte de sang entier a été utilisée pour chacun des 5 tests rapides. Le reste du tube a été centrifugé à 1500 t/mn pendant 5 mn. Le plasma a été prélevé et testé le même jour avec les tests rapides. Le reste du plasma a été conservé dans des cryotubes à - 20 °C pour les tests de référence ELISA.

Les urines ont été recueillies dans des pots stériles en polypropylène et testées le même jour avec les tests rapides. Un aliquot a été congelé à - 20 °C pour des contrôles éventuels.

3.2.2.2. Analyses des échantillons

Tous les échantillons cliniques ont été testés en aveugle dans l'unité d'immunologie du CERMES avec chacun des cinq tests rapides en suivant le mode opératoire technique indiqué dans chaque notice d'utilisation du laboratoire fournisseur. La température ambiante du laboratoire dans lequel ces tests ont été réalisés au CERMES est comprise entre 24 et 25 °C.

Le sang total, le plasma, les urines ont été utilisés sans dilution préalable avec les 5 tests ; en ce qui concerne le sang séché sur sérobuvar, une pastille sera réhydratée dans un cryotube avec 200 µl de PBS à 2-8 ° C toute une nuit.

Le statut sérologique réel de chaque sujet a été défini en testant leur plasma suivant l'algorithme de référence défini par le CERMES (annexe). Il s'agit des tests ELISA Genscreen Plus HIVAg-Ab (Biorad) , ELISA Vironostika (Organon

Teknika), semi-rapide Immuno Comb Bispot HIV 1&2 (PBS Orgenics), Western-blot InnoLia HIV de confirmation (Innogenetis). Le mode opératoire de chaque fournisseur a été suivi.

Cet algorithme de référence est défini de la façon suivante :

- **Passer tous les échantillons en ELISA Genscreen®.** En raison de sa bonne sensibilité et de sa bonne spécificité, le test Genscreen® a été choisi 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.
- **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. 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 détecté en Immuno Comb. Dans tous les cas, un résultat négatif ou positif en Immuno Comb 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.

3.2.2.3. Considérations éthiques

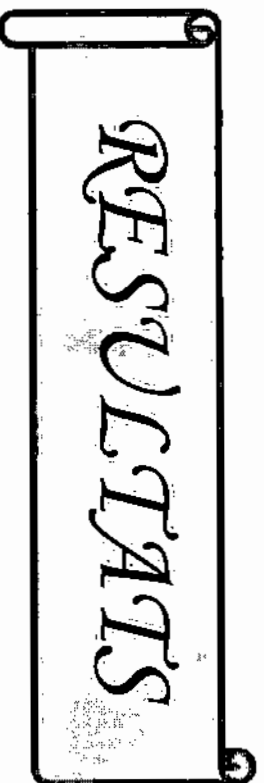
Compte tenu des problèmes d'éthique liés à toute investigation relative à l'infection au VIH et l'insuffisance de structures organisées de prise en charge des personnes vivants avec le VIH/SIDA, la sérologie s'est effectuée de manière anonyme.

Les sujets ont été informés des objectifs de l'enquête et leur accord écrit a été obtenu, ils ont été libres de participer ou de refuser sans que cela ait une quelconque conséquence.

La confidentialité des noms des participants à l'étude a été garantie. En effet, pour assurer la confidentialité des résultats du test, aucun nom n'a été attaché aux échantillons. Seul un numéro d'identification a permis de lier les résultats des tests effectués avec les noms. Seuls les sujets qui ont manifesté le désir de connaître leur statut sérologique ont été identifiés et ont reçu leurs résultats sous pli cacheté. En cas de résultat positif le sujet est transféré dans un centre de prise en charge des personnes vivant avec le VIH/SIDA.

3.2.2.4. Analyse des données

Les résultats ont été saisis sur Excel, les performances diagnostiques ont été calculées à l'aide de EpiTable Epi 6Fr du logiciel Epi Info. Tous les résultats obtenus avec Epi Info ont été calculés avec un intervalle de confiance(IC) à 95%.

A decorative scroll with a black outline and a white interior. The scroll is oriented vertically and has a slight curve at the top and bottom. The word "RESULTS" is written in a black, serif, all-caps font, centered within the scroll.

RESULTS

IV. RESULTATS

4.1. Statut VIH des sujets recrutés

En utilisant l'algorithme de référence du CERMES, sur les 207 sujets recrutés :

- 42 sujets sont VIH positifs. La sensibilité des tests rapides a été calculée sur ce groupe de témoins positifs.
- 160 sujets sont VIH négatifs. La spécificité des tests rapides a été calculée sur ce groupe de témoins négatifs.
- 5 sujets ont un statut VIH « indéterminé ». Ces cas particuliers ont été analysés individuellement.

4.2. Cas particuliers des 5 sujets de statut « VIH Indéterminés ».

Sur les 207 sujets recrutés et testés avec l'algorithme de référence du CERMES, 5 ont été classés comme sujets de statut VIH « indéterminé » selon la nomenclature d'interprétation du test InnoLia HIV confirmation.

Tableau IV : Résultats des tests ELISA, ImmunoComb II et Innolia HIV confirmation des 5 sujets de statut « VIH Indéterminés ».

TEST	Genscreen (Val. Seuil= 0,143)		Vironostika (Val.Seuil = 0,269)		Immuno- Comb	Innolia (WB confirmation)
	Numéro	DO	Résultat	DO		
N ° 86	0,878	Pos	0,285	Pos	Pos	Indéterminé
N ° 88	1,732	Pos	0,509	Pos	Pos	Indéterminé
N °111	0,196	Pos	0,280	Pos	Pos	Indéterminé
N °155	0,968	Pos	0,298	Pos	Neg	Indéterminé
N °200	2,418	Pos	0,406	Pos	Neg	Indéterminé

Le tableau 4 montre le détail les résultats obtenus avec l'algorithme de référence ELISA (Genscreen, Vironostika), le test semi-rapide ImmunoComb II et le test de confirmation Innolia. Tous les 5 sujets sont positifs aux 2 tests ELISA avec pour certains des valeurs faibles de densité optique. Le test ImmunoComb est sorti négatif pour 2 et positifs pour 3 sujets. Toutes ces personnes n'ont pas été confirmées par Innolia, mais classées « indéterminées »

Tableau V : Résultats des tests rapides pour les 5 sujets « VIH indéterminés »

TEST	DETERMINE			GENIE II			DOUBLECHECK			INO-CHECK			CAPILLUS		
	Sang total	Plasma	Sérobuvar	Sang total	Plasma	Sérobuvar	Sang total	Plasma	Sérobuvar	Sang total	Plasma	Sérobuvar	Sang total	Plasma	Sérobuvar
N° 86	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
N° 88	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
N° 111	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
N° 155	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg
N° 200	Neg	Pos	Neg	Neg	Pos	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg	Neg

NB : Tous les tests étaient négatifs avec l'urine de ces sujets.

Avec les tests rapides (Tableau 10), tous ces 5 sujets ont été trouvés négatifs avec les échantillons sanguins et les urines, à l'exception d'un sujet (N° 200) dont seul le plasma est positif avec Détermine et Génie II.

4.3. Détermination de la performance diagnostique des tests rapides

4.3.1. Test « DETERMINE »

Ce test est basé sur le principe de l'immuno-chromatographie avec des particules d'or colloïdal pour la détection des anticorps spécifiques du VIH, dans le sérum, le plasma ou le sang humain total. Il se présente sous forme de bandelette et se fait en une seule étape. Ces bandes peuvent être archivées dans un registre.

La figure 7 ci-dessous montre un exemple de résultat négatif (n° 083) et positif (n° 204) obtenu avec le test rapide Détermine. Le trait rose supérieur de la bandelette est le contrôle interne du test qui permet de le valider. Un résultat négatif se manifeste par un seul trait rose supérieur et un résultat positif par deux traits roses, le trait inférieur correspondant aux anticorps anti-VIH.

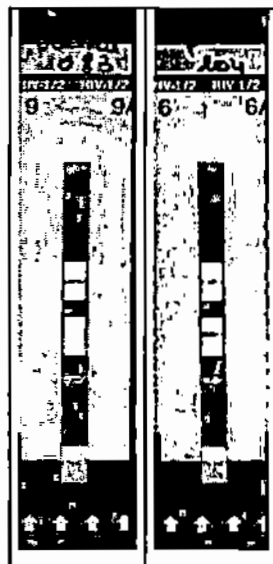


Figure 7 : Test rapide « Détermine ». Le n° 083 montre un échantillon négatif et le n° 204 un échantillon positif.

TABLEAU VI : Résultats obtenus avec le test DETERMINE en fonction des différents types d'échantillons cliniques :

Echantillons cliniques	Positif	Négatif	Total
Sang total	38	164	202
Plasma	44	163	207
Sang capillaire	43	164	207
Urine	15	187	202

4.3.2. Test GENIE II

Le test GENIE II HIV-1/HIV-2 est un test immunochromatographique et immunoenzymatique pour la détection spécifique des anticorps anti-VIH. Il se présente sous forme de cassette et est réalisé en plusieurs étapes de 3 minutes chacune.

La figure 8 ci-dessous montre trois exemples : échantillon négatif (n° 082), échantillon positif VIH 1 (n° 202), échantillon positif VIH1+VIH2 (N° 198). Un résultat négatif se manifeste par un seul spot supérieur gris-bleu qui sert également de contrôle interne. Un résultat positif se traduit par :

- deux spots gris-bleus (supérieur et inférieur) quand l'échantillon est positif en VIH1 ;
- deux spots gris-bleus (supérieur et intermédiaire) quand l'échantillon est positif en VIH2 ;
- trois spots gris-bleus (supérieur, intermédiaire et inférieur) quand l'échantillon est positif en VIH1 et VIH2 (infection mixte).

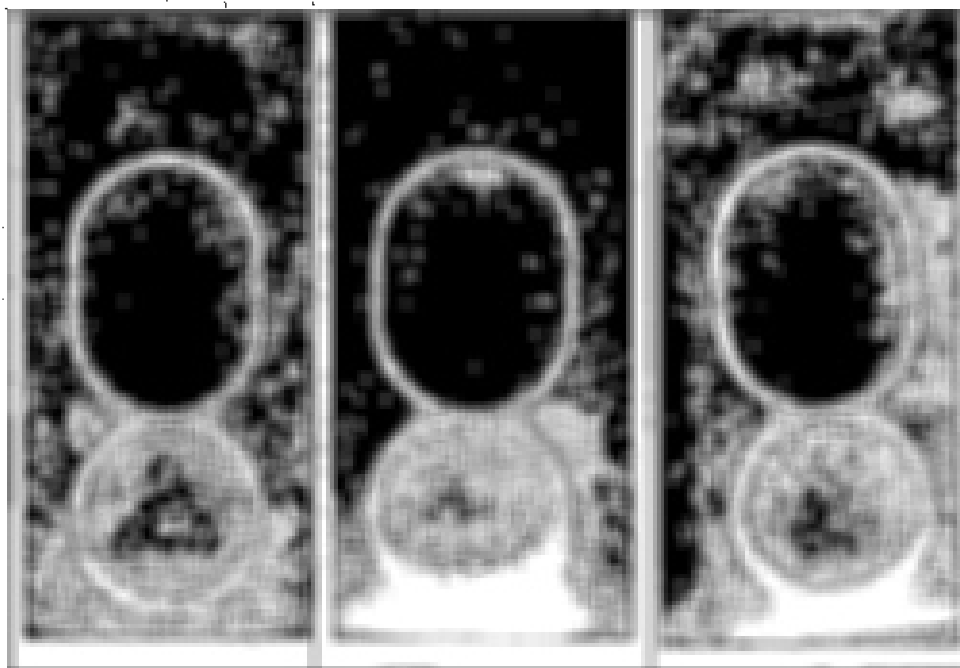


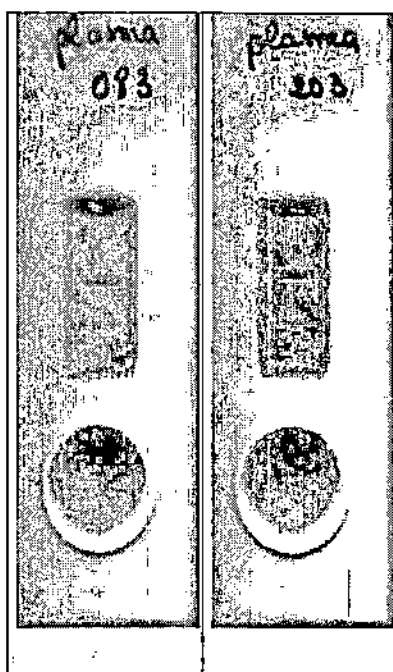
Figure 8 : Exemple de résultats du test discriminatif GENIE II : le n° 082 indique un échantillon négatif, le n° 202 un échantillon positif VIH1 et le n° 198 un échantillon positif VIH 1/2.

TABLEAU VII : Résultats obtenus avec le test GENIE II en fonction des différents types d'échantillons cliniques

Echantillons cliniques	Positif	Négatif	Total
Sang total	37	165	202
Plasma	42	165	207
Sang capillaire	42	165	207
Urine	21	181	202

4.3.3. Test « DOUBCHECK Gold »

Le test « Doublecheck Gold » est basé sur le principe de l'immunochromatographie avec des particules d'or colloïdal pour la détection non discriminative des anticorps anti-VIH dans le sérum humain ou le plasma sanguin. La figure 9 ci-dessous montre des exemples de résultat négatif (n° 083) et positif (n° 203). Une réaction négative se traduit par un seul trait supérieur (le contrôle interne) et une réaction positive par la présence de deux traits (le contrôle interne et le trait inférieur VIH-1&2).



**Figure 9 : Exemple de résultats du test « Doublecheck Gold » :
le n° 083 montre un résultat négatif et le n° 203 un résultat positif.**

**TABLEAU VIII : Résultats obtenus avec le test Double Check en fonction
des différents échantillons cliniques**

Echantillons cliniques	Positif	Négatif	Total
Sang total	49	153	202
Plasma	50	157	207
Sang capillaire	46	161	207
Urine	79	123	202

4.3.4. Test INO-CHECK

Le test **INO-CHECK** HIV1/2 est également un test basé sur le principe de l'immunochromatographie avec des particules d'or pour la détection des anticorps spécifiques du VIH, dans le sérum, le plasma ou le sang humain total. La figure 10 ci-dessous montre des exemples de résultat négatif (n° 200) et positif (202, 199) obtenus avec le test rapide INO-CHECK. La présence d'une seule bande dans la fenêtre de lecture indique un résultat négatif par contre la présence d'au moins deux bandes dans la fenêtre de lecture, indique respectivement un résultat positif pour l'HIV-1 ou l'HIV-2 ou les deux.

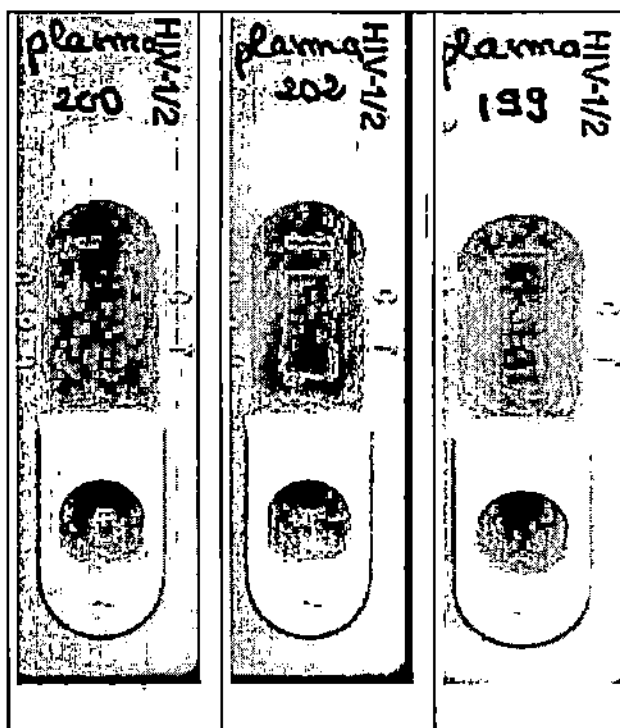


Figure 10 : Exemple de résultats du test discriminatif ino-check : le n° 200 indique un résultat négatif, le n° 202 un résultat positif VIH1 et le n° 198 un résultat VIH ½

TABLEAU IX : Résultats obtenus avec le test INO-CHECK en fonction des différents types d'échantillons cliniques

Echantillons cliniques	Positif	Négatif	Total
Sang total	74	128	202
Plasma	45	162	207
Sang capillaire	40	167	207
Urine	30	172	202

4.3.5. Test CAPILLUS

Le test CAPILLUS est un test d'agglutination avec des particules incolores de latex pour la détection des anticorps anti-VIH 1/2 dans le sérum, le plasma ou le sang humain total. Il se présente sous forme d'une languette plastique et se fait en une seule étape. On recherche à l'œil nu l'apparition ou non d'une agglutination des particules de latex sur fond noir. Une agglutination signifie un résultat positif, par contre une absence d'agglutination signifie un résultat négatif. Il n'y a pas de contrôle interne de la réaction. L'agglutination est très difficile à lire pour les sujets faiblement positifs.

TABLEAU X : Résultats obtenus avec le test CAPILLUS en fonction des différents types d'échantillons cliniques

Echantillons cliniques	Positif	Négatif	Total
Sang total	41	161	202
Plasma	45	162	207
Sang capillaire	37	170	207
Urine	07	195	202

Tableau XI : Sensibilité, spécificité des 5 tests rapides, en fonction du type de prélèvement sanguin utilisé

	DETERMINE	GENIE II	DOUBLE-CHECK	INO-CHECK	CAPILLUS
Sensibilité					
- Plasma (n = 42)	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
- Sang total (n = 37)	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
- Sérobuvard (n=42)	100 %	100 %	100 %	95,2 %	88 %
Spécificité					
- Plasma (n =160)	98,8 %	100 %	95 %	98,1 %	98 %
- Sang total (n = 160)	99,4 %	100 %	92,5 %	76,9 %	97,5 %
- Sérobuvard (n=160)	99,4 %	100 %	97,5 %	100 %	100 %

Le tableau XI résume la performance (sensibilité, spécificité avec intervalle de confiance à 95%) de chacun des 5 tests rapides avec 3 types d'échantillons sanguins (plasma, sang total et sérobuvard).

La sensibilité des 3 tests Determine, Génie II et Doublecheck est de 100% aussi bien avec du plasma, du sang total que du sang séché sur sérobuvard. Avec Inocheck et Capillus, les sensibilités sont de 100% avec le plasma et le sang total mais respectivement de 95,2% et 88% avec le sérobuvard.

Pour la spécificité, seul le test Génie II donne une spécificité de 100% quel que soit le type de prélèvement sanguin utilisé. Le test Determine présente une excellente spécificité avec les 3 types d'échantillons sanguins (98,8 à 99,4%).

Tableau XII : Sensibilité et spécificité de 5 tests rapides avec l'urine comme échantillon biologique

	DETERMINE	GENIE II	DOUBLECHECK	INO-CHECK	CAPILLUS
Sensibilité (n=37)	40,5 %	56,8 %	100 %	81,1 %	18,9 %
Spécificité (n=160)	100 %	100 %	73,8 %	100 %	100 %

Ces tests rapides ne sont pas destinés à être utilisés avec des urines, nous avons cependant voulu les évaluer. Les résultats sont consignés dans le tableau 12. Nous avons obtenu pour les 4 tests suivants : (Determine, Génie II, Ino-Check, Capillus) une sensibilité médiocre (18,9 à 81 %) mais une spécificité à 100%. A l'inverse pour le test DoubleCheck, la sensibilité est à 100% mais la spécificité est médiocre (73,8%).

Ces résultats montrent que les urines ne peuvent pas être utilisées pour le diagnostic du VIH par des tests rapides, en raison de leur manque de sensibilité ou de spécificité.

Tableau XIII : Valeurs Prédicatives Positives (VPP) et Négatives(VPN) individuelles des tests rapides pour une séroprévalence dans la population urbaine au Niger de 2,08%.

TEST	DETERMINE	GENIE II	DOUBLECHECK	INO-CHECK	CAPILLUS
VPP					
Plasma	63,9%	100 %	29,8%	52,8%	52,8%
Sang total	78 %	100 %	22,1%	8,4%	45,9%
Sérobuvar	78 %	100 %	45,9%	100 %	100 %
VPN					
Plasma	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Sang total	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Sérobuvar	100 %	100 %	100 %	99,9%	99,7%

Tableau XIV : Valeurs Prédicatives Positives(VPP) et Négatives(VPN) individuelles des tests rapides pour une séroprévalence dans la population rurale au Niger de 0.64%.

TEST	DETERMINE	GENIE II	DOUBLECHECK	INO -CHECK	CAPILLUS
VPP					
Plasma	34,9%	100 %	11,4 %	25,3%	25,3%
Sang total	51,8%	100 %	7,9%	20,5%	2,7%
Sérobuvar	51,8%	100 %	20,5%	100 %	100,0%
VPN					
Plasma	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Sang total	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
Sérobuvar	100 %	100 %	100 %	100 %	99,9%

Pour le calcul de la VPP et la VPN, nous avons pris comme exemples la séroprévalence nationale du VIH au Niger, successivement dans la population urbaine puis rurale (Rapport CARE/CERMES, 2003).

Pour chaque test rapide et chaque type de prélèvement sanguin, nous avons calculé les valeurs prédictives et négatives dans un contexte de population générale urbaine (tableau 14, séroprévalence 2,08%) et rurale (tableau 15,

séroprévalence 0,64%) au Niger. Ces contextes sont typiquement ceux du dépistage des femmes enceintes ou du dépistage volontaire de sujets asymptomatiques et n'appartenant pas à des groupes à risques.

Les VPP des tests pris individuellement sont très faibles (< 59%) alors que les VPN sont excellentes (> 99%) en raison de la faible séroprévalence du VIH au Niger. Mais par contre pour le test Genie II, la VPP est de 100 % quel que soit le type d'échantillons cliniques, Ino-check et Capillus ont donné aussi une VPP de 100 % avec le sérobuvard.

Tableau XV : Calcul de VPP et VPN en utilisant le plasma, le sang total et le sang sur sérobuvard avec une séroprévalence de 50 % (professionnelles du sexe)

Test	sensibilité	spécificité	VPP	VPN
DETERMINE				
Plasma	100 %	98,8 %	98,8 %	100 %
Sang total	100 %	99,4%	99,4 %	100 %
sérobuvard	100 %	99,4%	99,4 %	100 %
GENIE II				
Plasma	100 %	100 %	100 %	100 %
Sang total	100 %	100 %	100 %	100 %
sérobuvard	100 %	100 %	100 %	100 %
DOUBLECHECK				
Plasma	100 %	95,0 %	95,2 %	100 %
Sang total	100 %	92,5 %	93,0 %	100 %
sérobuvard	100 %	97,5 %	97,6 %	100 %
INOCHECK				
Plasma	100 %	98,1 %	98,1 %	100 %
Sang total	100 %	76,9 %	81,2 %	100 %
sérobuvard	95,2 %	100 %	100 %	95,4 %
CAPILLUS				
Plasma	100 %	98,1%	98,1%	100 %
Sang total	100 %	97,5 %	97,6 %	100 %
sérobuvard	88,1 %	100 %	100 %	89,4 %

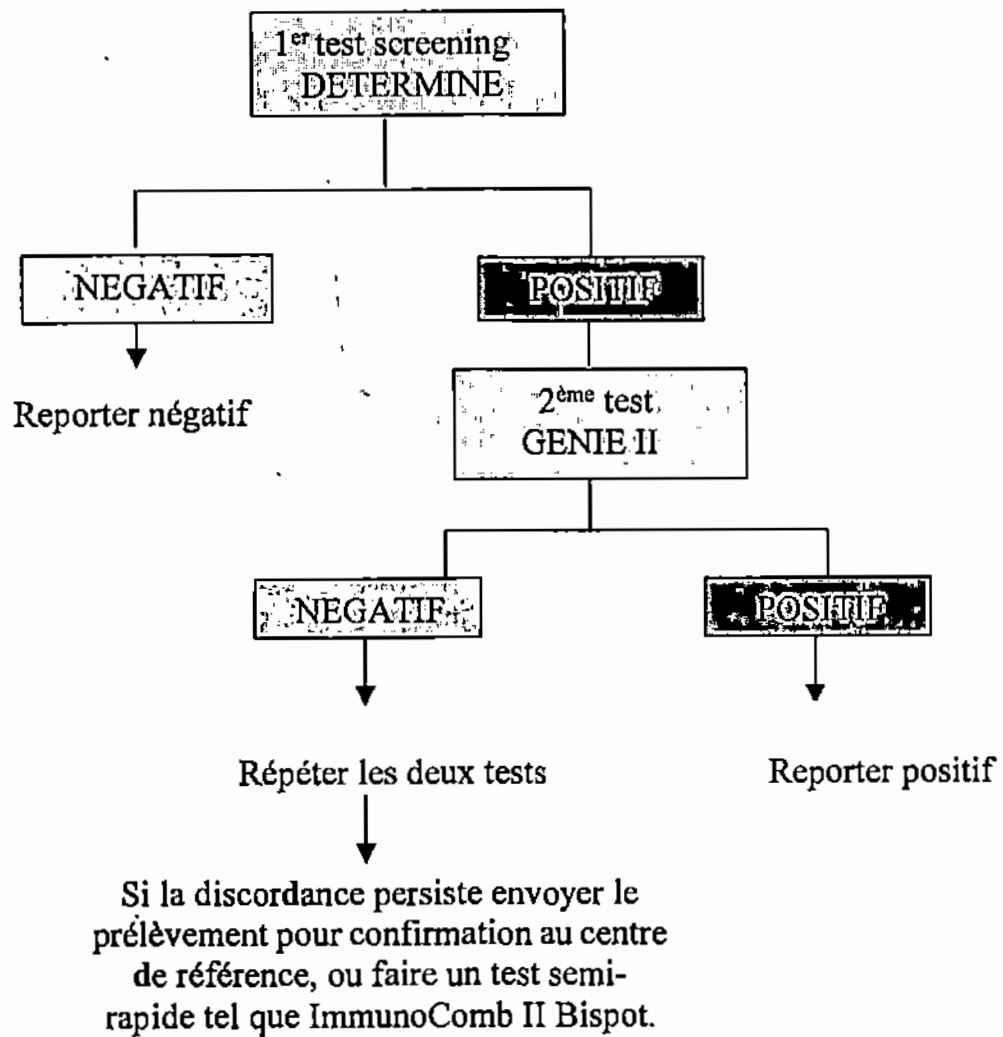
Si on applique ces tests sur des groupes cibles à risque comme les professionnelles du sexe (séroprévalence 50 %), les VPP s'élèvent > 90%. La VPP et la VPN varient fortement en fonction de la prévalence de la maladie dans la population dans laquelle ce test doit être appliqué.

4.4.Choix de l'algorithme.

En tenant compte de la valeur diagnostique intrinsèque des tests rapides (sensibilité et spécificité), nous recommandons le test Détermine en premier test de screening.

Quant au deuxième test à utiliser en cas de résultat positif avec Détermine, nous proposons le test Génie II.

Algorithme N°1 : Association des tests DETERMINE et GENIE II



Dans tous les cas, un test de confirmation par un laboratoire agréé sera nécessaire avant la mise sous traitement d'un malade.

A côté de la valeur intrinsèque de chaque test, nous avons également pris en compte neuf autres paramètres qui peuvent influencer sur le choix d'un test dans les conditions nigériennes. Ces paramètres ont été rassemblés dans le tableau 16 : facilité d'exécution, facilité de lecture, temps d'exécution, stabilité des résultats à 25 °C, discrimination entre VIH-1 et VIH-2, coût du test, température de transport et de conservation, volume de transport et de stockage, facilité d'approvisionnement, matériels et consommables complémentaires.

Tableau XVI : Comparaison des cinq tests rapides en fonction d'autres paramètres autres que les valeurs intrinsèques

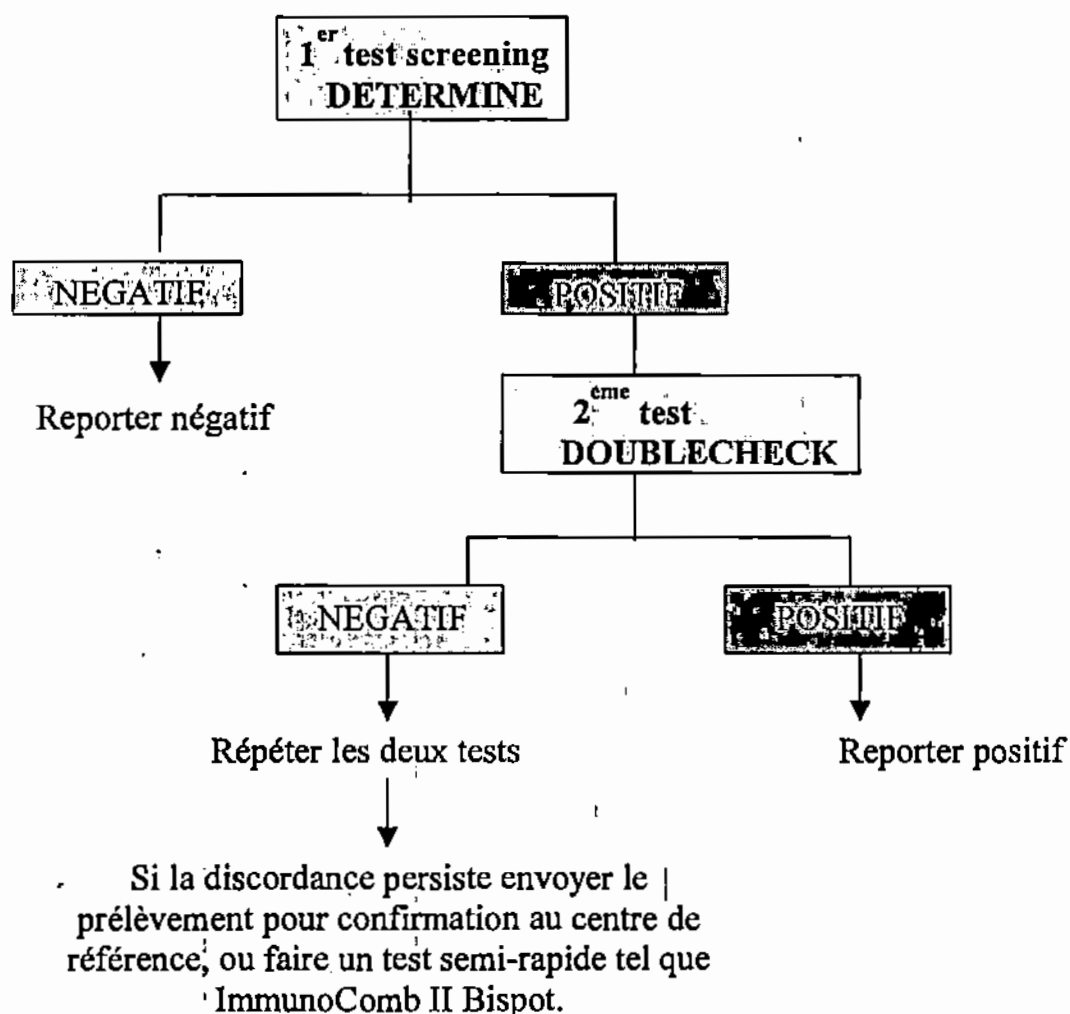
TEST RAPIDE	DETERMINE	GENIE II	DOUBLE-CHECK	INO-CHECK	CAPILLUS
Facilité d'exécution du test	Très facile	Facile mais multi-étapes	Très facile	Très facile	Très facile
Facilité de lecture	Très facile	Très facile	Très Facile	Très Facile	Difficile
Temps	15 mn	15 mn	15 mn	5 à 20 mn	3 à 7 mn
Stabilité des résultats	Très stable	Très stable	Pas très stable	Instable	Instable
Discrimination VIH1 et VIH2	Non	Oui	---Non	Oui	Non
Température transport, conservation	T° ambiante < 30°	2-8 °C	T° ambiante < 30°	T° ambiante < 30°	2-8 °C
Volume de transport et stockage	Peu volumineux	Très volumineux	volumineux	volumineux	volumineux
Archivage résultats	Oui	Non	Non	Oui	Non
Facilité d'approvisionnement	Très facile et rapide	Très facile et rapide	Pas très facile	Très facile et rapide	Pas très facile
Petits matériels complémentaires	-micropipette avec cônes ou compte goutte. -montre ou minuteur	-micropipette ou compte goutte. -montre ou minuteur	-micropipette avec cônes ou compte goutte -montre ou minuteur	-micropipette avec cônes ou compte goutte (20µl) -montre ou minuteur	-micropipette avec cônes (10 µl) -montre ou chronomètre

On remarque que :

- ✓ 4 tests sont très faciles à pratiquer (une seule étape) tandis que le test Génie II nécessite plusieurs petites étapes avec des réactifs différents à rajouter séquentiellement, et dans deux puits différents.
- ✓ Les résultats sont très stables avec 2 tests (Determine et Génie II) et moins avec les 3 autres.
- ✓ 2 tests peuvent différencier VIH-1 et VIH-2 (Génie II et InoCheck).
- ✓ 3 tests peuvent être transportés et stockés à température ambiante (Determine, Doublecheck, Inocheck), mais cette température signifie $<30^{\circ}\text{C}$ pour le fabricant.
- ✓ Le matériel complémentaire est généralement minime (compte goutte ou micropipette avec embouts, montre ou minuteur)

En tenant compte de certains paramètres comme la facilité d'exécution et la température de transport et de stockage, la stratégie associant en série le premier test de screening Détermine suivi du test Doublecheck doit être également prise en considération en fonction des conditions opérationnelles locales. Notons néanmoins que cet algorithme présente une spécificité inférieure à celle de l'algorithme 1, spécificité qui reste tout de même excellente (> 99,94%)

Algorithme N°2 : Association des tests détermine et DOUBLECHECK



Dans tous les cas, un test de confirmation par un laboratoire agréé sera nécessaire avant la mise sous traitement d'un malade

TABLEAU XVII : Performance des deux algorithmes proposés pour une séroprévalence dans la population urbaine au Niger de 2,08%

	Algorithme 1 (DETERMINE + GENIE II)	Algorithme 2 (DETERMINE + DOUBLECHECK)
Sensibilité		
- Plasma	100 %	100 %
- Sang total	100 %	100 %
- sérobuvar	100 %	100 %
Spécificité		
- Plasma	100 %	99,94 %
- Sang total	100 %	99,95 %
- sérobuvar	100 %	99,98 %
VPP		
- Plasma	100 %	97,2 %
- Sang total	100 %	97,9 %
- Sérobuvar	100 %	99,3 %
VPN		
- Plasma	100 %	100 %
- Sang total	100 %	100 %
- Sérobuvar	100 %	100 %

Tableau XVIII : Performance des deux algorithmes proposés pour une séroprévalence dans la population rurale au Niger de 0,64%

	Algorithme 1 (DETERMINE + GENIE II)	Algorithme 2 (DETERMINE + DOUBLECHECK)
Sensibilité		
- Plasma	100 %	100 %
- Sang total	100 %	100 %
- Sérobuvard	100 %	100 %
Spécificité		
- Plasma	100 %	99,94 %
- Sang total	100 %	99,95 %
- Sérobuvard	100 %	99,98 %
VPP		
- Plasma	100 %	91,4 %
- Sang total	100 %	93,4 %
- Sérobuvard	100 %	97,7 %
VPN		
- Plasma	100 %	100 %
- Sang total	100 %	100 %
- Sérobuvard	100 %	100 %

Les mêmes calculs ont été effectués pour chacun des deux algorithmes proposés dans un contexte de sujets asymptomatiques, n'appartenant pas à des groupes à risque et issus de la population urbaine (tableau 17) et rurale (tableau 18). Les VPP s'élèvent alors entre 91 et 99% et les VPN sont à 100%. Il est intéressant de noter que les meilleures VPP ont été obtenues avec du sang séché sur Sérobuvard.



*COMMENTAIRES
&
DISCUSSION*

V - COMMENTAIRE ET DISCUSSION

Notre présent travail a été réalisé dans le but de proposer la ou les meilleures combinaisons de deux tests rapides pour le diagnostic de l'infection à VIH au Niger. Il a été effectué dans le laboratoire d'immunologie du CERMES sur un panel de 207 sujets.

Nous avons évalué les performances diagnostiques des cinq tests rapides du commerce dont 3 non discriminatifs et 2 discriminatifs entre le virus VIH 1 et VIH2. Il s'agit des tests Determine (Abbott Laboratories), Génie II (Biorad), DoubleCheck (PBS Organics), Inocheck (Inodia) et Capillus (Trinity Biotech) conçus pour des prélèvements de sérum, plasma ou sang total. Nous avons voulu évaluer aussi plusieurs types d'échantillons cliniques afin de choisir celui qui soit le plus pratique dans le contexte nigérien (où souvent il y a rupture de la chaîne de froid) Ainsi nous avons testé le plasma, le sang total, le sang séché sur sérobuvard et les urines de 42 sujets témoins VIH positifs et 160 sujets témoins VIH négatifs, contrôlés suivant l'algorithme de référence du CERMES.

5. 1. Tests sanguins

L'appréciation des résultats des tests rapides non discriminatifs distingue particulièrement le Determine comme étant le plus performant avec des sensibilités identiques et égales à 100% et des spécificités allant de 98,8% à 99,4 % respectivement pour le plasma, le sang total et sang séché sur sérobuvard. La sensibilité est excellente 100 % pour le test Doublecheck avec toutefois un intervalle de confiance à 95% compris entre 89,6 % et 100%, la spécificité quant à elle varie de 92,5 % à 97,5% selon qu'il s'agisse de sang total, de plasma ou de sérobuvard. Ce n'est pas la première fois que nous observons un manque de spécificité des tests de dépistage du VIH chez les nigériens (2,7). L'hypothèse de réactions croisées dues aux nombreuses parasitoses dans le pays (schistosomoses, parasitoses intestinales en particulier)

est plausible. Pour le test Capillus la sensibilité est excellente 100 % pour le plasma et le sang total et médiocre pour le sang sur sérobuvar 88%, ceci pourrait s'expliquer par une difficulté dans l'appréciation des résultats, la spécificité est parfaite pour le sérobuvar (100%) mais moins bonne pour le plasma (98 %) et le sang total (97,5%). Pour certains de ces tests, des résultats obtenus avec des études antérieures viennent étayer leurs performances. En 2001, Aidoo S et *al* ont évalué le test Détermine HIV 1/2 avec le sang total sur des sujets ghanéens et ont trouvé une sensibilité et une spécificité de 100 % (1). Au cours de cette même année, KOBLOVI-DEME et *al*. ont évalué les performances des tests Détermine et Capillus dans une clinique anténatale à Abidjan, elle a obtenu une sensibilité de 100 % pour les deux tests et une spécificité de 99,4% et 99,7% respectivement pour Détermine et Capillus (28). Nogueira et *al* ont obtenu à Rio de Janeiro en 2001 dans trois maternités public, avec les tests Détermine et Doublecheck, une sensibilité et une spécificité de 100 % pour les deux tests (36). Ces résultats confirment les nôtres et placent Détermine comme étant le meilleur des tests rapides non discriminatifs surtout pour un objectif de dépistage, d'autant que très peu de résultats ont été notés faibles positifs facilitant ainsi la lecture. Bien que certaines de ces études aient montré la bonne performance du test Capillus, la spécificité (97,5 -100%) que nous avons obtenue avec ce test est inférieure à celle des autres auteurs (19,28, 66,67).

Concernant, les tests discriminatifs Génie II a été le plus performant il présente une excellente sensibilité (100%) et une excellente spécificité (100%), aussi bien pour le sang total, le plasma ou le sérobuvar. Des études similaires réalisées à Honduras, en Côte d'Ivoire et au Sénégal (10, 28, 18) ont montré des valeurs de sensibilité et de spécificité identiques aux nôtres. Avec de tels résultats, le test Génie II apparaît comme un bon test rapide surtout à des fins de discrimination. Par ailleurs, une étude réalisée en 1999 au Togo par Dagnara et *al*. avec le test Génie II a donné une spécificité de 100 % par contre la sensibilité,

paramètre du reste déterminant pour le choix d'un test de première intention reste inférieure à la nôtre (90,7 %) (16), ce qui montre la nécessité de ces évaluations dans des zones épidémiologiquement différentes.

Inocheck, qui est le deuxième test discriminatif apparaît comme étant le moins performant, sa sensibilité est excellente 100 % pour le plasma, le sang total et médiocre pour le sang sur sérobuvar 95,2 %, la spécificité est parfaite pour le plasma et le sérobuvar mais médiocre pour le sang total (76,9 %). Le taux élevé de faibles positifs, source de confusion pourraient expliquer le nombre de faux positifs (37 pour le sang total et 3 pour le plasma) avec comme conséquence l'utilisation abusive de test de confirmation.

En tenant compte des autres paramètres pratiques cités plus haut, les tests Determine et Doublecheck sont les tests les plus faciles à pratiquer (une seule étape) tandis que le test Génie II demande plusieurs petites étapes séquentielles avec un ordre à respecter pour chaque réactif et à conserver à 4°C. En plus du risque d'erreur dans la séquence des réactifs, il est difficile de réaliser de très grandes séries de tests Génie II. En comparaison, le test Determine, en plus de sa sensibilité à 100%, présente de très nombreux avantages pratiques qui sont : la facilité d'exécution et de lecture, la stabilité des résultats même au delà d'une heure, le transport et la conservation à température ambiante (<30°C), le très faible volume de stockage (bande à la place de cassette), le faible coût. De plus, c'est le seul test qui permette un archivage des résultats (vérification des résultats en cas de discordance, supervision formative pour le contrôle de qualité). Cependant il est moins spécifique que Génie II et incapable de discriminer entre le VIH-1 et le VIH-2, compte tenu de toutes ces observations ce test peut être vulgarisé surtout dans les centres de santé périphériques.

Les VPP et VPN d'un test ou d'un algorithme de diagnostic dépendent de la sensibilité, de la spécificité et de la prévalence de la maladie dans la population à tester. S'agissant du Niger où la séroprévalence du VIH est très faible, les VPN sont à 100% mais les VPP sont très faibles si les tests rapides sont utilisés seuls

(cela dépend aussi des tests) . En associant deux tests en série, les VPP sont > 91% en population rurale (séroprévalence 0,64%) et > 97% en population urbaine (séroprévalence 2,08%) quel que soit l'algorithme de dépistage choisi. De telles VPP ne sont pas parfaites en raison de l'endémie faible. Il faudra en tenir compte dans les centres de dépistage volontaire ou des femmes enceintes. Dans tous les cas, un test de confirmation définitif dans un laboratoire agréé sera nécessaire dans l'optique d'une prise en charge des malades. Pour le cas particulier des 5 sujets de statut VIH « indéterminé », les tests rapides ont tous donné un résultat négatif à l'exception d'un individu trouvé positif aux tests Determine et Génie II avec le plasma uniquement. Malheureusement, nous n'avons pas la possibilité de savoir si ce sont des sujets en cours de séroconversion ou si ce sont des anticorps non spécifiques. La confidentialité des noms dans cette étude ne permet pas de retrouver ces sujets pour un second prélèvement plus tardif. Ce point devra être approfondi par un suivi d'un plus grand nombre de sujets « indéterminés ».

En dehors de ces résultats, d'autres facteurs influent en faveur des tests rapides : ils sont d'exécution simple et rapide, permettent d'avoir une première information dans un délai court contrairement aux tests ELISA qui nécessitent plusieurs temps d'incubation, rendant longs les délais d'obtention des résultats. Et aussi ces tests sont techniquement difficiles à exécuter et demande un personnel qualifié.

Cependant, notre travail présente certaines limites dues à la non utilisation de sérums de séroconversions, leur inclusion dans une telle étude permettrait de mieux apprécier les performances de ces tests rapides et d'identifier celui ou ceux qui présente la plus grande précocité de détection des anticorps.

5.2. Tests urinaires

Pendant, plusieurs années, l'utilisation de plasma et de sérum comme spécimens ont été la norme, mais plusieurs nouveaux tests ont été optimisés pour utiliser des spécimens qui n'impliquent pas de ponction veineuse, comme le sang capillaire prélevé sur le bout d'un doigt, la salive ou l'urine. Deux tests de détection des anticorps du VIH dans l'urine sont actuellement autorisés pour la vente aux Etats unis, il s'agit de Calypte HIV-1 et de Cambridge Biotech HIV-1 (sentinel®), les deux sont fabriqués par Calypte Biomedical corporation le premier test s'est avéré d'une précision équivalente à celle des tests qui utilisent du sérum, le deuxième test est utilisé sur des échantillons qui réagissent plusieurs fois au test Calypte (5). On a constaté qu'il est comparable en sensibilité et en spécificité, aux autres tests western blot qui utilisent du sang, par conséquent il procure un résultat confirmé, il s'agit toutefois d'un test qui se conclut le lendemain et non d'un test rapide. Ces tests sont suffisamment sensibles pour la surveillance, mais lorsqu'il s'agit de poser un diagnostic, un résultat positif devra être confirmé par un test sérologique ou sur plasma.

Selon les essais cliniques, ces tests sont aussi efficaces et fiables que les tests sanguins. De plus, les cas indéterminés nécessitant des examens complémentaires sont beaucoup moins nombreux (5).

Les premiers essais comparatifs entre les tests sanguins et les tests urinaires effectués sur 515 personnes chez une population à risque faible ont montré des résultats identiques, la sensibilité du test d'urine a été évalué à 99,7 % (5). Seul deux personnes étant sous traitement antirétroviral ont reçu un résultat négatif erroné:

En 1999, Meehan et *al.* ont évalué le test Calypte HIV-1 en Ouganda sur 222 sujets, la sensibilité et la spécificité ont été évalué à 100 % (34). Une autre étude réalisée sur le même test par DA Costa et *al.* sur 360 brésiliens a montré une sensibilité de 100% et une spécificité de 97,9 % (17). Connell et *al.*, quant à eux

ont évalué le test GACELISA sur 422 spécimen d'urine la sensibilité était de 100% et la spécificité de 100% (14). Il n'existe pas pour le moment des tests rapides destinés à être utilisés avec l'urine, nous avons cependant voulu évaluer dans notre étude nos tests rapides avec ce spécimen. Nous avons obtenu pour Determine, Génie II, Ino-Check, et Capillus une sensibilité médiocre (18,9 à 81 %) mais une spécificité à 100%. A l'inverse pour le test Doublecheck la sensibilité est à 100% mais la spécificité est médiocre (73,8%). Ces résultats montrent que les urines ne peuvent pas être utilisées pour le diagnostic du VIH par des tests rapides, en raison de leur manque de sensibilité ou de spécificité. A notre connaissance l'étude des tests rapides utilisant l'urine n'a pas fait l'objet d'étude à ce jour.

Les tests pratiqués sur la salive et l'urine, en particulier, se sont révélés utiles pour le dépistage anonyme dans les groupes de population difficiles à atteindre tels que les professionnels du sexe, les toxicomanes qui utilisent des drogues intraveineuses, et pour les personnes qui refusent le prélèvement de sang pour des motifs religieux. Les méthodes de prélèvements des échantillons d'urine sur lesquels sont réalisés ces tests sont moins contraignants pour le patient que la prise de sang. En effet, lors d'une récente enquête d'opinion conduite par la société Mark et Facts inc., aux Etats Unis une personne sur deux a déclaré préférer un test urinaire en très grande partie (80%) par peur de la seringue (5). On s'attend à ce que le test à partir d'urine soit une option attrayante pour les centres de santé qui ne disposent pas de fonds et de personnels qualifiés pour le prélèvement et l'analyse du sang, ce qui constituerait un atout pour les pays en développement.

5.3. Algorithme de dépistage

5.3.1. Détermination d'une stratégie de dépistage utilisant deux tests rapides

La définition de l'algorithme est basée sur une combinaison des performances de deux tests de sensibilités et de spécificités complémentaires, utilisant un type d'antigène et/ou un principe différent. D'une façon générale, le premier test doit privilégier la sensibilité et le second la spécificité. L'ordre dans lequel ces tests sont utilisés est donc primordial, la sensibilité du premier test détermine la sensibilité de l'association et la spécificité du deuxième test détermine la spécificité de l'association. Ce choix doit éliminer tout résultat faux négatif au premier test (sensibilité 100%).

Le choix final de l'algorithme doit donc prendre en compte le contexte géographique et épidémiologique de la population dans laquelle cette stratégie doit être appliquée. En plus du principe ci-dessus énoncé, le choix de ces tests rapides destinés à être utilisés à large échelle dans un pays comme le Niger aux ressources limitées et par du personnel peu formé, doit également de prendre en compte :

- la facilité d'exécution (praticabilité)
- la facilité de lecture et d'interprétation
- la capacité de discrimination entre VIH1 et VIH2
- le coût du test
- la facilité de l'approvisionnement, du transport et de la conservation
- la nécessité d'avoir du matériel ou consommables supplémentaires

5.3.2. Choix de la stratégie « Tests rapides » : sélection des deux algorithmes les plus performants

A la lumière des résultats obtenus, en tenant compte de la valeur diagnostique intrinsèque des tests rapides (sensibilité et spécificité), de la facilité de lecture, et de la stabilité des résultats, nous recommandons le test Determine en premier test de screening dans un « algorithme tests rapides ».

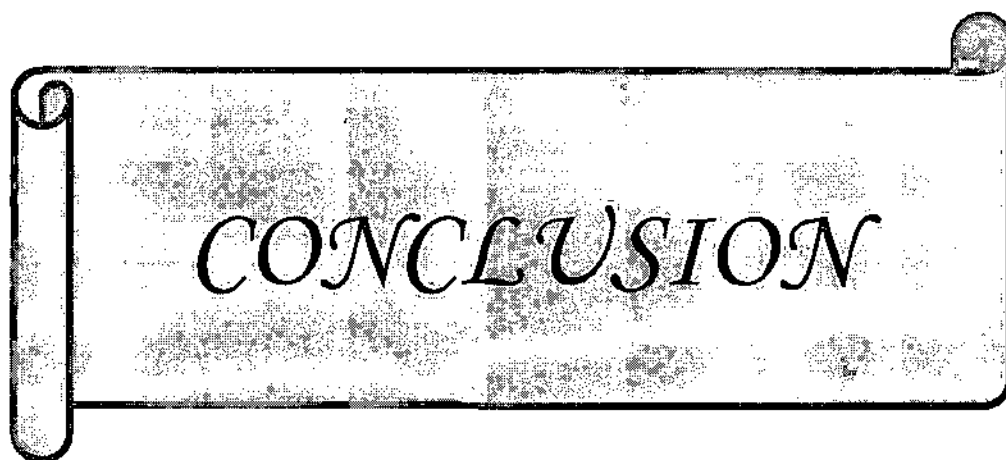
Quant au deuxième test à utiliser en cas de résultat positif avec Determine, nous proposons en raison de sa spécificité à 100%, le test Génie II qui est en outre capable de discriminer une infection à VIH-1 et VIH-2 (importance pour la prise en charge des malades). Ses inconvénients ci-dessus décrits sont cependant bien réels, même si on peut penser qu'avec le faible taux de prévalence nationale au Niger, le nombre de positifs à passer en 2^{ème} test sera faible. Cet algorithme présente une sensibilité et une spécificité de 100 %, quelque soit le type d'échantillon sanguin testé (plasma, sang total, sérobuvard).

Par contre Si on tient compte d'autres paramètres comme la facilité d'exécution et la température de transport et de stockage, la stratégie associant en série le premier test de screening « Determine » suivi du test « Doublecheck » doit être également prise en considération en fonction des conditions opérationnelles locales. Le test D (PBS Organics) ou de se faire confirmer les résultats par le centre de référence avant toute prise en charge du malade.

En conclusion, deux algorithmes de dépistage du VIH sont proposés : l'algorithme N°1 associe les tests Determine et Génie II, et l'algorithme N°2 associe les tests Determine et Doublecheck. L'algorithme adopté devra être ensuite validé en conditions de terrain pour tenir compte en particulier du niveau du personnel, de l'utilisation de petits matériels robustes et bon marché (comptes gouttes à la place de micropipettes) et de la température ambiante des laboratoires périphériques. Nous déconseillons formellement de pratiquer les tests au delà de 37°C (faux positifs et faux négatifs constatés).

Cette évaluation est la première au Niger, elle a permis de noter qu'il n'y a pas de différence significative entre certains de nos tests évalués et les tests ELISA pour le diagnostic de l'infection à VIH. Mais en raison de la variabilité génétique du VIH, cette étude doit être réalisée régulièrement dans le cadre du contrôle de qualité. Doublecheck a l'avantage d'être très facile à pratiquer et à lire, et de se conserver à température ambiante ($< 30^{\circ}\text{C}$). Il n'est cependant pas capable de différencier une infection à VIH-1 et VIH-2, et présente une mauvaise stabilité des résultats : certains résultats négatifs prennent l'apparence de résultats positifs faibles au-delà de 15 mn. Le respect du temps de lecture sera donc très important. La sensibilité de l'algorithme N°2 est de 100% et sa spécificité $> 99,9\%$. En cas de résultats discordants entre le premier et le second test, nous recommandons de refaire les deux tests rapides.

Si la discordance persiste, il est prudent d'utiliser un 3^{ème} test semi-rapide tel que ImmunoComb II.



CONCLUSION

VI - CONCLUSION

A la suite de notre étude sur la détermination des performances diagnostiques des tests rapides réalisée à l'unité d'immunologie du CERMES sur 207 prélèvements, il ressort clairement qu'avec les tests rapides :

- les urines ne peuvent être utilisées pour le dépistage du VIH par manque de sensibilité ou de spécificité.
- le plasma, le sang total et les sérobuvars peuvent être utilisés sans problème particulier. La possibilité d'utiliser du sang total est une information importante sur le plan opérationnel (centrifugation et décantation du sang non nécessaires).
- L'utilisation des sérobuvars facilitera surtout la mise en place d'un contrôle de qualité des tests effectués en périphérie (expédition facile des prélèvements vers le laboratoire de référence).
- La température peut avoir une influence sur les tests pratiqués au-delà de 37 ° C, faux positifs et faux négatifs constatés.

En prenant comme critères de sélection uniquement la valeur diagnostique interne de chaque test (sensibilité et spécificité), nous retenons l'algorithme N°1 (Determine + Génie II). Or cet algorithme présente des contraintes opérationnelles liées au test Génie II (conservation à + 4 °C, multi-étapes et multi-réactifs). De ce fait nous sommes dans l'obligation de proposer un algorithme N°2 alternatif (Determine + Doublecheck), plus pratique mais un peu moins spécifique et ne discrimine pas le VIH 1 du VIH2.



RECOMMENDATIONS

VII – RECOMMANDATIONS

Au terme de notre étude et au regard de ce que nous avons observés nous recommandons :

- D'évaluer les algorithmes par des utilisateurs de quelques centres, en conditions réelles de terrain.
- De mettre en place des ateliers de formations et un protocole de contrôle de qualité.
- D'envisager des supervisions formatives régulières en fonction des résultats du contrôle de qualité.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

VIII – REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AIDOO S, AMPOFO WK, BRANDFUL J A M, NUVOR SV, ANSAH J K et al - Suitability of a rapid immunochromatographic test for detection antibodies of human immunodeficiency virus in Ghana, West Africa, J Clin Microbiol 2001; **39** : 2572-75.
2. AMADOU A - Préparation d'une évaluation de la séroprévalence du VIH en population générale au Niger : quels prélèvements pour quels tests? Thèse de Doctorat d'Etat en Pharmacie (Université de Bamako), 2002, 132 p.
3. ANAES (Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé), services des recommandations et références professionnelles - Stratégies du diagnostic biologique de l'infection due au VIH chez les sujets âgés de plus de 18 mois (à l'exclusion du dépistage sur les dons de sang et chez les donneurs d'organes ou de tissus) 2000, 50 p.
4. ANRS (Agence Nationale de Recherche sur le SIDA), document d'information - Le diagnostic de l'infection à VIH au moment de la primo-infection 1997, 7 p.
5. BARNETT J, BHATIA R, BURKE N, CARBALLO M, CHAN H et al. Dépistage rapide du VIH aux points de services : questions juridiques et éthiques, Bull canadien VIH/SIDA et droit 1996 ; **3** (1) :30 p.
6. BCR (Bureau Central du Recensement). Résultats provisoires RGP/H-2001, 2002.
7. BOISIER P, OUKEM O, LOUBOUTIN CROC J P, AMADOU A. Enquête nationale de séroprévalence de l'infection par le VIH dans la

population générale âgée de 15 à 49 ans au Niger. Rapport final, novembre 2002.

8. BOUGOUDOGO F, MAIGA D, BANGAZANI E. Protocole de validation des algorithmes de dépistage du VIH par les tests rapides utilisables dans les centres de conseil et de dépistage volontaire (CCDV) au Mali, 6 p.
9. BRANSON MB. Recommended HIV testing strategies. *J Int Phys in AIDS* 2000; 28-30.
10. BRANSON MB, CONSTANTINE NT, RAYFIELD M et al - Rapid tests for HIV Antibody. *AIDS Rev* 2000 , 2 : 76-83.
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. CONSTANTINE NT, DOUGLAS M., JOHNNY DC. Dépistage HIV et contrôle de qualité, AIDSTECH/Family Health International 1991 ; 171p.
13. CPC (Centre Pasteur Cameroun) - Evaluation d'un algorithme sérologique associant deux tests rapides pour le dépistage individuel de l'infection à VIH dans la province Ouest du Cameroun, 2000.
14. CONNELL JA, PARRY JV, MORTIMER PP, DUCAN J – Novel assay for the detection of immunoglobulin G antihuman immunodeficiency virus in untreated saliva and urine. *J Med Virol* 1993 ; 41 (2) : 159-64.
15. 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.

16. DAGNARA AY, BOUGOUDOGO F, OURO-AKPO MT, SEGBENA AY, EHLAN A. et al. Evaluation de la performance de huit tests de diagnostic de l'infection à VIH à Lomé (Togo). *Med Trop* 2002 ; 62 : 507-10.
17. DA COSTA GC, MORGADO M G, ALARY M, OELEMANN WM, LOWNDES CM et coll. Diagnostic detection of human immunodeficiency virus type 1 antibodies in urine : a Brazilian study. *J Clin Microbiol* 2002 ; 40 (3) : 881-5.
18. DIALLO A A, DIOUM. A A, GUEYE-NDIAYE A, M BOUP S. Performances de huit tests rapides : propositions d'algorithmes de diagnostic de l'infection à VIH au Sénégal. Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Hôpital Aristide Le Dantec, Dakar, Sénégal, 14 p.
19. DOWNING RG, OTTEN RA, MARUM E, BIRYAHWAHO B, ALWANO-EDYEGU MG, SEMPALA SD, et al .Optimizing the delivery of HIV counseling and testing services : the Uganda experience using rapid HIV antibody test algorithm, *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol* 1998 ; 18 (4) : 384-8.
20. EHUI E, EHOLIE S, KAKOU A, TANON A, DOUMBIA S et al. Chimio prophylaxie anti-retrovirale après expositions potentielles au VIH à Abidjan/Résultats préliminaires problèmes pratiques et éthiques, 12PT3-280.
21. FLEURY HJA - Virologie Humaine. Paris : Masson, 3ème édition, 205 p.
22. FRANCOIS DABIS. La prévention de la transmission mère-enfant du VIH dans les pays en développement, *Afr Méd et santé* 1998 ; (7) : 35-38.

23. GAUTIER L C, DAHOUROU H, OUEDRAOGO-TRAORE R, OUANGRE A, BARIN F et coll -Le sérodiagnostic de l'infection à virus de l'immunodéficience humaine au Burkina Faso : des stratégies, fiables et pratiques, basées sur des tests du commerce meilleur marché . Bull World Health Organ 2000; 99-106.
24. GENTILLINI M. Médecine tropicale. Paris : Flammarion ; 5^{ème} édition 1993, 928p.
25. GRESENGUET G, TEVI-BENISSAN C, PAYAN C et coll. Stratégie alternative pour le diagnostic de l'infection par le VIH en Afrique subsaharienne. Bull. Soc Path Exot 1993 ; 86 : 236-42.
26. HARRIES AD, NYANGULU DS, HARGREAVES, KALUWA O, SALANIPONI .Preventing antiretroviral anarchy in sub-Saharan Africa. The Lancet 2001, 358: 410-4.
27. JOSEFSEN D, MYRMEL H .Evaluation of a rapid test for detection of antibodies against human immunodeficiency. Apmis 1989 ; 97 (1) : 95-6.
28. KOBLAVI-DEME S, MAURICE C, YAVO D, SIBAILLY TS, WIKTOR ZS et *al.* Sensibility and specificity of human immunodeficiency virus, rapid serologic assays and testing algorithms in antenatal clinic in Abidjan, Ivory Coast. J Clin Microbiol 2001, 39 : 1808-12.
29. LESBORDES JL. Aspects cliniques de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) en Centrafrique. Méd Trop 1988; 48 : 351-57.
30. LILLO F, VARNIER OE, MANTIA E, TERRAGNA A., VAN DER GROEN G , VAN KERCKHOVEN I. et *al.* Detection of HIV- antibodies

- in blood specimens spotted on filter-paper. Bull World Health Organisation 1992 ; 70 (3) : 323-6.
- 31.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 2002; 18 (Sous presse).
- 32.MAUCLERE P, ZEKENG L. Evaluation des différents tests rapides utilisés au Cameroun pour le dépistage des infections à VIH-1 groupe 0. Laboratoire de Virologie Cameroun.
- 33.MORTIMER P. The fallibility of HIV Western blot. Lancet 1993; 342 : 87-90.
- 34.MEEHAN MP, WAWER MJ, QUINN TC, LUTALO T, GRAY RH. sensitivity and specificity of HIV – 1 testing of urine compared with serum specimens : Rakai, Uganda. The Rakai Project Team. Sex Transm Dis 1999; 26 : 590-2.
- 35.NEWELL ML. Prevention of mother to child transmission of HIV challenge. Bull World Heath Organisation 2001; 79 : 1138- 44.
- 36.NOUEIRA SA, LAMBERT JS, ALBUQUERQUE AL, RODRIGUES R., REIS S, BORNIA R et al. Assessment of a rapid HIV test strategy during labor : a pilot study from Rio de Janeiro, Brazil. J Hum Virol 2001; 4 : 278-82.
- 37.OMS. Le point sur la pandémie mondiale de VIH/SIDA, fin 2001. REH 2001, 76 : 381-386.
38. OMS. Le point sur la pandémie mondiale de VIH/SIDA, fin 2002. REH 2002 : 417- 424.

39. OMS. Recommandations concernant le choix et l'utilisation des tests de dépistage des anticorps anti-VIH. REH, 16 oct 1998.
40. OMS. Surveillance du VIH/SIDA et estimations mondiales. RE H 2002 : 425-432.
41. OMS. Définition OMS du cas de sida aux fins de surveillance pour les adulte et les adolescents. R E H 1994, 69 : 273-5.
42. OMS/ONUSIDA. Guide pour l'utilisation des techniques de dépistage du VIH, Organisation mondiale de la Santé et Programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA 2001 ; W H O / C D S / C S R / E D C / 2 0 0 1 ; 55 p.
43. OMS/ONUSIDA. Importance des tests simples/rapides pour la recherche du VIH .REH 1998 ; 73 : 321-6.
44. ONUSIDA. Méthodes de dépistage du VIH (collections meilleures pratiques de l'ONUSIDA : actualisation 1997), 16 p.
45. ONUSIDA. Rapport sur l'épidémie mondiale VIH/SIDA 2000 ;135 p.
46. ONUSIDA. Transmission du VIH de la mère à l'enfant. collection meilleures pratiques de l'ONUSIDA, 1999!
47. ONUSIDA/OMS. Fiche épidémiologique sur le VIH/SIDA et les infections sexuellement transmissibles(Niger), Mise-à-jour 2000 (révisée).
48. PALMER C, DUBON J, KOENIG E et *al.* Field evaluation of the Determine rapid human immunodeficiency virus diagnosis test in Honduras and the Dominican Republic. J Clin Microbiol 1999 ; 37 : 698 - 700.

49. PEETERS M, MULANGA-KABEYA C, DELAPORTE E. La diversité génétique du VIH1. *Virologie* 2000, 4 : 371-381.
50. PHILLIPS S, GRANADE TC, PAU CP, CANDAL D, DALE JHV, PAREKH BS. Diagnosis of human immunodeficiency virus type 1 infection with different subtypes using rapid tests. *Clin Diagn Lab Immunol* 2000 ; 7 : 698-9.
51. PIOT P, COLL-SECK A. Prévention de la transmission du VIH de la mère à l'enfant en Afrique. *Bull OMS* 2000 ; Recueil d'article n°2.
52. PNLS/IST. Cadre stratégique national de lutte contre le VIH/SIDA/IST 2002-2006. Version provisoire du 27/02/02.
53. PNLS/IST. Rapport service épidémiologique 2001 Niger.
54. PNLS/IST. Evaluation participative sur l'infection à VIH/SIDA au Niger. Rapport de synthèse final juin 2002.
55. RAMALINGAM S, KANNANGAI R, RAJ AA, JESUDASON M V et *al.* Rapid particle agglutination test for human immunodeficiency virus : hospital based evaluation. *J Clin Microbiol* 2002, 40 : 1553 -4.
56. RAY CS, MASON PR, SMITH H, et al. An evaluation of dipstick-dot immunoassay in the detection of antibodies to HIV-1 and 2 in Zimbabwe. *Trop Med Int Health* 1997; 2 : 83-8.
57. REPUBLIQUE DU NIGER. stratégie de réduction de la pauvreté 2001 ; 200 p.
58. RESEAU DE SUIVI DE LA PANDEMIE DU SIDA (MONITORING THE AIDS PANDEMIC MAP), Rapport final, Symposium satellite officiel de la XI ème conférence internationale sur les MST et le SIDA en

- Afrique. La situation et les tendances des épidémies de VIH/SIDA en Afrique Subsaharienne, Abidjan, Côte d'Ivoire ; 3-4 décembre 1997 ; 24 p.
- 59.SATO PA, MASKILLWJ, TAMASHIRO H, HEYMANN DL. Stratégies for laboratory HIV testing : an examination of alternative approaches not requiring Western blot. Bull World Health Organization 1994 ; 72 : 129-34.
- 60.SATO PA, CHIN J, MANN JM. Réduction du risque de transmission du VIH par la transfusion sanguine. Bull OMS 1990, 68 : p.
- 61.SIMON F; HOUHOU N, LOUSSERT A et *al.* Diagnostic des infections par le VIH : données actuelles. Feuil biol 1994 ; 35 :33-9.
- 62.TAMASHIRO H, CONSTANTINE NT. Serological diagnosis of HIV infection using oral fluid samples. Bull World Health Organization 1994 ; 72 :135-43
- 63.TOURNIER JN et *al.* Variants du virus de l'immunodéficience humaine de type 1. Med et Mal Infect 1995, 25 : 709-15.
- 64.VAN DER GROEN G et *al.* Simplified and less expensive confirmatory HIV testing (approche simplifiée et moins couteuse de la confirmation de l'infection à VIH). Bull OMS 1991, 69 : 747-52.
- 65.VAN KERKHOVEN I. Comparative evaluation of 36 commercial assays for detecting antibodies to HIV (Evaluation comparative de 36 tests du commerce pour le dépistage des anticorps anti-VIH. Bull Soc Path Exot 1991, 69 : 753-60.
- 66.WINDSOR IM, GOMES DOS SANTOS ML, DE LA HUNT LI, WADEE AA, KHUMALO S, et *al.* An evaluation of the capillus HIV-

1/HIV-2 latex agglutination test using serum and whole blood. *Int J STD & AIDS* 1997 ; 8 :192-5.

67.ZAW M, FRERICHS RR, OO YK. Local evaluation of a rapid HIV assay for use in developing countries. *Trop Med Int Health* 1999 ; 4 : 216-22.

IX. FICHE SIGNALÉTIQUE

NOM: KOUKA HASSANE

PRENOM : Nafissa

TITRE : DEFINITION D'UNE STRATEGIE DE DEPISTAGE DE L'INFECTION A VIH PAR DEUX TESTS RAPIDES AU NIGER

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 : Virologie, Santé Publique

RESUME :

L'épidémie d'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) frappe actuellement tous les pays du globe, mais revêt une gravité particulière dans les pays en voie de développement. Le manque d'infrastructures et d'équipements sanitaires ainsi que le déficit en personnel qualifié de laboratoire posent un problème pour le diagnostic de l'infection à VIH. L'Afrique est un des continents les plus touchés et c'est aussi celui où le problème du diagnostic se pose avec la plus grande acuité. Notre étude a été menée au centre d'immunologie du CERMES et a été effectuée sur un panel de 207 sujets. Nous avons évalué les performances diagnostiques de cinq tests rapides du commerce. Il s'agissait des tests Determine (Abbot Laboratories), Génie II (Biorad), DoubleCheck (PBS Orgenics), Inocheck (Inodia) et Capillus (Trinity Biotech) conçus pour des prélèvements de sérum, plasma ou sang total. Dans notre étude, nous avons testé le plasma, le sang total, le sang séché sur sérobuvard et les urines de 42 sujets témoins VIH positifs et 160 sujets témoins VIH négatifs, contrôlés suivant l'algorithme de référence du CERMES.

Les tests Determine, Génie II et Doublecheck ont une excellente sensibilité de 100%. Pour la spécificité, le test Génie II a été le plus performant 100% suivi de Determine (98,8- 99,4%) et de Doublecheck (92,5- 97,5%). Les tests Capillus et Inodia ont été les moins performants. De ce fait l'algorithme que nous proposons est donc une association du test Determine suivi du test Génie II. La sensibilité et la spécificité de cet algorithme sont de 100%. Compte tenu des contraintes du test Génie II, un deuxième algorithme combinant Determine en premier test et Doublecheck en second test à été proposé. La sensibilité de ce deuxième algorithme est de 100% et sa spécificité >99,9%.

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



X - ANNEXES

ANNEXE 1 : CONSENTEMENT ECLAIRE

Evaluation d'un algorithme de dépistage de l'infection à VIH utilisant des tests rapides

Le VIH/SIDA est une menace de santé publique dans le monde (environ 42 millions de personnes sont atteintes). L'absence de vaccin et le manque de médicaments font que la prévention est le meilleur de lutte. Et cette prévention passe par le dépistage.

La stratégie classique de diagnostic du VIH est longue, coûteuse et techniquement difficile dans les pays en développement qui sont les plus sévèrement touchés par l'épidémie du SIDA...

Face à ce problème, de nouveaux tests dits tests rapides ont été mis au point. Il s'agit de tests faciles à utiliser qui exigent que peu ou pas de matériel et de formation et qui peuvent donner des résultats fiables le même jour. Ceci les rend particulièrement adaptés aux centres de conseil et dépistage et aux services de consultations prénatales pour la prévention de la transmission mère-enfant du VIH. Le fait de disposer de tests simples rapides permettrait aussi d'étendre le dépistage aux zones n'ayant pas de laboratoires.

Mais avant de mettre ces tests à la disposition des centres de santé, il est nécessaire de bien évaluer leur qualité.

Nous souhaiterions que vous participiez à cette évaluation des tests VIH en donnant quelques gouttes de sang d'un doigt, un échantillon urinaire et un échantillon de 5 ml de sang pris au pli du coude.

Pour faire les prélèvements, nous utilisons des instruments à usage unique sans aucun risque pour votre santé. Ces échantillons seront analysés dans le laboratoire du CERMES. La confidentialité sera garantie. Votre nom ne sera pas marqué sur la fiche. Un numéro d'identification sera attribué à chacun

d'entre vous. Si vous voulez connaître votre résultat sérologique, vous pouvez le signaler au moment de l'enquête. Personne d'autre que vous ne pourra connaître votre résultat.

Vous êtes libres de participer ou vous de refuser sans que cela ait une quelconque conséquence.

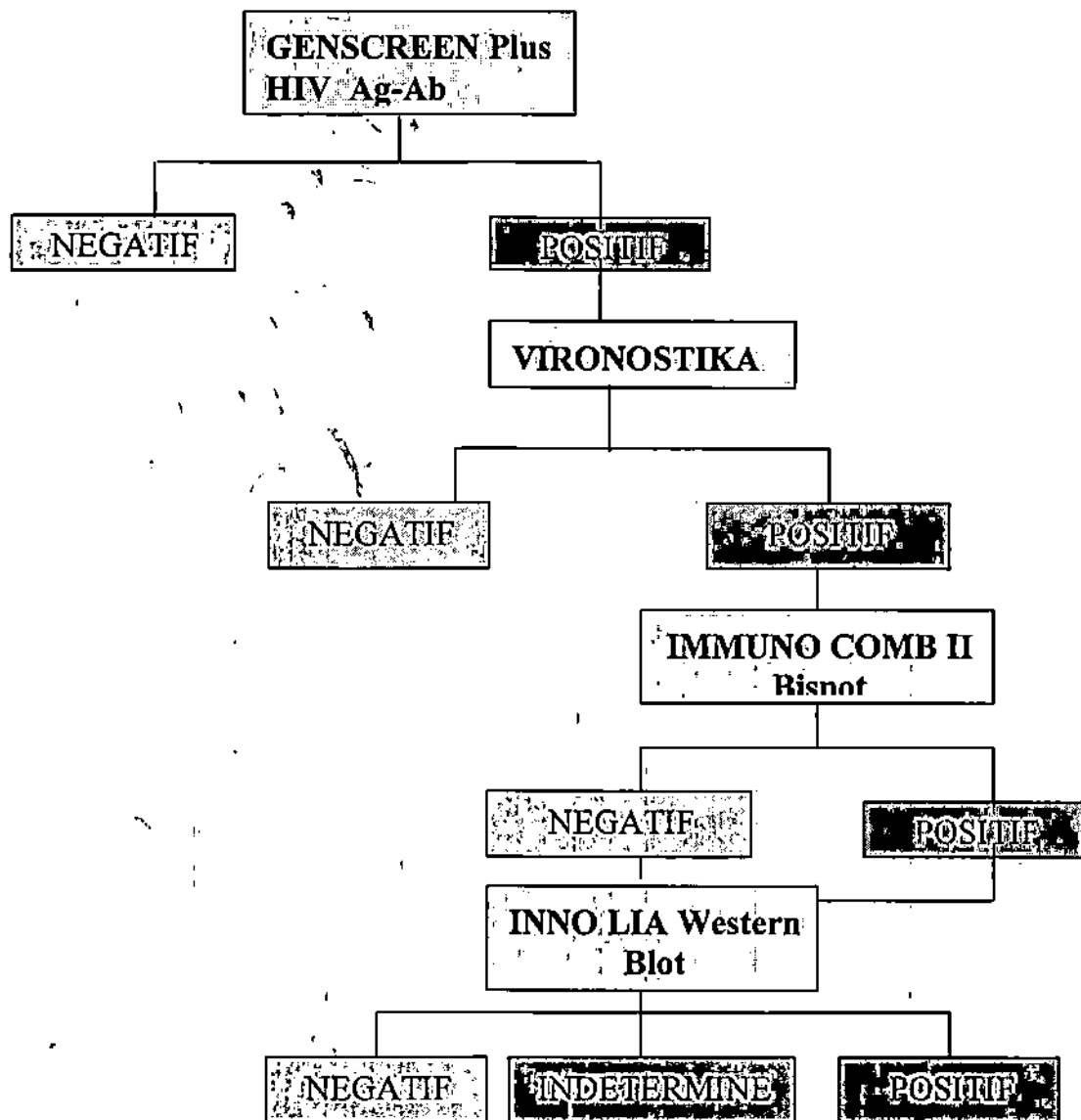
Avez-vous des questions ?

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

ANNEXE 2 : ALGORITHME DE REFERENCE DU CERMES POUR LE DIAGNOSTIC DE L'INFECTION VIH



Determine™

HIV-1/2

Lire attentivement cette notice avant l'utilisation du test. Les instructions d'utilisation doivent être suivies en conséquence. La fiabilité des résultats du test ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

DÉNOMINATION ET DOMAINE D'APPLICATION

Abbott Determine™ HIV-1/2 est un test immunologique qualitatif *in vitro* à lecture visuelle pour la détection des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Ce test constitue une aide pour la détection des anticorps anti-VIH-1/2 chez les sujets infectés.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

La syphilose d'immunoséquence acquise (SIDA) se caractérise par des modifications de la population des lymphocytes T. Chez le sujet infecté, le virus détruit les cellules T helper, exposant ainsi le patient à des infections opportunistes et à des cancers. Il existe 2 types de virus responsables du SIDA, à savoir le VIH-1 et le VIH-2. La présence du SIDA implique la production d'anticorps spécifiques au VIH-1 ou au VIH-2.^{1,2}

PRINCIPES BIOLOGIQUES DE LA MÉTHODE

Determine HIV-1/2 est un test immunochromatographique pour la détection qualitative des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2.

L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon. Comme l'échantillon migre jusqu'à la zone de dépôt de conjugate, il se rencontre et se lie avec les colloïdes de sélénium-antigène. Ce mélange continue à migrer sur la phase solide jusqu'aux antigènes recombinants immobilisés et aux peptides synthétiques au niveau de la fenêtre-patient.

Si les anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont présents dans l'échantillon, ils se lient à l'antigène du conjugate antigène-colloïde de sélénium et à l'antigène de la fenêtre-patient en formant une ligne rouge.

Si les anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont absents, le conjugate antigène-colloïde de sélénium traverse la fenêtre-patient sans former de ligne rouge.

Une barre de contrôle de la procédure est incluse dans ce système de test afin d'assurer la validité du test.

COMPOSITION

Test Abbott Determine HIV-1/2 Sérum/Plasma (Réf. 7D23-13), 100 tests

- Test Determine HIV-1/2, 10 cartons (10 tests par carton) recouverts d'antigène VIH-1/2 recombinant et de peptide synthétique.

Test Abbott Determine HIV-1/2 Sang total (Réf. 7D23-33), 100 tests

- Test Determine HIV-1/2, 10 cartons (10 tests par carton) recouverts d'antigène VIH-1/2 recombinant et de peptide synthétique.
- 1 flacon (2,5 ml) de tampon de fixation (Réf. 7D22-11) préparé dans du tampon phosphate. Conservateurs : Acetaminophène et antibiotiques.

ACCESSOIRES (nécessaires mais non fournis)

Sérum/Plasma ou Sang total (ponction veineuse)	Sang total (bout du doigt)
Pipette Réf. 7D22-51	Lancettes* Réf. 7D22-31
Embouts pour pipette Réf. 7D22-61	Tubes capillaires avec de l'EDTA Réf. 7D22-21

* Non disponibles dans les pays de l'Union Européenne

PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

Pour diagnostic *in vitro*.

ATTENTION :

Les échantillons et réactifs doivent être manipulés conformément aux règles biologiques en vigueur.^{3,4} Ces précautions comprennent, entre autres, les mesures suivantes :

- Porter des gants.
- Ne pas effectuer de pipetages à la bouche.
- Ne pas manger, boire, fumer, ni manipuler des produits cosmétiques ou des lentilles de contact dans les locaux où sont manipulés ces matériaux.
- Nettoyer et désinfecter toutes les éclaboussures d'échantillons et de réactifs à l'aide d'un désinfectant antimicrobien approprié tel qu'une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5%.^{5,6}
- Décontaminer et éliminer tous les échantillons, réactifs et autres substances susceptibles d'avoir été contaminées conformément à la réglementation en vigueur.^{5,6}

CONSERVATION

Les tests Abbott Determine HIV-1/2 et le tampon de fixation doivent être conservés entre 2 et 30°C jusqu'à la date de péremption. Les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption s'ils sont conservés et manipulés selon les indications du fabricant. Ne pas utiliser les composants du kit au-delà de la date de péremption.

PRÉLEVEMENT DES ÉCHANTILLONS

Prélèvement de sérum, de plasma et de sang total par ponction veineuse

Le sérum, le plasma et le sang total humains prélevés par ponction veineuse doivent être recueillis dans des conditions d'asepsie de manière à éviter l'hémolyse.

REMARQUE : Pour les échantillons de sang total et de plasma, il faut utiliser des tubes de prélèvement avec de l'EDTA.

Prélèvement de sang total sur le bout du doigt⁷

Avant de prélever un échantillon sur le bout du doigt, placer un tube capillaire avec de l'EDTA sur une surface propre et sèche

1. Pour les adultes et les enfants de plus d'un an, choisir le bout du majeur, de l'annulaire ou de l'index (choisir le moins calleux). Chauffer la main avec une serviette chaude et humide ou bien avec de l'eau chaude afin d'augmenter le flux sanguin.
2. Masser le bout du doigt avec de l'alcool ; laisser sécher à l'air. Placer la main paume vers le haut.
3. Utiliser une lancette différente pour chaque personne. Placer la lancette sur un côté du bout du doigt. Appliquer une ferme pression sur la lancette placée sur le doigt et piquer le point. Jeter la lancette dans un récipient pour déchets biologiques pointus.
4. Essuyer la première goutte de sang avec une gaze stérile.
5. Maintenir le doigt un peu plus bas que le coudé et appliquer par intermittence de faibles pressions à la base du doigt piqué. Effleurer la goutte de sang avec l'extrémité du tube capillaire contenant de l'EDTA*. Éviter la formation de bulles d'air.



* Si l'on utilise les tubes capillaires contenant de l'EDTA (Réf. 7D22-21), les remplir de sang jusqu'à un niveau situé entre les deux traits.

CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS

- Si le test est effectué dans les 7 jours qui suivent le prélèvement, les échantillons de sérum et de plasma doivent être conservés entre 2 et 8°C. S'ils sont analysés plus de 7 jours après le prélèvement, ils doivent être congelés à une température inférieure ou égale à -20°C.
- Si le test est effectué dans les 7 jours qui suivent le prélèvement, le sang total prélevé par ponction veineuse doit être conservé entre 2 et 8°C. Ne pas congeler les échantillons de sang total.
- Le sang total prélevé sur le bout du doigt doit être analysé immédiatement.

PROCÉDURE D'ANALYSE

Le nombre souhaité de tests peut être détaché du carton de 10 tests en plaçant et déchirant au niveau de la perforation

REMARQUE : Détacher les tests en commençant par la droite du carton de tests afin de préserver le numéro de lot apparaissant sur la gauche de ce carton.

1. Élever la protection plastique de chaque test.
2. Pour les échantillons de sérum ou de plasma :
 - a. Distribuer 50 µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole Flèche).
 - b. Attendre au moins 15 minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.
3. Pour les échantillons de sang total (ponction veineuse) :
 - a. Distribuer 50 µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole Flèche).
 - b. Attendre une minute, puis distribuer une goutte de tampon de fixation sur la zone de dépôt de l'échantillon.
 - c. Attendre au moins 15 minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.
4. Pour les échantillons de sang total (bout du doigt) :
 - a. Distribuer 50 µl d'échantillon (avec un tube capillaire contenant de l'EDTA) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : Flèche).
 - b. Attendre que le sang soit absorbé par la zone de dépôt, puis distribuer une goutte de tampon de fixation sur la zone de dépôt de l'échantillon.

GENIE II HIV-1/HIV-2

BIO-RAD

Code: 72323 Version: F4 Format: 40 tests

Principe du test
Le test Genie II HIV-1/HIV-2 est un test immunoenzymatique de double reconnaissance, basé sur la réaction spécifique des anticorps anti-HIV-1 et HIV-2 par des antigènes. Le test utilise l'immuno-chromatographie et l'immuno-concentration en contrebande.

Le support de réaction (Figure 1) est constitué de deux puits: le puits A, de forme creuse, pour le dépôt de l'échantillon, et le puits B, plus grand et plus profond, qui est le puits de réaction.



Figure 1. Support de réaction

La membrane du puits B est sensibilisée en deux spots de réaction séparés par des antigènes dérivés du VIH-1 et du VIH-2, et un troisième spot de Contrôle Interne permettant le suivi du bon déroulement du test (Figure 2).

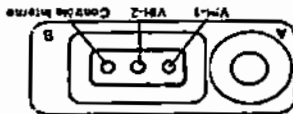


Figure 2. Identical: in des spots

Le test débute par le dépôt dans le Puits Echantillon A de l'échantillon dilué. Les anticorps anti-VIH contenus dans l'échantillon se fixent spécifiquement aux antigènes VIH bloqués et migrent le long de la membrane chromatographique. Au niveau du Puits de Réaction B, les complexes antigènes-anticorps se lient aux antigènes VIH immobilisés au cours d'une étape de "double reconnaissance" (Figure 3): Le complexe résultant réagit avec un conjugué streptavidine-phosphatase alcaline, permettant un substrat chromogénique qui permet la visualisation des résultats sous la forme d'un spot gris-bleu. Enfin, l'addition d'une solution d'arrêt termine la réaction.

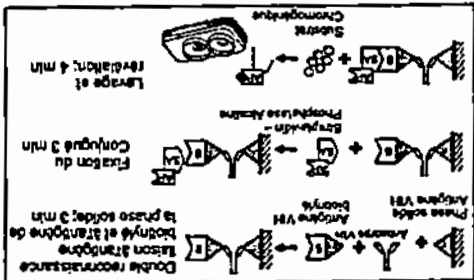


Figure 3. Principe du test

L'apparition de 2 ou 3 spots gris-bleu dans le Puits de Réaction B indique la présence d'anticorps anti-VIH (Figure 2). Dans le cas d'un résultat négatif, seul le spot de Contrôle Interne sera visible.

Mode opératoire

- 1. Capture des anticorps anti-VIH**
Distribuer 3 gouttes (150 µl) de réactif A dans un microtube. Ajouter 50 µl d'échantillon ou de Contrôle. Mélanger le contenu du tube par pipetage successif. Transférer immédiatement le contenu du tube par pipetage dans le microtube de la Puits Echantillon A du support de réaction. Jeter l'excédent de la pipette et le microtube en tant que déchet à risque biologique.
Attendre 3 minutes.

- 2. Liaison du Conjugué**
Ajouter 3 gouttes de réactif B dans le Puits de Réaction B (Conjugué Streptavidine-Phosphatase Alcaline) dans le Puits de Réaction B. Attendre 3 minutes.
- 3. Lavage**
Remplir à ras-bord le Puits de Réaction B avec le réactif C. Attendre 1 minute.
- 4. Révélation**
Ajouter 2 gouttes de réactif D et 4 (Substrat Chromogénique) dans le Puits de Réaction B. Attendre 3 minutes.

- 5. Réaction d'arrêt**
Remplir à ras-bord le Puits de Réaction B avec le réactif E (Solution d'arrêt). Attendre l'absorption complète de la solution, et lire le résultat.

Interprétation des résultats

Validation

Examiner la membrane au niveau du Puits de Réaction B. Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, le Contrôle Interne doit être présent sur chaque support de réaction (Figure 4A-D).
L'absence de Contrôle Interne est considérée comme un résultat invalide (Fig 4E et 4F), et le test doit être répété.

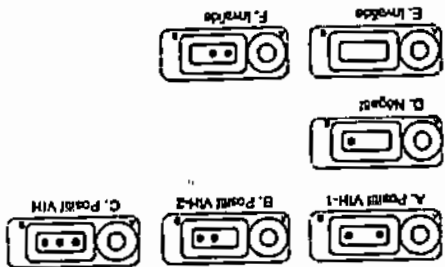


Figure 4. Validation et interprétation

Résultats:
Positif VIH-1 (Figure 4A): l'apparition du spot VIH-1 de gauche avec le spot de Contrôle Interne indique la présence d'anticorps anti-VIH-1.
Positif VIH-2 (Figure 4B): l'apparition du spot VIH-2 du milieu avec le spot de Contrôle Interne indique la présence d'anticorps anti-VIH-2.
Positif VIH (Figure 4C): l'apparition des trois spots indique la présence d'anticorps anti-VIH-1 ou VIH-2. Dans ce cas, la réaction doit être relévisée avec des méthodes complémentaires pour une différenciation plus poussée entre VIH-1 et VIH-2.
Résultat Négatif (Figure 4D): l'apparition du spot de Contrôle Interne seul indique l'absence d'anticorps anti-VIH. Toute trace de spot coloré doit être suspectée de représenter un résultat positif et doit faire l'objet d'investigations supplémentaires.

Résumé du mode opératoire

Le mode opératoire résumé ci-dessous est réservé aux utilisateurs expérimentés de la trousse Genie II HIV-1/HIV-2. (Pour des instructions détaillées, prière de vous reporter au texte complet)

Équilibrer les réactifs et les supports de réaction à température ambiante (22-26°C) et exécuter le test à température ambiante.

Étape:	Réactif:	Déposer:	Dans:	Temps:
1. Capture des anticorps	Réactif #1	3 gouttes (150µl)	Microtube	
	Echantillon	50 µl Mélanger	Transférer dans Puits A	Attendre 3 minutes
2. Liaison du Conjugué	Réactif #2	3 gouttes	Puits de Réaction B	Attendre 3 minutes
3. Lavage	Réactif #3	Remplir à ras bord (-1 ml)	Puits de Réaction B	Attendre 1 minute
4. Révélation	Réactif #4	2 gouttes	Puits de Réaction B	Attendre 3 minutes
5. Réaction d'arrêt	Réactif #5	Remplir à ras bord (-1 ml)	Puits de Réaction B	Attendre l'absorption complète et lire le résultat

LECTURE ET INTERPRETATION DES RESULTATS (au niveau du Puits de Réaction B)



BIO RAD

F

DoubleCheckGold™

VIH 1&2



ORGENICS

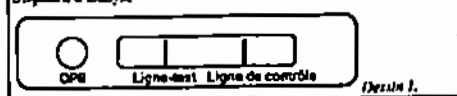
Code: 70032020 Version: 832F/4/20 Format: 20 tests

Le DoubleCheckGold HIV 1&2 est un test immunologique à usage unique pour la détection qualitative des anticorps dans le sérum humain ou le plasma sanguin dirigés contre le virus de l'immunodéficience humaine de type 1 et 2 (VIH-1 et VIH-2). 20 tests individuels peuvent être effectués avec un kit.

Principe du test.

Les protéines recombinantes représentant les régions immunodominantes des protéines d'enveloppe et de gag du VIH-1 et VIH-2 sont immobilisées dans la région-test de la bande de nitrocellulose. Les protéines de VIH-1 et VIH-2, liées à l'or colloïdal, sont imprégnées en-dessous de la région-test du dispositif d'analyse. Une étroite bandelette de la membrane de nitrocellulose est également sensibilisée en tant que région de contrôle.

Au moment de la réalisation du test, 10 µl de sérum ou de plasma sont introduits dans l'ouverture de prise d'échantillons (OPE), suivis de deux gouttes de réactif de rinçage. Les anticorps spécifiquement dirigés contre les protéines du VIH-1 et du VIH-2 réagissent avec des particules conjuguées à de l'or colloïdal.

Dispositif d'analyse

Le complexe anticorpe anti-VIH protéine du VIH - or colloïdal se déplace par chromatographie le long de la membrane vers la région-test et la région de contrôle du dispositif d'analyse.

Une réaction positive est indiquée par la présence de deux bandes colorées: une bande rougeâtre dans la zone-test et une seconde bande rouge dans la région de contrôle du dispositif.

Une réaction négative indiquant l'absence d'anticorps anti-VIH se traduit par une seule bande rouge, visible dans la région de contrôle du dispositif d'analyse.

Le fait que la bande de contrôle apparaisse indique que le test a été correctement effectué.

Mode opératoire.

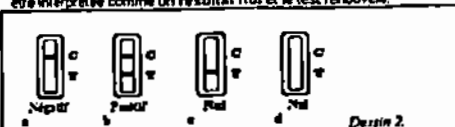
1. A l'aide d'une pipette à embouts jetables, déposer avec précaution 10 µl de l'échantillon dans l'ouverture prévue à cet effet (OPE). Traiter l'embout jetable comme un déchet biologiquement dangereux.
2. Ajouter immédiatement 2 gouttes (approx. 70 µl) du réactif de rinçage dans l'OPE.
3. Effectuer le test à température ambiante.
4. Les résultats devraient apparaître après 15 minutes d'incubation.

Les résultats sont stables durant 10 minutes supplémentaires (25 minutes après application de l'échantillon).

Interprétation des résultats**Validation**

Afin de confirmer le bon fonctionnement du test et pour démontrer la validité des résultats, la ligne de contrôle doit apparaître sur tous les dispositifs d'analyse (Cf. Dessin 2, a, b).

L'absence d'une ligne de contrôle interne (Cf. Dessin 2, c, d) doit être interprétée comme un résultat nul et le test renouvelé.

**Important:**

Tout signal faible au niveau de la ligne-test doit être interprété comme un résultat positif et doit conduire à des investigations complémentaires.

INO-Check® HIV 1/2

I. EXPLICATION DU TEST

Le virus HIV est reconnu comme l'agent causal du syndrome acquis d'immuno-déficience humaine (SIDA). Ce virus est transmis par voie sexuelle par le sang et dérivés sanguins infectés et par voie materno-fœtale durant la période périnatale. Le diagnostic de séropositivité au virus HIV est affirmé par des tests permettant la détection des anticorps anti-HIV dans le sérum ou le plasma. Parmi les méthodes immunologiques, pour le diagnostic HIV, figurent le test ELISA et les tests rapides immuno-chromatographiques. Les peptides synthétiques et les antigènes recombinants définissant l'antigénicité du virus HIV, permettent de nombreuses applications dans les tests ELISA dans le sérum. Aujourd'hui, l'utilisation d'antigènes recombinants a remarquablement augmenté la sensibilité et la spécificité des tests comparés à ceux qui ont été commercialisés et utilisant des peptides synthétiques. Les chercheurs de SD ont mis au point une technique d'expression des gènes HIV 1/2 pour synthétiser uniquement les antigènes recombinants et ce au sein d'écosystèmes bactériens comme E. Coli. Les antigènes les plus immunogènes des protéines du virus

HIV 1/2 selon les analyses western blot sont: HIV-1 gp41, p24 et HIV-2 gp36.

Le test INO-Check® HIV 1/2 est un test rapide immuno-chromatographique pour la détection des anticorps (tous les isotypes: IgG, IgM, IgA) spécifiques à la fois de l'HIV-1 et de l'HIV-2, dans le sérum, le plasma ou le sang humain total.

Le test INO-Check® HIV 1/2 contient une membrane en bande, enrobée des antigènes recombinants spécifiques à l'HIV de type 1 (gp41, p24) dans la région 1 de la bande-test et d'antigènes recombinants spécifiques au HIV de type 2 (gp36) dans la région 2 de la bande-test. Les antigènes recombinants de l'HIV 1/2 et l'échantillon de sérum diffusent à travers la membrane support jusqu'à la zone test (T) en formant une bande visible de complexe antigène-anticorps avec un haut degré de sensibilité et de spécificité. La zone test porte les chiffres '1' pour la ligne de test HIV-1, '2' pour la zone test HIV-2 et la lettre 'C' pour la ligne de contrôle interne. Aucune des 3 lignes test '1', '2' et 'C' n'est visible dans la fenêtre de lecture avant le dépôt de l'échantillon à tester. La ligne 'C' permet de contrôler la procédure du test. Elle doit toujours apparaître lorsque la procédure du test a été suivie correctement et que les réactifs de contrôle fonctionnent bien.

VI. PROCEDURE DU TEST

- 1) Retirer la plaquette de son emballage et la placer sur une surface plane et sèche
- 2) Verser délicatement 10 µl de sérum ou plasma ou 20 µl de sang total dans la cupule de la plaquette puis ajouter 3 gouttes de diluant de sérum (figure 1)
(3 gouttes de diluant = 120 µl)
- 3) Lorsque la réaction commence, on observe une coloration pourpre au niveau de la fenêtre de lecture qui se trouve au centre de la savonnette
- 4) La lecture du résultat se fait au bout de 5 à 20 minutes. Ne pas lire les résultats au delà de 20 minutes.



Précautions : le délai de lecture indiqué est basé sur une lecture à une température ambiante comprise entre 15°C et 30°C. Lorsque la température de la pièce où le test est fait est inférieure à 15°C, le délai de la lecture des résultats doit être plus long.

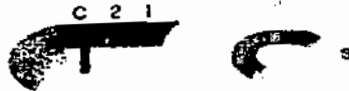
VII. INTERPRETATION DU TEST

- 1) L'apparition d'une bande colorée au niveau de la section gauche de la fenêtre de lecture indique que le test a été fait correctement. Cette bande représente le contrôle.
- 2) Le résultat s'affiche au niveau de la section droite de la fenêtre de lecture. Si une bande apparaît au niveau de cette section droite, cela signifie un résultat positif pour l'HIV-1 ou l'HIV-2 ou les deux.

Résultat négatif

1. HIV-1
2. HIV-2

Figure 2



La présence d'une seule bande dans la fenêtre de lecture indique un résultat négatif (figure 2)

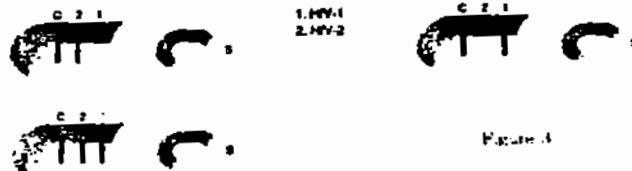
Résultat positif

La présence d'au moins deux bandes ('1', '2' et 'C') dans la fenêtre de lecture, et peu importe laquelle est apparue en premier, indique respectivement un résultat positif pour HIV-1 ou HIV-2, ou bien HIV-1 et HIV-2 (figure 3).

(figure 3)

1. HIV-1
2. HIV-2

1. HIV-1
2. HIV-2

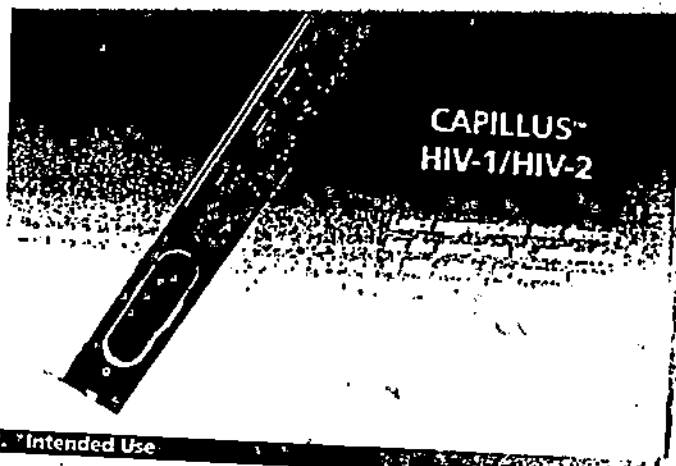


Résultat invalide

Si la bande colorée pourpre n'apparaît pas au niveau de la fenêtre de lecture après avoir procédé au test, le résultat est considéré comme invalide. Cela signifie que les étapes du test n'ont pas été suivies correctement ou que le matériel du dispositif test est détérioré. Il est recommandé de refaire le test sur le même échantillon.

1. HIV-1
2. HIV-2





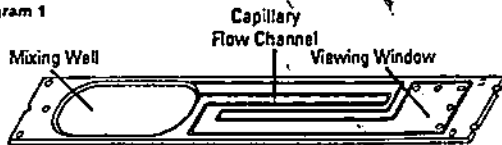
Intended Use

The Trinity Biotech Capillus™ HIV-1/HIV-2 is a rapid qualitative assay for the detection of antibodies to Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) and / or Human Immunodeficiency Virus Type 2 (HIV-2) in human whole blood, serum or plasma. The Capillus™ HIV-1/HIV-2 is intended as an initial screening test in low volume testing facilities, in emergency situations and in areas where sophisticated equipment is not available. In addition, the test can be used as a supplemental assay in test algorithms.

Principles of the Procedure

The majority antigens from the envelope proteins of HIV-1 and HIV-2 have been identified and cloned using recombinant DNA technology. These HIV-1 and HIV-2 proteins have been expressed and purified. The Trinity Biotech Capillus™ HIV-1/HIV-2 employs these two proteins bound to polystyrene latex beads to form the basis of a direct latex aggregation assay for the detection of antibodies to HIV-1 and / or HIV-2 in human whole blood, serum and plasma. The assay is performed on a patented capillary slide (the word 'slide' will be used from here forward when reference is made to the patented capillary slide). See Diagram 1 below.

Diagram 1

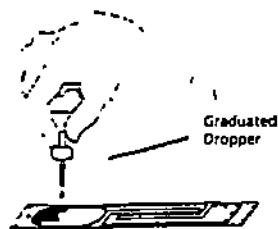


The slide consists of a well area for mixing of latex reagent and sample. At one end of the mixing well, there is a capillary flow channel which leads to a viewing window. The latex reagent and test sample are mixed in the mixing well on the slide. The mixed reagents are drawn to the flow channel and the reagents begin to flow by capillary action towards the viewing window. Samples with HIV-1 and HIV-2 specific antibodies will cause the antigen coated latex to aggregate. The capillary flow enhances the binding of specific antibodies to the latex and hence promotes aggregation. The reaction is read visually when the latex solution reaches the viewing window. Aggregation in the viewing window should be considered as initially reactive. A smooth milky white appearance is considered non-reactive.

Test Procedure

1. Do not use heat inactivated samples.
2. Allow reagents and patient samples to reach room temperature (18-25°C) before use.
3. Record patient sample identification number.
4. Place up to 10 slides on the interpretation station.
5. Mix the latex reagent well by gently agitating the bottle to ensure that the latex suspension is homogeneous. Avoid foaming of the latex reagent. Also draw latex up and down a few times with the graduated dropper to ensure good mixing before latex is dispensed onto the slide.
6. Draw the latex reagent to the calibration mark (120 µl volume approx). Avoid drawing up air bubbles. Dispense the reagent onto the slide at the edge of the mixing well furthest away from the capillary channel. Contact of the graduated dropper with the slide should be avoided when dispensing the reagent. See Diagram 2 below.

Diagram 2



Note: If the latex begins travelling down the slide before sample addition, discard slide and start again.

7. Using the precalibrated pipette, attach a fresh disposable pipette tip provided in the kit and retrieve the test sample or control (10 µl volume).
8. Dispense the sample directly into the latex solution. Using the pipette, mix the sample and the latex by pumping the mixture in and out of the tip three times and stir in a circular motion at least five (5) times.

Note: Effective mixing of sample in the latex is critical to ensure reproducible and accurate test results.

9. Continue to use the pipette tip to move the well mixed sample and latex solution to the opening of the channel until the capillary flow begins.

Interpretation of Test Results

Observe viewing window for aggregation. Samples demonstrating any latex aggregation should be considered initially reactive (Diagram 3). Samples showing no aggregation should be interpreted as non-reactive (Diagram 4). Record results on data sheet. Any reactive sample should be retested in duplicate with this test and / or with a supplemental test e.g. another product from the Trinity Biotech SeroCard™ or UniGold™ HIV range.

Diagram 3: Reactive

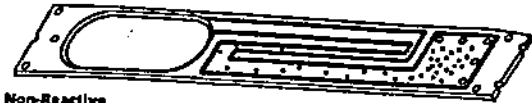
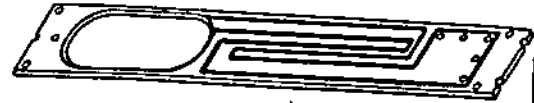


Diagram 4: Non-Reactive



SERMENT DE GALIEN

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

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

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

. De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs
envers le malade et de sa dignité humaine.

. En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes
connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et
favoriser les actes criminels.

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

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

Je le jure.