

Ministère de l'Éducation Nationale

REPUBLIQUE DU MALI

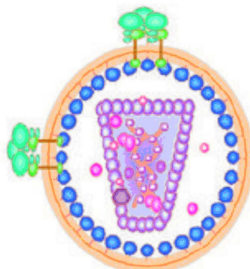
\*\*\*\*\*

Un Peuple - Un But -Une Foi

Université de Bamako

\*\*\*\*\*

Faculté de Médecine, de Pharmacie  
Et d'Odonto-Stomatologie



ANNEE 2003-2004

Titre :

**EVALUATION DES PERFORMANCES  
DE SEPT TESTS DE DEPISTAGE DU  
VIH UTILISES AU CNTS DE BAMAKO**

Thèse:

Présentée et soutenue publiquement le.....2004  
devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie  
par Mademoiselle **Haguiratou Wendlassida OUEDRAOGO**  
pour obtenir le grade de  
**DOCTEUR EN PHARMACIE**  
(Dipôme d'Etat)

JURY

Président du Jury : Professeur Amadou DIALLO

Membres : Docteur Soungalo DAO  
Docteur Boureïma KOURIBA

Directeur de Thèse : Professeur Anatole TOUNKARA

## SOMMAIRE

LISTE DES ABREVIATIONS.....	3
I- INTRODUCTION.....	9
OBJECTIFS .....	11
OBJECTIFS SPECIFIQUES .....	11
II - GENERALITES.....	12
II -1 HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE DU VIH .....	12
II-2 CLASSIFICATION DU VIRUS .....	12
II-3 CARACTERISTIQUES VIROLOGIQUES DU VIH.....	13
II 3-1 structure du VIH .....	13
II 3-2 ORGANISATION GENOMIQUE ET PROTEINES VIRALES .....	14
II - 4 LE CYCLE DE MULTIPLICATION.....	19
II 4-1 du virus (ARN) au provirus (ADN).....	19
II 4-2 du provirus aux nouveaux virions.....	20
II 5 – EPIDEMIOLOGIE ET MODES DE TRANSMISSION .....	21
II 5-1 Modes de transmission.....	21
II 5-2 L’EPIDEMIE DU SIDA DANS LE MONDE.....	24
II 6 DIAGNOSTIC DE L’INFECTION PAR VIH.....	30
II 6-1 Diagnostic biologique .....	30
II 6-2 STRATEGIE DE DEPISTAGE DU VIH.....	39
II 7- PREVENTION DE LA TRANSMISSION DU VIH.....	41
II 8- CELLULES CIBLES LORS DE L’INFECTION PAR VIH ET L’EVOLUTION DES MARQUEURS.....	42
II 8-1 Les cellules cibles du VIH. ....	42
II 8-2 Cinétique des anticorps .....	42
III MATERIELS ET METHODES.....	44
III 1-LIEU D’ETUDE.....	44
III 2- TYPE ET PERIODE D’ETUDE .....	44
III 3 - POPULATION D’ETUDE ET ECHANTILLONNAGE.....	44
III 4- METHODES D’ETUDE :.....	45
III 4-1 PRESENTATION DES TESTS .....	46
PRECAUTIONS A PRENDRE LORS DE LA SEROLOGIE HIV.....	63
III 4-2 CONSIDERATIONS ETHIQUES ET DEONTOLOGIQUES .....	65
III 4-3 -TRAITEMENT ET ANALYSE DES DONNEES : Terminologie.....	65
IV RESULTATS.....	68
V -COMMENTAIRES ET DISCUSSION .....	77
V-1 LA METHODOLOGIE .....	77
V-2 RESULTATS GLOBAUX .....	77
VI-CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS .....	83
VI - 1 CONCLUSION .....	83
VI –2 RECOMMANDATIONS .....	84
BIBLIOGRAPHIE.....	85
ANNEXE.....	87

## LISTE DES ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribonucléique  
ARN : Acide Ribonucléique  
ARNm : Acide Ribonucléique messenger  
ASTPHLD : Association des Directeurs de Laboratoires de Santé Publique des Etats et Territoires.  
CDC : Center for Disease Control  
CNTS : Centre National de Transfusion Sanguine  
ENV: Enveloppe  
ELISA: Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay  
F CFA : Francs de la communauté Fiduciaire Africaine  
GAG : Group Antigen  
Gp : Glycoprotéine  
HNPG : Hôpital National du Point G  
IgG : Immunoglobuline G  
IgM : Immunoglobuline M  
IST : Infection Sexuellement Transmissible  
LTR : Long Terminal Repeat  
MST : Maladies Sexuellement Transmissibles  
OMS : Organisation Mondiale de la Santé  
ONUSIDA : Organisation des Nations Unies pour le SIDA  
P : Protéine  
PNLS : Programme National de Lutte contre le Sida  
Pol : Polymérase  
RIPA : Radio ImmunoPrécipitation Assay  
Se : Sensibilité  
Sp : Spécificité  
SIDA : Syndrome de l'Immunodéficience Acquise  
SIV : Simian Immunodeficiency Virus  
VIH : Virus de l'immunodéficience Humaine  
VPP : Valeur Prédictive Positive  
VPN : Valeur prédictive Négative

## DEDICACES

**A L'ETERNEL DIEU** : l'Eternel est mon berger : je ne manquerai de rien. Il me fait reposer dans de verts pâturage , il me dirige près des eaux paisibles. Il restaure mon âme. Ceux -ci s'appuient sur leurs chars ceux-là sur leurs chevaux ;Moi j'invoque le nom de l'Eternel mon DIEU. Eux ils plient et ils tombent ; moi je tiens ferme et reste debout. Seigneur JESUS CHRIST à toi la gloire pour la durée des temps. Merci mon Seigneur et mon Dieu JESUS CHRIST .

**A mon père adoré OUEDRAOGO Karim.** Merci Papa pour tous vos efforts consentis pour notre réussite . Vous avez mis tous ce que vous possédez pour nous apprendre le sens de l'honneur ,de la dignité, de la morale, et du travail bien fait. Les mots me manquent pour exprimer toute ma gratitude et ma reconnaissance pour tous ce que vous avez fait pour moi. Papa voici le fruit de tous vos efforts consentis à mon égard.

**A ma mère chérie GANSONRE Maimouna.** Maman tu es la meilleure des mères .tu as toujours été là pour nous donner ton amour en abondance, nous éduquer. Ta douceur, ta gentillesse ,ta patience font de toi une mère adorable. Ce travail est l'aboutissement de toutes les souffrances que tu as endurée pour nous. Merci maman.

**A mes frères et sœurs YOUSOUF, MOUSSA ,MAHAMOUDOU, FATIMATA, MARIAM, HAOUA, AMINATA .** Pour votre amour votre soutien, vos encouragements, et vos prières qui m'ont été d'un secours inestimable. Ce travail est le vôtre . Recevez ma gratitude et ma reconnaissance.

**A madame et monsieur GABA EUGENE .** De près ou de loin , vous avez toujours participé à l'élaboration de ce travail .Que ce travail qui est le votre, soit le témoignage de ma reconnaissance et de ma gratitude.

**A mes oncles et tantes du Burkina**

**A tonton MAHAMOUDOU OUEDRAOGO .** Merci pour vos encouragements et votre soutien qui ne m'ont jamais manqué.

**A CHANTAL N'GATCHOU** pour son soutien ,sa disponibilité et ses encouragements

**A JOELLE GABA** ton affection que tu as manifesté à mon égard m'ont beaucoup aidé. C'est toi qui a guidé mes premiers pas au MALI. Ce travail est le tien.

**A DIAKITE SEGOU et FATOU DIAKITE** votre gentillesse, votre simplicité, votre sens de la famille ont fait de moi une des votre. Veuillez trouver dans ce travail l'expression de ma sincère gratitude.

**A DJENEBA SALIMATA , BABA , DILY,ALOU, RAMATA, SIRIMA** : Pour votre affection

A mes belles sœurs : **FATIMATA, NICOLE, MARIETOU** : pour votre aimabilité

A mes neveux :**SADIA, MICHAEL ,FARID , FATIM, FIDELIA,OUMRANE** : ce travail est pour vous.

A Pasteur **JULES COMPAORE ,ALFRED BONGOUNGOU**:pour vos prières et vos conseils.

A mes cousins **JULES,GILBERT, PAUL, MALGABAMBA ; FAATI , BINTA ,ZAHARA , BIBATA, SIDONIE , CELINE .**

A madame **CISSE AICHA CAMARA, JAMILATOU BELLO, RUTH COULIBALY** :Vous avez été toujours des amies sur qui je peux compter. Votre affection, disponibilité ne m'ont jamais fait défaut.

**A EDITH BOUGOUMA** : tout le temps que nous avons passé ensemble m'a fait découvrir en toi les qualités d'une femme ferme. Ce travail est le tien

**A MONIQUE NGUENAN** : mention spéciale

## REMERCIEMENTS

**DOCTEUR DANIEL YALCOUE** :pour sa disponibilité ,sa patience, son aide qu'il a manifesté à mon égard.

Tout le personnel du CNTS : tout le temps que nous avons passé ensemble me reste un souvenir inoubliable.

**A Mr ISSA, Mr BEKECH, MAI**, pour leur accueil

Aux pasteurs et fidèles de l'église de Badialan I

Aux pasteurs et fidèles de l'église de Konatébougou

**A ADAMA PAFADNAM**

**A CLAUDE OUANDAGO** : Pour ton aide, ta patience.

**A YACOU, HERMANE, SALAM, AIME, MIREILLE, KALOULE, COURA ,PATRICIA, AIDA, MOUSSA**

**A MADINA DIALLO** pour les bons moments passés ensemble

**DOCTEUR YACOU CISSOKO** :pour ta disponibilité ,ton aide.

A la famille **DIAKITE** de l'hippodrome ce travail vous appartient soyez sûr de mon respect

A mes collègues **Eve Tangara, Soumaila Guindo,**

Amadou Diawara, Moussa Doumbia, Abdoulaye Traoré , Hama Diallo, Moctar Guigba, Déde  
André Lallé, Hamadi Traoré, Oumar Dao, Hamane Ibrahim Touré, Abdramane , Diarra,  
Aboubacar Tékété ,Bassirou .

A tous mes aînés du CNTS : **Docteurs :Noumsi Ghislain, Moumine Sanogo, Oumar Tangara, Madani Mariko .**

**A Hamidou Sagara et tantie AWA**

**A Docteur GUITTEYE HASSANA**

**A tous mes amis Maliens**

**A tous mes amis de la classe d'anglais**

**A mes Cadets internes du CNTS**

## ***AUX MEMBRES DU JURY***

### **A NOTRE MAITRE ET PRESIDENT DU JURY**

**Le professeur Amadou Diallo  
Chef D.E.R en Biologie  
Chargé des cours de Biologie Animale et de  
Zoologie à la Faculté de Médecine de Pharmacie et  
D'Odonto-Stomatologie (F.M.P.O.S)**

Vous nous faites honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations. Homme ouvert et pragmatique. Votre compétence et votre rigueur scientifique font de vous un maître émérité, admiré de tous. Veuillez trouver ici notre sincère reconnaissance et notre profond respect pour tous les efforts consentis aux bénéficiaires de cette faculté.

### **A NOTRE MAITRE ET JUGE**

**Docteur Sounkalo Dao  
Assistant chef de clinique dans le service des maladies  
Infectieuses de l'hôpital national du point G**

C' est un grand honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail. Votre abord facile et votre rigueur scientifique sont des atouts qui nous ont fasciné et dont nous avons bénéficié au cours de notre formation. Recevez ici toute notre reconnaissance et notre plus grand respect.

### **A NOTRE MAITRE ET JUGE**

**Docteur Bouréïma Kouriba  
Maître assistant à la FMPOS  
Pharmacien , PHD d'immunologie**

Votre apport au cours de l'élaboration de cette thèse à été d'une qualité inestimable. Ce travail est donc le votre. Vos qualités humaines et intellectuelles, votre disponibilité permanente et votre simplicité font de vous un bon maître admiré. Recevez cher maître devant cette auguste assemblée l'expression de notre profonde gratitude et notre grande admiration.

## **A NOTRE MAITRE ET DIRECTEUR DE THESE**

**Professeur Anatole Tounkara**  
**Maître de conférence agrégé en Immunologie ,**  
**Responsable des enseignements d'Immunologie**  
**A la faculté de Médecine de Pharmacie et**  
**d'Odonto-Stomatologie (F.M.P.O.S)**  
**Directeur du Centre National de Transfusion sanguine (C .N.T.S.)**  
**Directeur du centre de recherche sur le VIH.**

Nous vous remercions pour la confiance que vous nous avez faites en nous confiant ce travail qui est aussi le votre. Nous avons toujours apprécié votre rigueur scientifique, et vos qualités de pédagogue qui ont modelé notre parcours académique.

Nous gardons de vous l'image d'un maître généreux dont le souci a toujours été de veiller à notre formation et à notre devenir professionnel.

Veillez trouver ici l'expression de notre profonde reconnaissance.



## I- INTRODUCTION

Le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA) est une maladie infectieuse d'origine virale se traduisant par un déficit profond de l'immunité cellulaire. Il est dû au VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine), un rétrovirus de la famille des Lentivirus dont 2 types ont été identifiés à ce jour. En 1983 L. Montagnier, J.C. Chermann, et Barré Sinoussi du département de rétro virologie de l'Institut Pasteur de Paris ont isolé le VIH-1. Puis en 1985, BARIN et collaborateurs ont montré qu'un autre rétrovirus humain apparenté au VIH-1 circulait en Afrique de l'Ouest (8). Il s'agissait du VIH-2 qui n'a pas connu un développement mondial même si des cas sporadiques ont été signalés de par le monde. Les modes de transmissions de ces 2 types de VIH sont semblables, cependant le VIH2 est cinq fois moins transmissible que le VIH-1 et ce lorsque le transmetteur est asymptomatique (33).

L'infection par le VIH est un problème de santé publique d'envergure mondiale avec ses nombreuses répercussions socio-économiques. En effet depuis la description des premiers cas en 1983, l'infection par le VIH est devenue une véritable pandémie. En 2003 environ 40 millions de personnes vivaient avec le VIH à travers le monde dont 70% en Afrique (48). De 1980 à 2000, 21,8 millions de victimes de l'infection par le VIH ont été recensées dans le monde (48). L'infection touche particulièrement les pays en développement notamment ceux d'Afrique et d'Asie (51). L'Afrique au Sud du Sahara paye un lourd tribut à la pandémie du VIH/SIDA avec 26,6 millions de personnes infectées et 3 millions de nouvelles infections pour l'année 2003 (48). Les projections indiquent que d'ici 2020, 55 millions d'africains mourront du SIDA si rien n'est fait pour stopper l'épidémie (67).

Au Mali, les premiers cas ont été signalés en 1985 (53) et l'enquête démographique de santé (EDSM-III) publiée en 2001 donne une séroprévalence globale de 1,7 % dans la population générale. Cette même étude confirme que dans notre pays les deux types du VIH sont rencontrés avec une prédominance du VIH-1 (53). Une étude effectuée au CNTS en 2003 donnait une séroprévalence de 4,02% chez les donneurs de sang de Bamako. Le CNTS est une structure de collecte, de traitement du sang et distribution des produits sanguins dans les établissements sanitaires du Mali. Le nombre d'unités de sang collectées et traitées par le Centre National de Transfusion Sanguine a connu une augmentation ces dix dernières années, passant de 3915 en 1993 à 16782 en 2002, pour atteindre environ 20000 en 2003. Cette situation impose donc au CNTS de disposer de tests de validation biologique des produits

sanguins répondants à des normes internationales afin de réduire la transmission d'un agent infectieux du donneur au receveur. La preuve sérologique de l'infection à VIH peut être obtenue en recherchant les antigènes du VIH ou les anticorps spécifiques des antigènes du VIH dans le sérum, le plasma ou dans les urines des personnes infectées (51).

Les antigènes ne peuvent en général être détectés que pendant la phase aiguë et la phase symptomatique du SIDA (51). Les anticorps anti - VIH-1 et/ou anti VIH2 peuvent être détectés pendant pratiquement toute la période d'infection (51). Il existe plusieurs techniques de dépistage de l'infection par le VIH qui sont essentiellement des méthodes immuno-enzymatiques. Plusieurs tests sont actuellement disponibles dans le commerce. Les valeurs diagnostiques de ces différents tests semblent équivalentes du point de vue des fabricants.

Cependant pour le biologiste les avantages d'un test par rapport à un autre peuvent être liés à différents éléments comme la praticabilité, la sensibilité, la spécificité et le coût. Au niveau d'une structure comme le CNTS, l'accent sera mis sur la sensibilité des tests, tandis qu'au niveau d'une structure de diagnostic et de traitement, la spécificité du test, sa praticabilité et son coût seront déterminants dans le choix.

Sur le marché des réactifs de nombreux tests de dépistages sont proposés. Parmi ces tests certains font appel aux urines. Est-il possible d'utiliser de tels tests dans une banque de sang pour la sélection des unités de sang ?

Le CNTS utilise plusieurs méthodes de dépistage du VIH applicables au sérum.

Quelles sont les différences entre ces tests en terme de spécificité, de sensibilité, de coût. Le dépistage des anticorps anti-VIH dans les urines pourrait-il remplacer celui du sérum ou du plasma dans une banque de sang ?

Pour répondre à ces questions il nous a paru utile d'entreprendre cette étude .

## **OBJECTIFS**

### **OBJECTIF GENERAL**

Evaluer la qualité des tests de dépistages de l'infection par le VIH au C.N.T.S. et dans le service des maladies infectieuses de l'Hôpital National du Point G.

### **OBJECTIFS SPECIFIQUES**

Déterminer, la sensibilité et la spécificité des tests de diagnostic de l'infection par le VIH utilisés au C.N.T.S

Calculer les valeurs prédictives positives et négatives des tests de diagnostic de l'infection par le VIH utilisés au C.N.T.S

Déterminer l'efficacité des tests de diagnostic de l'infection par le VIH utilisés au C.N.T.S

Comparer les mêmes tests chez les malades du SIDA au service des maladies infectieuses

Indiquer le test le plus adapté pour chaque situation

## II - GENERALITES

### II-1 HISTORIQUE DE LA DECOUVERTE DU VIH

Tout commença en 1981 quand le docteur Michael GOTTLIEB de l'université de Californie à Los Angeles eût la surprise d'observer en moins de 3 mois quatre malades d'une trentaine d'années souffrant d'une pneumonie à *Pneumocystis carinii*, et , ayant tous pour point commun, l'homosexualité ,et un effondrement des systèmes immunitaires (66).

Le 5 juin 1981,les premiers cas de ce qui sera dénommé par la suite syndrome d'immunodéficience acquis, sont rapportés par le « Center of Disease Control » d'Atlanta dans le Mortality and morbidity weekly report . C'était la sonnerie d'alerte. Dans les mois suivants, ce sont des cas de sarcome de Kaposi, tumeur rarissime chez le jeune qui sont observés, là encore chez les homosexuels. Une nouvelle maladie liée à un déficit de l'immunité est soupçonnée (17).

En 1982 , alors que cette affection était habituellement désignée sous le terme de G.R.I.D (gay related immunodeficiency syndrome), celui d' AIDS (acquired immunodéficency syndrome) était unanimement accepté .

L'isolement du virus interviendra en mai 1983 sous le nom de LAV (lymphoadenopathie associated virus) dans les cultures de lymphocytes T provenant d'un patient atteint d'un syndrome des lymphoadenopathies à l'institut Pasteur par l'équipe du professeur Luc Montagnier.

En juin 1984 Safai- Gallo et son équipe reconnaissent 100% des patients atteints de SIDA ,positifs pour les anticorps anti HTLV3 (humanT lymphotropic virus 3) qui est identifié au LAV et rebaptisé VIH (17).

En mars 1985 on assiste à la commercialisation du premier test de diagnostic sérologique et dès février de cette même année l'activité de la zidovudine vis- à -vis du VIH se confirme .

Depuis de nombreuses découvertes se sont suivies à propos , malgré tout cela l'environnement complexe du VIH n'est pas encore totalement élucidé (64).

### II-2 CLASSIFICATION DU VIRUS

Le virus de l'immunodéficience humaine appartient à la famille des rétrovirus . Ces virus sont répandus parmi les diverses espèces animales.

Cette famille de rétrovirus recouvre toutes les particules virales possédant la transcriptase inverse.(3)

Elle se divise en trois sous groupes répartis selon les critères de pathogénie et de phylogénie.

Les *oncovirus* à ARN : ils sont les plus répandus et entraînent des tumeurs et des leucémies, HTLV1 et HTLV2 appartiennent à ce groupe.

Les *lentivirus* entraînant des maladies à évolution lente dont les pneumonies et désordres neurologiques et sont cytopathogènes en culture. Le VIH appartient à ce groupe .

Les *spumavirus* identifiés chez de nombreux mammifères mais ne sont associés à aucune pathologie chez l'Homme et l'animal .(4)

## II-3 CARACTERISTIQUES VIROLOGIQUES DU VIH

### II 3-1 structure du VIH (32;4)

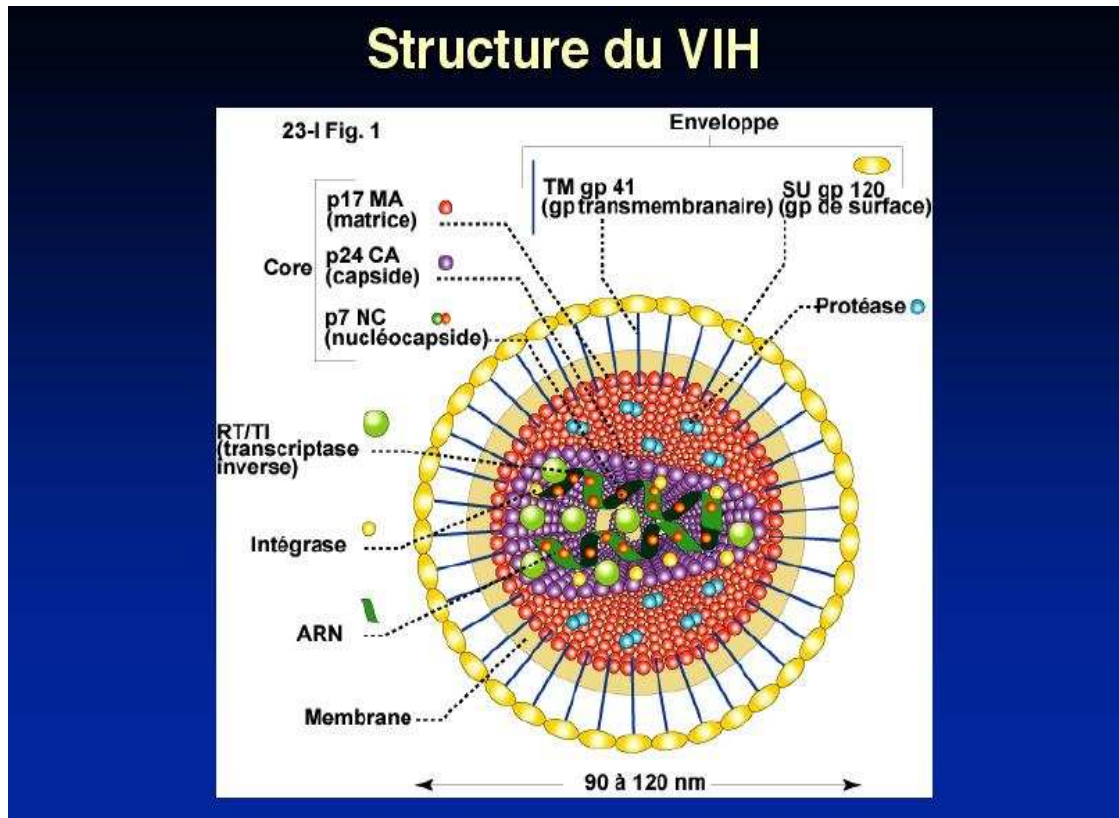


Figure 1 : Structure du VIH selon Y . Gille in [www.google.fr](http://www.google.fr) / rubrique / santé/SIDA

Le VIH est un virus enveloppé possédant, une nucléocapside dense excentrée quelquefois en forme de trapèze ou de barreau. En microscopie électronique, les deux virus présentent une morphologie similaire. La nucléocapside est constituée par des protéines internes du virus, la transcriptase inverse et de l'ARN viral.

## **II 3-2 ORGANISATION GENOMIQUE ET PROTEINES VIRALES**

L'ARN viral est condensé en cylindre avec deux protéines associées et une enzyme importante appelée "ADN polymérase ARN dépendante " ou transcriptase inverse.

Le noyau viral est entouré d'une coquille de forme conique appelée p24, qui est la protéine centrale majeure et est identique pour le VIH-1 et VIH-2.

Cet ensemble constitue la capsid qui est recouverte par deux enveloppes : la coquille protéique ou p17 et la bicouche lipidique traversée par des protéines membranaires (gp 41 attachées à la matrice p17 et aux gp120) qui font saillie à la surface de la particule virale. Ce sont ces saillies et ces protéines d'enveloppe qui différencient le VIH-1 et VIH-2. Les protéines correspondantes du VIH-2 sont les gp110/130 et gp36.

Comme tous les rétrovirus, les VIH-1 et VIH-2 sont produits par bourgeonnement à la surface des cellules infectées. Mais la morphologie de la particule mature est unique (19, 6, 31, 9).

### **II 3-2-1 MATERIEL GENETIQUE DES VIH (33, 28)**

Les VIH présentent la structure classique des génomes des rétrovirus .

► Les gènes de structure .

Gène gag ou gène de l'antigène de groupe ; il code pour les protéines de la nucléocapside ou core viral ;

Gène pol. ou polymérase code pour la transcriptase inverse, la protéase et l'endonucléase ;

Gène env. ou gène de l'enveloppe, code pour les protéines d'enveloppe.

► Les gènes régulateurs qui se situent entre env. et pol. : tat, rev, vif, vpr, et nef.

► La séquence LTR (Long Terminal Repeat) ou longue répétition terminale, possède des régions non codantes ; contient les éléments promoteurs qui contrôlent l'intensité de l'expression des gènes du virus et l'intégration aux gènes de la cellule hôte.

## II 3-2-2 GENOME VIRAL

Il est constitué d'au moins 3 gènes :

« gag » code pour la nucléocapside

« pol » pour la transcriptase reverse

« env » pour les protéines du virion.

A chaque extrémité de l'ADN proviral il existe une même séquence de gènes qui permet l'intégration au génome de l'hôte appelé le LTR.

A la suite d'« env » on retrouve au moins 6 gènes viraux supplémentaires qui sont « tat » « rev » « vif » « vpr » « vpu » et « nef ».

Ils interviennent dans la régulation de l'expression des protéines virales et par là même la multiplication du virus. Il semble même modifier l'expression de certains gènes cellulaires entraînant leur altérations d'où la destruction du système immunitaire hôte .

L'organisation génétique de VIH1 ,VIH2 et SIV ( simian immunodeficiency virus) est similaire. Mais chez le VIH1 et SIV le gène « vpu » est remplacé par « vpx ».

Sur la base des distances génétiques on a fait une classification du VIH1 en deux groupes M et O.

Le groupe M majoritaire regroupe jusqu'à 10 sous types de A à J.

Le groupe O a été identifié au Cameroun et au Gabon M

La classification du VIH –2 est en 5 sous types : A à E.

A partir de chaque gène « gag » « pol » et « env » dérivent des précurseurs polyprotéiques synthétisés dans les cellules infectées et il seront clivés en protéines par des enzymes .

Ainsi chez le VIH1 les protéines données par le « gag » sont : P25 ,P18 et P13 .

Le « pol » donne les protéines P51 -P28 ( la transcriptase inverse), P34 (l'endonucléase ou l'intégrase) , P12 (l'aspartyl protéase).

Le gène « env » donne les glycoprotéines externe (GP110/120) et transmembranaire (GP41).

Quant au VIH2 ses protéines internes sont légèrement modifiées en poids :P26 , P16, P12 aussi la protéine externe est la GP105 et la transmembranaire est GP36 (60).

.

	GROUPE M								groupe O
	A	B	C	D	E	F	G	H	
Europe occidentale		+							France +
Russie							+		
Roumanie						+			
Afrique	+	+	+	+	+	+	+	+	+
États-Unis		+							
Amérique du Sud		+	+						
Asie : Chine Inde Thaïlande Taiwan			+						
		+			+				

-

Distribution géographique des sous types selon F. RAFFI la lettre de l'infectiologie, Actualités sur le VIH – mars 1999

Les variants peuvent poser des difficultés lors du sérodiagnostic d'une infection à VIH .  
En 1989, on a isolé au Cameroun des VIH-1 dont la gp 120 ne présente qu'une homologie très faible avec les sous-types connus : ils constituent un nouveau **groupe O** (pour Outlier) du VIH-1.

Chacun des sous-types a une distribution géographique particulière ( 54 )



### II 3-3-3 VARIABILITE GENETIQUE DES VIH

L'organisation génétique des VIH-1, VIH-2 et du SIV est similaire. Cependant, on note l'absence du gène vpu au sein du génome des VIH-2 et SIV, et la présence d'un autre gène vpx. De plus l'analyse comparative précise de chaque élément génétique de ces virus a montré que le VIH-2 était proche du SIV macaque et SIV *mangabé* qu'il ne l'était du VIH-1 et de son homologue chez le chimpanzé SIV cpz (5).

La structure antigénique du VIH-2 montre par rapport au VIH-1 des différences au niveau des glycoprotéines d'enveloppe, des protéines du core et de la polymérase. Cependant les homologies entre les protéines du core (p25, p18 et p55, p40 pour le VIH-1 et p26, p16 et peut-être p55 pour le VIH-2) sont suffisantes pour qu'existent des réactions croisées avec des réponses positives inconstantes par ELISA (43). En revanche, il n'a pas été trouvé de réactions croisées entre les glycoprotéines d'enveloppe (gp110/120 et gp41 pour le VIH-1 ; gp130/140 et gp105 pour le VIH-2). Le génome du VIH-2 est sensiblement plus long que celui du VIH-1 (9600 protéines pour le VIH-2, contre 9200 pour le VIH-1 en ce qui concerne l'ARN) (6).

Ces variations sont prédominantes dans certaines régions du génome vir telles que le gène env. C'est le cas du domaine V3 de l'enveloppe du VIH-1 qui possède d'importantes fonctions biologiques et immunologiques(6)

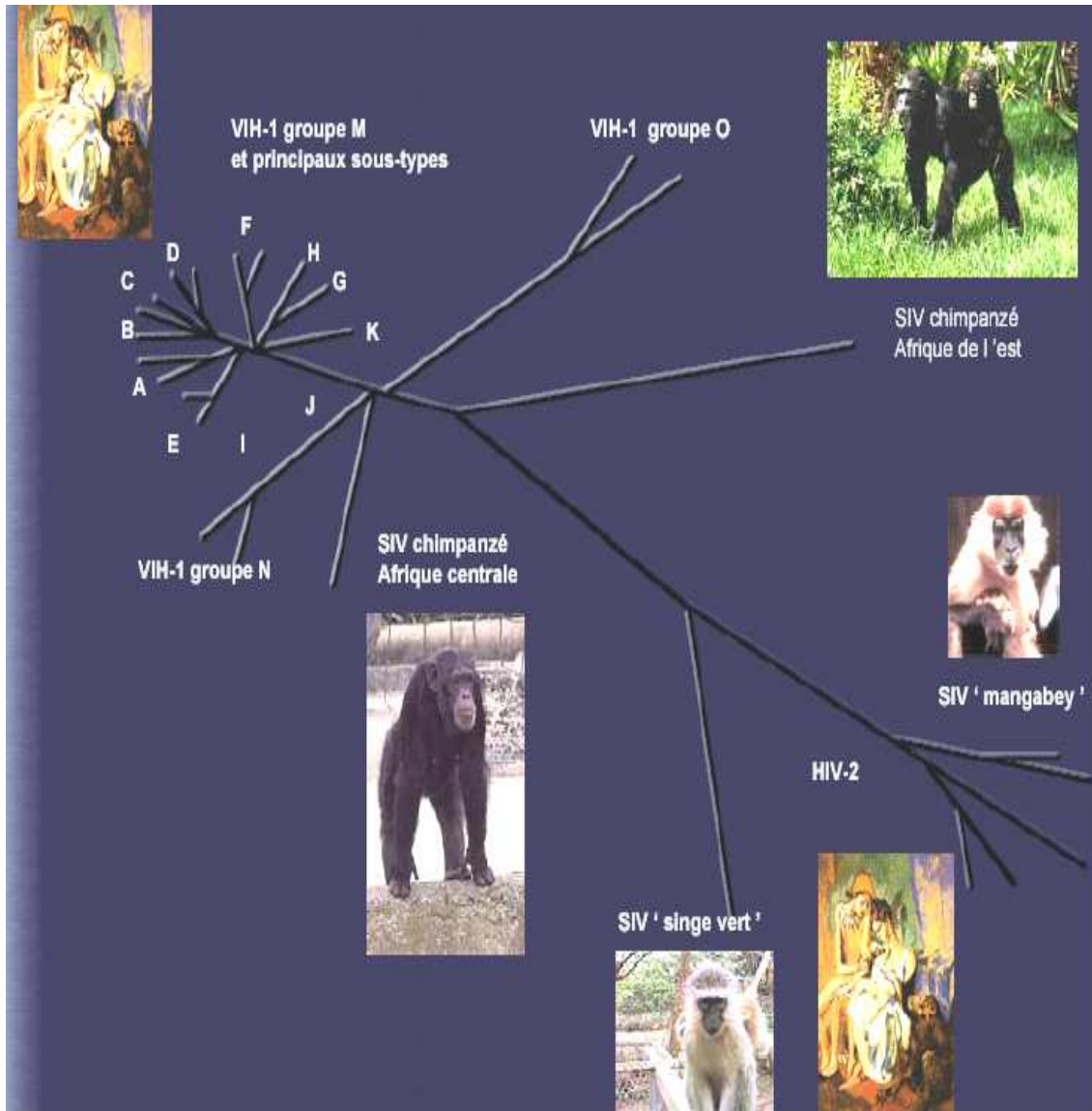


Figure 2 : Phylogénie des différents types et sous types du VIH .  
 Source : western blot bandelette hiv. pdf

## II - 4 LE CYCLE DE MULTIPLICATION

### II 4-1 du virus (ARN) au provirus (ADN)

#### - fixation par gp 120

La gp120 se fixe au récepteur viral qui est **la molécule CD4**.

- la molécule CD4 caractérise les **lymphocytes T-auxiliaires** (les lymphocytes Th ou CD4<sup>+</sup>).
- elle est également présente sur les **macrophages**, les **cellules dendritiques** des ganglions, de la rate et de l'épiderme (les cellules de Langerhans) ainsi que sur les **cellules microgliales** du cerveau (qui sont les macrophages résidents du SNC).

#### - pénétration par fusion

Après s'être fixée à CD4, gp120 doit trouver un second récepteur cellulaire, **un co-récepteur** : il se forme un complexe trimérique CD4 - gp 120 - co-récepteur indispensable pour permettre à la glycoprotéine gp 41 d'exercer son activité fusionnante.

#### - décapsidation

dans le cytoplasme, la capsid se désagrège et libère le génome.

#### - réplication

dans le cytoplasme de la cellule hôte, la rétrotranscriptase virale :

- 1°- copie l'ARN en ADN simple brin,
- 2°- hydrolyse le brin d'ARN,
- 3°- copie l'ADN simple brin pour former un ADN bicaténaire.

La réplication suit un mécanisme très complexe qui conduit à la création de séquences particulières aux extrémités de l'ADN proviral : les **LTR** (long terminal repeat).

Bien que ces séquences soient identiques, elles ne vont pas jouer le même rôle :

- en 5' le LTR est un promoteur puissant de la transcription,
- en 3' le LTR fournit le signal de coupure qui précède la polyadénylation. C'est aussi un promoteur potentiellement capable d'activer un gène cellulaire situé à proximité.

#### - circularisation

l'ADN viral est transporté dans le noyau, avec l'intégrase virale.

Il se circularise. L'intégrase est fixée au niveau des LTR

#### - intégration

l'intégrase coupe les deux brins de l'ADN cellulaire pour introduire l'ADN viral. L'intégration semble pouvoir se faire dans de multiples sites de l'ADN cellulaire.

**l'intégration dépend aussi de l'activation des cellules infectées :**

La rétrotranscription est lente et incomplète dans les cellules au repos : il se forme un ADN incomplet qui pourra être éventuellement complété si l'activation de la cellule ne survient pas trop tardivement. Sinon, l'infection avortera.

## II 4-2 du provirus aux nouveaux virions

### - Les 6 petits gènes de régulation

Outre les gènes *gag*, *pol* et *env*, le provirus des VIH-1 et 2 possèdent six gènes codant de petites protéines régulatrices.

Ce sont les gènes *tat*, *rev*, *nef*, *vif*, *vpr*, et *vpu* (VIH-1) ou *vpx* (VIH-2) :

<b><i>Tat</i></b>	(transactivator of transcription) la protéine Tat est un activateur puissant de la transcription en ARN-m et en ARN viral : en sa présence, les cellules infectées produisent 1000 fois plus d'ARN viraux.
<b><i>Rev</i></b>	<b>Regulation of expression of viral proteins</b> la protéine Rev permet l'exportation des ARN-m codant les protéines de structure et les enzymes virales.
<b><i>nef</i></b>	<b>negative regulatory factor</b> : favorise la réplication virale
<b><i>Vif</i></b>	<b>virion infectivity factor</b> la protéine Vif augmente l'infectivité des nouveaux virions formés par la cellule.
<b><i>vpr</i></b>	<b>viral protein r</b> : activateur de la transcription
<b><i>Vpu</i> (VIH-1) ou <i>vpx</i> (VIH-2)</b>	<b>viral protein u</b> rôle encore incertain dans l'assemblage des virions <b>viral protein x</b>

Les gènes *tat* et *rev* sont constitués chacun par deux exons éloignés l'un de l'autre.

### - Transcription (en ARN-m) et réplication (en ARN complets)

Le **provirus** dépend de l'ARN polymérase cellulaire pour sa transcription en *ARN-messagers* et en *ARN génomiques*.

La régulation de l'expression des gènes dépend à la fois de l'activité des protéines régulatrices virales et de la coopération de facteurs cellulaires.

Au début de l'expression du provirus, les gènes de régulations seuls s'expriment. Puis les protéines régulatrices et des facteurs cellulaires orientent l'activité de l'ARN-polymérase vers la transcription des gènes codant les protéines de structure et les enzymes, aux détriment des protéines de régulation.

L'unique transcrit primaire d'ARN qui se forme peut servir :

- d'ARN-m, après avoir subi divers montages (par excision-épissage), pour toutes les protéines virales,
- d'ARN génomique.

- **Les 3 gènes gag, pol et env**

- **le transcrit primaire non épissé**

permet la synthèse des protéines de capsid ainsi que les enzymes nécessaires à la réplication du virus, qui seront intégrées dans les virions

La traduction par les ribosomes génère deux polyprotéines : **une polyprotéine Gag** Pr p55 (90 %) - (Pr = précurseur) et **une polyprotéine Pol** Pr p180 (10 %).

Les polyprotéines migrent vers la membrane cytoplasmique où elles seront découpées en protéines internes et en enzymes sous l'action de **la protéase virale**.

Ce découpage survient au cours de la maturation qui s'achève **après libération** des particules virales.

- **le transcrit primaire ayant subi une seule excision-épissage :**

permet la synthèse des **glycoprotéines** de l'enveloppe.

La traduction par les ribosomes génère **une polyprotéine** qui possède un peptide signal permettant la fixation du complexe au réticulum rugueux. La protéine subit une glycosylation dans l'appareil de Golgi pour donner la glycoprotéine précurseur Pr **gp160** qui sera découpée en **gp120** et **gp41** par une protéase cellulaire

- **Encapsidation, morphogenèse et libération**

Sous la membrane de la cellule, remaniée par l'insertion des glycoprotéines virales, toutes les protéines de structure s'accumulent.

Les deux molécules d'ARN s'en recouvrent. L'ARN-t cellulaire est fixé sur le site convenable (PB) grâce à la protéine p15.

Les nouveaux virions bourgeonnent.

**Ces particules virales sont encore immatures** : la maturation des précurseurs s'achève grâce à l'activité de la protéase virale.

## II 5 – EPIDEMIOLOGIE ET MODES DE TRANSMISSION

### II 5-1 Modes de transmission

Les actes de la vie quotidienne ne représentent aucun risque de transmission du VIH. Si le VIH a été isolé dans la plupart des liquides sécrétés par l'homme, seuls le sang, les produits sanguins, le sperme et les sécrétions cervico-vaginales ont été incriminées dans la transmission des VIH. Le mode de transmission majeur est la voie sexuelle (4, 5, 22).

## **II 5-1-1 Transmission sexuelle**

Si au début de l'épidémie la plus part des cas de SIDA recensés étaient des homosexuels, en Afrique, aux Caraïbes et dans de nombreux pays en voie de développement, la transmission hétérosexuelle représente le mode de contamination dominant (34). Cela est dû à des facteurs socio-économiques tels que la pauvreté et l'augmentation sans cesse croissante de la prostitution.

Elle s'effectue par l'intermédiaire des muqueuses buccales, vaginales ou rectales lorsqu'elles rentrent en contact avec des sécrétions sexuelles ou du sang contenant du virus. Lors d'une pénétration vaginale, le risque de transmission est supérieur d'un homme séropositif vers une femme séronégative à celui qui existe d'une femme séropositive vers un homme séronégatif surtout lorsque la femme est en règle.

La pénétration anale multiplie ce risque par trois (70).

La contagiosité d'un porteur du VIH est variable dans le temps, car la quantité de virus présente dans les sécrétions sexuelles est fonction de l'état, latent ou non de ce dernier. Cela explique qu'un porteur du virus puisse contaminer plusieurs personnes dans un laps de temps, à l'inverse d'autres porteurs ne contaminent pas leur partenaire, malgré une vie sexuelle sans protection pendant des mois, des années. C'est ce qui expliquerait la forte contagiosité du VIH-1 par rapport au VIH-2 (70).

## **II 5-1-2 Transmission sanguine :**

C'est la voie la plus directe de transmission, et comporte deux modes distincts :

### **II 5-1-2-1 La transmission par des objets souillés**

(aiguilles, lames, seringues, couteaux)

Le partage de seringues entre les toxicomanes est l'un des facteurs essentiels de l'extension de l'épidémie du VIH dans plusieurs régions du monde : Russie et Europe orientale, Inde et Indonésie, Chine, les Etats Unis, le Proche et le Moyen Orient.

Ce mode concerne essentiellement les consommateurs de drogues injectables par voie intraveineuse. Il représente aux Etats Unis la deuxième voie de contamination après celle des relations sexuelles entre homosexuels (70) .

Au 1er février 1988 ; 17% des 50 000 cas signalés par le CDC d'Atlanta étaient représentés par des sujets hétérosexuels utilisateurs de drogues (69), 8% étaient des homosexuels toxicomanes.

Ce mode de transmission est également incriminé en Afrique par l'utilisation de seringues, d'aiguilles ou de lames usagées (55) lors de scarifications, de circoncisions et d'excisions.

Bien que rares, les contaminations professionnelles (infirmiers, médecins, biologistes, etc) par inoculation accidentelle de sang contaminé par le VIH, les piqûres accidentelles avec des aiguilles contaminées par le sang frais existent également.

## **II 5-1-2-2 La transmission par transfusion sanguine :**

Les premiers cas de SIDA furent décrits en 1982 aux Etats Unis chez les hémophiles après les homosexuels (15).

L'instauration du dépistage systématique des dons de sang a considérablement réduit le risque de transmission. Néanmoins il subsiste une " fenêtre " chez des donneurs prélevés dans les semaines ou les mois suivant une contamination qui peuvent ne pas avoir encore développé d'anticorps anti-VIH détectables.

### **II 5-1-3 Transmission verticale**

La transmission du virus de la mère à l'enfant peut survenir à différentes étapes de la grossesse :

- *In utero* : dans les semaines précédant l'accouchement dans un tiers des cas ;
- *Intra partum* : au moment de l'accouchement dans deux tiers des cas.
- La période d'allaitement présente également un risque d'infection pour l'enfant estimé entre 5 et 7 % [65].

Le taux de transmission materno-fœtale du VIH-1, en l'absence de traitements ARV est de 18 à 25 % et ce quelque soit le mode de contamination de la mère ou son origine géographique ; contrairement au VIH-2 où le risque de transmission de la mère à l'enfant serait de l'ordre de 1% [65].

### **II 5-1-4 Autres modes de transmission**

Même s'il a été retrouvé dans la salive, les urines, les larmes, le liquide céphalo-rachidien et le liquide broncho-alvéolaire ; la transmission du VIH n'est cependant pas automatique à cause de la faible concentration de virus présent dans ces liquides et de la présence éventuelle de composants inactivant les virus.

Pour ces liquides, le risque de transmission est théorique et les cas anecdotiques publiés ne permettent jamais d'écarter la possibilité de souillure du liquide impliqué par le sang. La possibilité de transmission par les insectes hématophages a été écartée (3).

## **II 5-2 L'ÉPIDÉMIE DU SIDA DANS LE MONDE**

L'infection par le VIH est très largement répandue dans le monde. C'est une véritable pandémie. Dans le monde ce sont 5 millions de personnes qui, estime-t-on ont été infectées en 2001, dont 800 000 enfants de moins de 15 ans, 4,2 millions d'adultes dont 2 millions de femmes. Ceci a porté à 42 millions le nombre de personnes vivants avec le VIH dans le monde en 2002 et la prévalence globale à 1,2%. Si rien n'est fait pour les traiter elles rejoindront au cours de la prochaine décennie les plus de 20 millions de personnes mortes de SIDA. En 2002 sont estimés à 3,1 millions pour le total, avec 2,5 millions d'adultes dont 1,2 millions de femmes et 610 000 enfants de moins de 15 ans. Les modes de transmission sont principalement hétérosexuelle mais on retrouve des modes homosexuels en Asie, en Amérique, en Europe et surtout en Australie où il est de loin le principal mode. Il y a aussi la transmission par injection de drogue en Afrique du nord, en Amérique, en Asie et en Europe. (45)

L'évaluation de cette épidémie passe le plus couramment par la mesure de la prévalence des infections à VIH dans la population adulte vivant avec le VIH.

Mais elle donne une image moins précise des tendances récentes de l'épidémie car elle ne distingue pas les personnes qui ont contracté le virus très récemment des personnes qui ont été infectées il y a un décennie ou davantage car en l'absence d'un traitement antirétroviral une personne peut survivre en moyenne entre 9 et 11 ans après avoir contracté le VIH, avec un traitement la survie augmente considérablement. Ainsi pour deux pays A et B ayant la même prévalence la vaste majorité des personnes vivant avec le VIH dans le pays A pourraient avoir été infecté entre 5 et 10 ans auparavant et les infections récentes très rares alors que dans le pays B la vaste majorité des infections pourraient avoir eu lieu au cours des deux dernières années. Ces différences auront manifestement un impact énorme sur le type d'actions de prévention et de prise en charge que les pays A et B devront mettre en place. De même la prévalence peut être stable dans un pays mais suggérant que les nouvelles infections se produisent à un rythme régulier mais cela pourrait ne pas être le cas, mais le pays pourrait connaître des taux plus élevés de mortalité due au SIDA (lorsque des personnes infectées approximativement 10 ans auparavant décèdent en grand nombre et avec une augmentation



des nouvelles infections. Les taux globaux de prévalence ne mettraient en évidence ces particularités ).

C'est pourquoi la mesure de l' incidence du VIH contribue à compléter l'image des tendances actuelles . seulement elle est coûteuse . Aussi une mesure régulière de la prévalence parmi les jeunes de 15 à 24 ans peut être le reflet des tendances. Les régions les plus touchées sont respectivement l'Afrique subsaharienne, l'Asie du sud et du Sud Est , l'Amérique latine, l'Asie de l'est et pacifique , puis l'Europe oriental et l'Asie centrale . les projections montrent que 45 millions de personnes supplémentaires pourraient être infectées par le VIH dans 126 pays a faibles revenus entre 2002 et 2010 a moins que l'on ne parvienne a mettre en place une action mondiale de prévention considérablement élargie.

**TABLEAU I :** Récapitulatif de l'épidémie de VIH/ SIDA dans le monde  
 Décembre 2002 d'après (46)

<b>Nombre de personnes vivants avec le VIH/SIDA</b>	<b>TOTAL</b>	<b>42 millions</b>
	Adultes	38,6 millions
	Femmes	19,2 millions
	Enfants < 15 ans	3,2 millions
<b>Nouveaux cas d'infection à VIH en 2002</b>	<b>TOTAL</b>	<b>5 millions</b>
	Adultes	4,2 millions
	Femmes	2 millions
	Enfants < 15 ans	800000
<b>Décès du SIDA en 2002</b>	<b>TOTAL</b>	<b>3,1 millions</b>
	Adultes	2,5 millions
	Femmes	1,2 millions
	Enfants < 15 ans	610000

**TABLEAU II : Récapitulatif de l'épidémie de VIH /SIDA dans le monde**

Décembre 2003 d'après (46)

<b>Nombre de personnes vivants avec le VIH/SIDA</b>	<b>TOTAL</b>	<b>40 millions (34-46 millions)</b>
	Adultes	37 millions (31-43 millions)
	Enfants < 15 ans	2,5 millions (2,1-2,9 millions)
<b>Nouveaux cas d'infection à VIH en 2003</b>	<b>TOTAL</b>	<b>5 millions (4,2 – 5,8 millions)</b>
	Adultes	4,2 millions (3,6-4,8 millions)
	Enfants < 15 ans	700000(590000-810000)
<b>Décès dus au SIDA en 2003</b>	<b>TOTAL</b>	<b>3 millions (2,5 - 3,5) millions</b>
	Adultes	2,5 millions( 2,1-2,9 millions)
	Enfants < 15 ans	500 000

**II 5-2-1 LE SIDA EN AFRIQUE AU SUD DU SAHARA**

Les premières infections ont été décrites dans les années 70. En 2003 au total 26,6 millions de personnes vivent avec le SIDA en Afrique subsaharienne (46). La transmission est majoritairement hétérosexuelle . Dix millions de jeunes et près de 3 millions d'enfants vivaient avec le VIH en 2002 (45).

Une minuscule fraction des millions d'Africains qui ont besoin d'un traitement antirétroviral en bénéficient. Des millions d'entre eux n'obtiennent même pas les médicaments pour le traitement des infections opportunistes

## II 5-2-2 Le sida dans le reste du monde

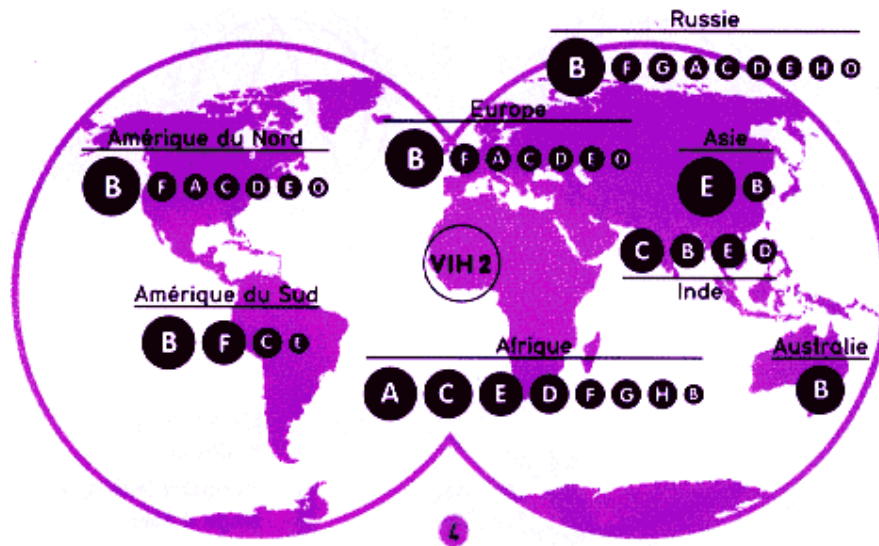


Figure 3 : Répartition des différents types et sous types de virus dans le monde d'après (79)

TABLEAU III : STATISTIQUES ET CARACTERISTIQUES DE L'EPIDEMIE DE VIH/SIDA PAR REGION EN 2003 (74)

Région	Adultes et enfants vivants avec le VIH/SIDA	Nouveaux cas d'infection à VIH chez les adultes et les enfants	Prévalence chez l'adulte (%)	Décès dus au SIDA chez l'enfant et l'adulte
Afrique subsaharienne	25,0-28,2 millions	3,0-3,4 millions	7,5-8,5	2,2-2,4millions
Afrique du Nord et Moyen-Orient	470 000-730 000	43 000-67 000	0,2-0,4	35 000-50 000
Asie du Sud et Sud-Est	4,6-8,2 millions	610000-1,1million	0,4-0,8	330000-590000
Asie de l'Est et Pacifique	700 000-1,3 millions	150 000-270 000	0,1-0,1	32 000-58 000
Amérique latine	1,3-1,9 millions	120 000-180 000	0,5-0,7	49 000-70 000
Caraïbes	350 000-590 000	45 000-80 000	1,9-3,1	30 000-50 000
Europe orientale et Asie centrale	1,2-1,8 millions	180 000-280 000	0,5-0,9	23 000-37 000
Europe occidentale	520 000-680 000	30 000-40 000	0,3-0,3	2 600-3 400
Amérique du Nord	790000-1,2million	36 000-54 000	0,5-0,7	12 000-18 000
Australie et Nouvelle Zélande	12 000-18 000	700-1 000	0,1-0,1	<100
<b>TOTAL</b>	40 millions (36-46 millions)	5 millions (4,2-5,8millions)	1,1% (0,9-1,3%)	3 millions (2,5-3,5 millions)

Dans ce tableau, les fourchettes autour des estimations définissent les limites dans lesquelles se situent les chiffres même sur la base des meilleures informations disponibles.

## II 5-2-3 Situation de l'infection à VIH au Mali

Pour lutter contre le VIH/SIDA, le gouvernement malien a mis en place un programme national de lutte contre le SIDA (PNLS) et depuis le 30/11/2000 un plan stratégique national de lutte contre le SIDA dans le but de freiner l'avancée de la maladie et de réduire son impact sur les personnes infectées et affectées par le VIH et l'économie du pays.

Diverses études et informations tant qualitatives que quantitatives ont été réalisées de 1987 jusqu'à l'enquête démographique de santé publiée en 2000.

Selon les résultats de cette EDSM-III, le taux de prévalence au Mali est de 1,7 % dans la population générale, un nombre cumulé des décès qui pourrait se situer à près de 170 000 en 2010 en cas d'évolution non maîtrisée et une baisse de l'espérance de vie à l'horizon. Les femmes sont les plus touchées par cette épidémie, avec un taux global de 2 % contre 1,3 % chez les hommes. Le groupe d'âge le plus touché est celui de 30 à 34 ans pour les deux sexes. En milieu urbain 97% ont entendu parler du SIDA mais jusqu'à 22% ignorent qu'il y a un moyen de l'éviter ; tandis qu'en milieu rural si 88% en ont entendu parler jusqu'à 54% ignorent qu'il y a un moyen de l'éviter.

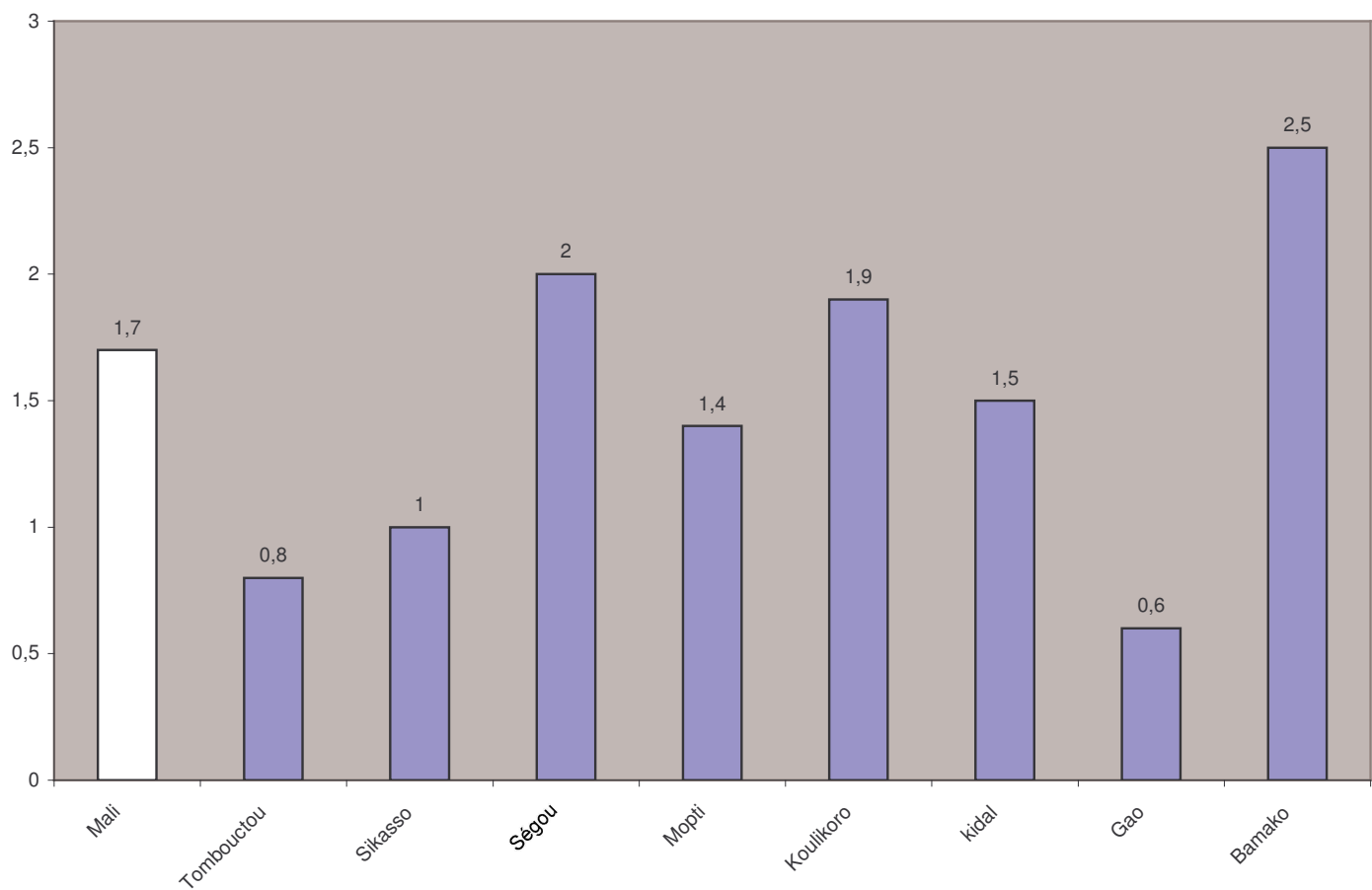
Il existe une grande disparité entre le milieu urbain et le milieu rural ; en milieu urbain, Koulikoro apparaît comme la région la plus touchée : 4,5 %, comparée à Ségou qui en milieu rural présente une séroprévalence de 2,2 %.

En outre il ressort des enquêtes effectuées en 2001 que les jeunes adoptent des comportements à risques : multiplicité des partenaires sexuelles, sexualité précoce, prostitution et rapports sexuels non protégés.

D'ores et déjà la mortalité imputable au SIDA au niveau des jeunes et des adultes (15-49 ans) qui constituent la force productive du pays se fait sentir ce qui exposerait notre pays à une explosion de l'épidémie du VIH/SIDA dans les années à venir.

La sensibilisation sur la pandémie du SIDA dans notre pays est sans relâche et implique des personnes vivant avec le VIH, des dignitaires religieux et bien d'autres personnalités physiques et morales.

Les statistiques prouvent que du chemin reste à faire, car 90,3% des femmes ont déclaré avoir entendu parler du sida, mais jusqu'à 45% d'entre elles ignorent qu'il y a un moyen de l'éviter (53 ; 58)



**Prévalence du VIH par région du Mali selon EDS III 2001**

## II 6 DIAGNOSTIC DE L'INFECTION PAR VIH

### II 6-1 Diagnostic biologique

On distingue deux types de méthodes pour le diagnostic biologique de l'infection à VIH :

Le diagnostic indirect ou sérologique, fondé sur la détection des anticorps et reste dans la majorité des cas l'approche diagnostic la plus pertinente et la plus accessible.

Les méthodes de référence pour la visualisation de la réaction antigène- anticorps sont actuellement les méthodes immuno-enzymatiques de type ELISA.

La méthode ELISA dure seulement quelques heures et donne des résultats reproductibles et est automatisable.

Il existe aussi des tests rapides, facilement réalisables et qui ne demandent pas de moyens sophistiqués : les résultats sont obtenus plus rapidement que l'ELISA par simple lecture à l'œil.

Cependant, aussi performants qu'ils sont pour les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 au cours de la phase chronique de l'infection, ils n'offrent pas d'une manière générale le même niveau de sensibilité que les tests ELISA de troisième et quatrième génération au cours de la primo-infection. Leur avantage est leur usage dans les situations d'urgences et, à cause du fait qu'il différencie généralement les VIH-1 et VIH-2.

La plupart des tests de dépistage comportent le risque de résultats faussement positifs, un risque qui persiste en dépit des progrès les plus récents. Cette limite impose, en cas de positivité ou de discordance, le recours à des tests de confirmations, notamment le Western blot.

Le diagnostic direct, fondé sur la mise en évidence du virus par multiplication en culture cellulaire par détection immunologique ou moléculaire. Il est surtout indiqué dans les cas d'échec du diagnostic indirect en particulier pendant la fenêtre sérologique de la primo-infection (5 ;1)

## **II 6-1-1 DIAGNOSTIQUE INDIRECTE**

### **II 6-1-1-1 Immunofluorescence indirecte (30)**

#### **PRINCIPE :**

Des cellules lymphocytaires infectées par le virus sont déposées et fixées sur des lames de microscope. Des cellules identiques non infectées servent de témoins et permettent d'éliminer les fixations non spécifiques.

Le sérum à étudier est mis à incuber . Les anticorps présents se fixent sur les cellules et sont révélés par une antiglobuline humaine marquée à l'isothiocyanate de fluorescéine. Une réaction positive se traduit par une fluorescence observée également sur le témoin signe une fixation non spécifique d'anticorps reconnaissant les éléments cellulaires et non le virus

### **II 6-1-1-2 Techniques immunoenzymatiques**

La technique actuellement la plus utilisée pour la recherche des anticorps anti- VIH est une technique immunoenzymatique : ELISA ( Enzyme Linked Immunosorbent Assay). C'est une méthode simple , destinée au dépistage de sérums. Dans cette réaction l'antigène viral est fixé par absorption physique à un support solide (microplaque ou bille de polystyrène). On distingue quatre grands groupes de techniques :

#### **1\* Technique de l' ELISA indirecte**

#### **PRINCIPE**

Le sérum à étudier est mis d'abord à incuber en présence du support sensibilisé : microplaque ou bille , des complexes anticorps se forment et leur présence est révélée dans un second temps , par l'adjonction d'un sérum antiglobuline humaine marqué par une enzyme . Après une phase de lavage minutieux, le substrat de cet enzyme donnera une réaction colorée d'autant plus intense que le sérum est riche en anticorps . Des témoins positifs et négatifs inclus dans chaque réaction permettent de déterminer la valeur seuil ou limite . Les sérums dont la densité optique lue au spectrophotomètre est supérieure à cette valeur sont considérés comme positifs.

## 2\* Technique de l' ELISA par compétition

### PRINCIPE

Les anticorps anti -VIH de l'échantillon à tester entrent en compétition avec les anticorps du conjugué ( sérum anti-VIH marqué par une enzyme) , vis à vis des antigènes viraux fixés sur le support solide. Plus la concentration d'anticorps dans l' échantillon est élevée, moins l'antigène conjugué se fixera. Le substrat chromogène donnera une réaction colorée qui sera inversement proportionnelle à la concentration en anticorps . Les témoins permettent de calculer une valeur seuil . Les sérums dont la densité optique est inférieure à cette valeur sont considérés comme positifs.

## 3\* Technique de l' ELISA par sandwich

### PRINCIPE

Les antigènes du VIH sont fixés sur une phase solide. Les anticorps anti-VIH du sérum se fixent sur les antigènes de la phase solide ,ils forment un complexe antigènes – anticorps . Un conjugué enzyme antigène est ajouté après lavage et il se lie à tout anticorps anti-VIH présent . On procède ensuite à un lavage pour éliminer le conjugué non lié. On rajoute du substrat et une coloration apparaît proportionnellement au taux d'anticorps présents.

## 4\* Technique de l' ELISA Immunocapture

### PRINCIPE

La phase solide est revêtue d' anticorps anti- IgG humaines. Si les IgG sont présentes dans l'échantillon à tester , elles se lient aux anticorps . Après lavage , on rajoute un conjugué enzyme antigène VIH qui se lie spécifiquement aux IgG anti-VIH . après un second lavage, on ajoute du substrat qui va se fixer sur le conjugué. Une coloration apparaît proportionnellement aux taux d'anticorps présents .

## II 6-1-1-3 Les tests rapides

### 1\* La technique d'agglutination (16)

#### PRINCIPE

Cette méthode est basée sur le principe d' agglutination passive des billes de polystyrène ou des hématies humaines servant de support aux protéines virales du VIH (naturelles ou produits de génie génétique) .Mises en présence d'anticorps anti-VIH , elles forment un réseau d' agglutination visible à l'œil nu. Ces tests peuvent être effectués sur une lame (test au latex) ou sur plaque de micro- agglutination ( hémagglutination passive avec lecture de culot de sédimentation des hématies). Ils présentent un atout supplémentaire sur l' ELISA car leur exécution très simple ne nécessite aucun appareillage. L'amélioration de leur spécificité pourrait entraîner leur expansion.



## 2\* Technique d'immunofiltration ou DO BLOT(17)

### PRINCIPE

Elle utilise une membrane en papier ou de nitrocellulose comme support solide . l'antigène est fixé sur un support solide et prend la forme d'un petit cercle ; il s'agit le plus d'un peptide synthétique ou recombinant . 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. Il existe deux types d' « immunodot » en phase solide :

- Immunodot sur carte :

Les cartes plastifiées ont la forme d'un peigne dont les dents sont sensibilisées par des antigènes peptidiques de synthèse du VIH-1 et VIH-2 au niveau de deux tâches séparées. Le principe du test consiste à introduire la carte successivement dans les échantillons du sérum ( disposés dans les puits d'une plaque contenant tous les réactifs nécessaires déposés dans différents compartiments de la plaque) dans une solution de lavage , dans le conjugué marqué par une enzyme , une nouvelle fois dans une solution de lavage et enfin dans le substrat chromogène. Il se forme une réaction colorée caractéristique d'un résultat positif

- L' immunodot sur membrane :

Les antigènes du VIH-1 et VIH-2 immobilisés sur une membrane sont soit sous forme d'une tâche unique, soit sous forme de deux tâches distinctes. Le sérum dilué ou non dilué est ajouté directement sur la membrane . Les anticorps anti- VIH du sérum se lient aux antigènes présents sur la membrane. Le complexe immun formé est traité au moyen d'un conjugué marqué à une enzyme. Un substrat ajouté donne une tâche colorée caractéristique d'une réaction positive.

## II 6-1-1-4 Tests de confirmations

### 1\* La radio – immunoprécipitation (RIPA) ( 16 )

#### PRINCIPE :

Utilise un virus marqué par un isotope radioactif (en général la cystéine 35). Le lysat viral contenant les antigènes à l' état natif est incubé avec le sérum à tester . les complexes immuns formés sont alors captés sur un support d'affinité tel que des billes de protéine A-sepharose. Les antigènes viraux retenus par les anticorps spécifiques sont ensuite élués et séparés en fonction de leur poids moléculaire sur le gel de polyacrylamide. La révélation est effectuée par autoradiographie. Cette technique met en évidence préférentiellement des anticorps dirigés contre les protéines d'enveloppe et de ce fait elle constitue un apport complémentaire d'informations pour les échantillons sériques d'interprétation délicate en Western Blot. La RIPA est un test de confirmation très sensible , réservé à des laboratoires agréés .

## 2\* LE Western Blot

### PRINCIPE

Après fragmentation d'une culture de virus, les protéines virales sont séparées par électrophorèse en gel d'agarose dans lequel elles vont migrer en fonction de leur poids moléculaire : les grosses molécules (gp 160, gp 120) migrant moins facilement que les petites (gp 41, p 17).

On transfère les protéines séparées en "buvardant" le gel (*to blot* = buvarder) avec une feuille de nitrocellulose. Cette feuille est découpée en bandelettes.

On immerge une bandelette dans un petit bac contenant le sérum à contrôler : si ce sérum contient des anticorps spécifiques du VIH, ils se fixent aux antigènes.

La fixation des anticorps est révélée par **une technique ELISA** identique à celle utilisée pour le test de dépistage : on ajoute un anticorps anti Ig humaines marqué par une enzyme puis le substrat de cette enzyme. **Une bande colorée apparaît pour chaque protéine virale sur laquelle s'est fixé un anticorps.**(68)

### Critères de positivité du W-B définis par l'OMS

Le W-B doit révéler au moins **deux bandes correspondant aux produits du gène *env***, (pour VIH-1 : les produits de ces gènes sont **gp 160, gp 120, gp 41**), et ceci quelle que soit la réactivité des bandes correspondant au produit des gènes *gag* ou *pol*.

1° - **chez un sujet séropositif**, le Western-blot est "complet" : il met en évidence des anticorps dirigés contre l'ensemble des protéines virales.

2° - l'apparition de bandes colorées ne correspondant pas aux critères d'un W-B positif définit **un W-B indéterminé**. Ceci peut traduire :

- **une séroconversion en cours pour le VIH-1** : elle sera affirmée par l'examen d'un nouveau sérum prélevé après un délai de 2 à 4 semaines au cours duquel les anticorps spécifiques vont atteindre un taux détectable.
- **une infection par le VIH-2** : qui devra être confirmée par un test spécifique de ce virus (ELISA et W-B).
- **une réactivité non spécifique** : si, sur un autre prélèvement pratiqué 2 à 4 semaines plus tard et *à fortiori* 2 à 3 mois plus tard, le profil du W-B reste identique, il s'agit d'une réactivité non spécifique : **il n'y a pas d'infection par le VIH . (68, 65)**

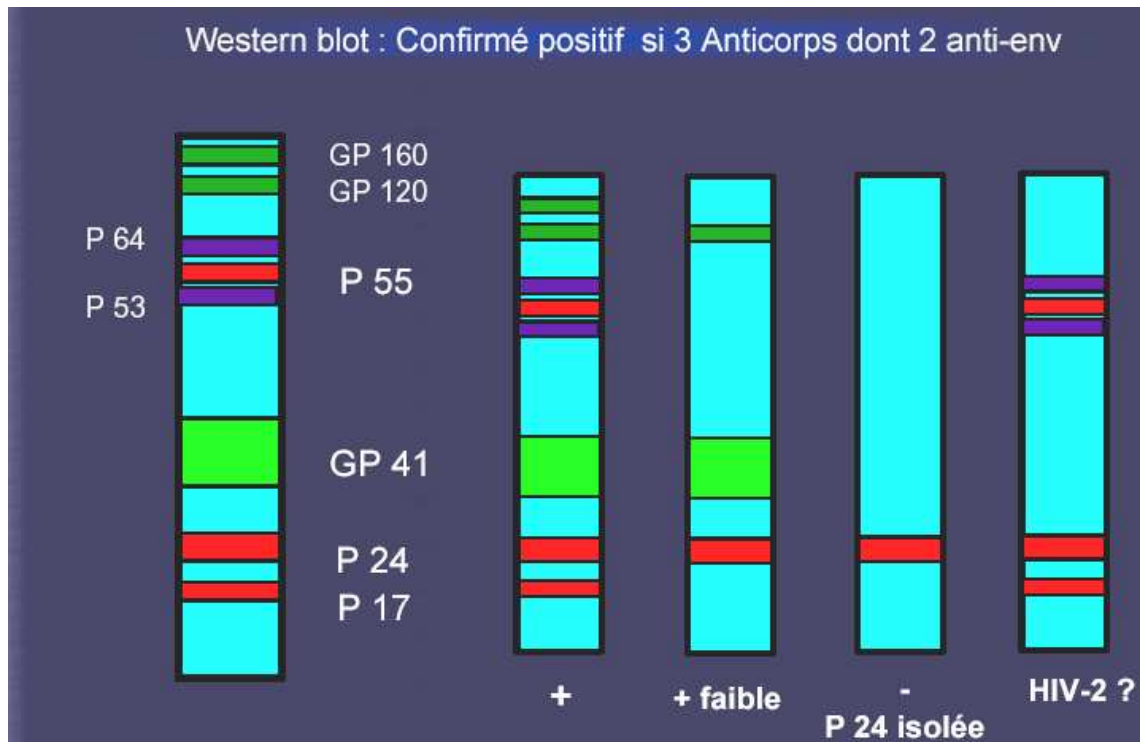
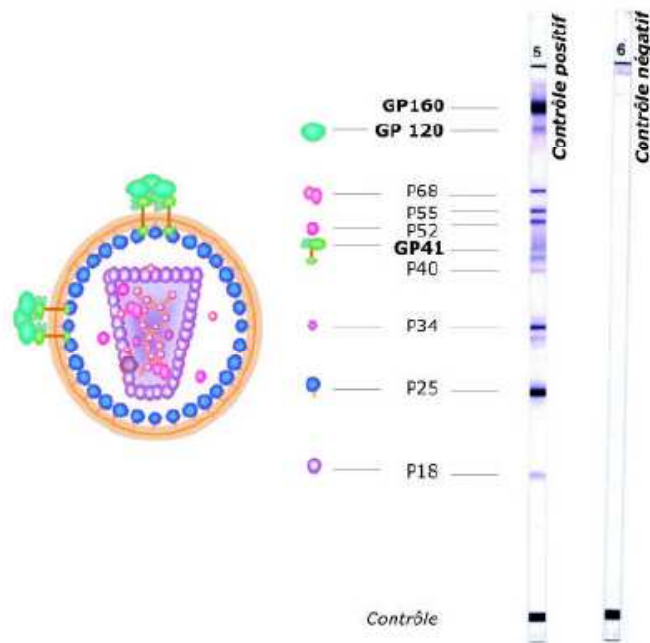


Figure 4 : western blot confirmé positif Source : western blot bandelette hiv .pdf

Chaque anticorps qui se fixe sur la bandelette correspond à une protéine spécifique du virus, pouvant être représenté par le schéma suivant :

### INTERPRETATION D'UNE IMMUNO-EMPREINTE



Au bas de la bandelette, une bande de contrôle interne, contenant en guise d'Ag des IgG, permet de valider le bon déroulement du protocole opératoire. Les autres bandes correspondent aux différentes protéines du VIH-1.

## CRITERES D'INTERPRETATION DU WESTERN BLOT POSITIF SELON LES DIFFERENTES INSTITUTIONS

<b>ASTPHD</b>	Deux des suivantes
<b>CDC</b>	-P24 -gp 41 -gp120/gp160
<b>FDA</b>	P24 et P31 plus gp41 ou gp120/gp160

**Croix rouge des Etats Unis** : au moins trois bandes une chaque groupes de gènes GAG-POL-ENV

### **Consortium de normalisation de la sérologie des rétrovirus (CRSS)**

Au moins deux bandes P24 ou P31 plus gp41 ou gp120/gp160

### **Organisation Mondiale de la santé (OMS )**

Au moins deux bandes ENV avec ou sans les bandes GAG ou POL

## **II 6-1-1-5 L 'immuno analyse en ligne ( 5)**

### **\*Inno-lia :**

Cette technique utilise des bandes de nylon fixées sur un support plastique ainsi que des protéines recombinantes et des peptides de synthèse déposés selon cinq lignes discontinues.

Pour le VIH-1 on utilise quatre antigènes p17 et p24 du gène GAG , gp41 du gène ENV et p32 du gène POL

Pour le VIH-2 on se sert de gp36 du gène ENV

Le conjugué utilisé est une IgG de chèvre anti-IgG humaine purifiée par affinité et marquée à la phosphatase alcaline

### **\*Pepti- Lav :**

Ce test utilise une membrane fixée sur un support plastique et comporte une ligne avec un sérum témoin et deux bandes sensibilisées avec des peptides de synthèses spécifiques qui représentent les épitopes immunogènes gp41 du VIH-1 et gp 36 du VIH-2. le conjugué utilisé est une immunoglobuline de chèvre anti- IgG humaine purifiée, marquée à la peroxydase de Raifort.

## II 6-1-2 DIAGNOSTIC DIRECT

### II 6-1-2-1 La détection de l'antigène du virus

PRINCIPE : C'est une méthode ELISA . Les anticorps d'un sérum polyclonal fixés sur le fond des puits d'une microplaque ou sur des billes de polystyrène sont mis en présence du sérum à tester et ce lie à l'antigène viral au cas où il serait présent. On réalise plusieurs lavages . la présence de l'antigène est révélée par des anticorps anti-VIH de lapin ou de chèvre marqués par une enzyme .On dit que l'antigène est pris en sandwich. La présence de la coloration spécifique du produit de la réaction enzymatique et l'intensité de la coloration permet une quantification de cette antigène . En pratique c'est essentiellement la protéine p24 qui est mis en évidence . la sensibilité est faible mais utile pour la mise en évidence précoce du virus

### II 6-1-2-2 La réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

C'est une technique de détection qui consiste à amplifier artificiellement la molécule à détecter afin de simplifier sa détection. Elle peut s'appliquer à l'ARN du virus et dans ce cas elle est appelée NASBA ( nucleic acide sequence base amplification) ou à la retrotranscriptase (RT-PCR ). C'est actuellement la méthode de référence de diagnostic rapide ( 4)

### II 6-1-2-3 L'isolement virale

L'isolement du VIH en culture de lymphocytes est une technique lourde dont les indications diagnostiques doivent être soigneusement pesées et réservées à des protocoles d'études particulières ou à des situations d'échec des autres méthodes évoquées. Il faut reconnaître à cette technique le mérite historique d'avoir identifié le virus causal du SIDA et de continuer à fournir des données essentielles pour la compréhension et le traitement de la maladie.

L'isolement des souches virales permet en effet de suivre l'évolution génétique , d'étudier ses caractères épidémiologiques , de définir ses sites de multiplication dans l'organisme humain, de contribuer à une évaluation pronostique de l'infection et enfin de vérifier que les médicaments antiviraux administrés sont actifs, tant pour la négativité des cultures que par des études de sensibilité *in vitro*. (23)

#### PRINCIPE

Les cellules de culture sont séparées des autres cellules sanguine par une centrifugation sur un gradient de densité, puis après lavage, mises en suspension dans un milieu de culture riche contenant en particulier de l'interleukine 2 , un facteur de croissance indispensable pour les lymphocytes , et des substances favorisant l'infection virale tels que le polybiène et le sérum anti-interféron.

La stimulation initiale des cellules se fait avec la phytohémagglutinine (PHA). Quand le nombre des cellules fournies par le sujet suspect d'infection est trop faible, il faut leur adjoindre des cellules venant d'un sujet non infecté, ce qui aboutit à une co-culture de

lymphocytes . Les cultures cellulaires sont entretenues et étudiées pendant 4 à 6 semaines. La multiplication du VIH se traduit par l'apparition d'un effet cytopathique constitué de cellules géante multinuclées résultant d'une fusion lymphocytaire, mais cet effet cytopathique est fugace et inconstant . la mise en évidence du virus repose en fait sur l'étude du surnageant de culture dans lequel on peut détecter l'antigène viral par diverses techniques dont l' ELISA , la PCR et la mise en évidence d'une enzyme spécifique des rétrovirus , la transcriptase inverse (23).

## **II 6-2 STRATEGIE DE DEPISTAGE DU VIH**

V-3-1 Recommandation concernant le choix et l'utilisation des tests de mise en évidence des anticorps anti- VIH. ( 49 )

Actuellement , il existe plusieurs types de tests de laboratoire pour la mise en évidence des anticorps anti- VIH dans le sérum humain (ou dans les **urines**). le choix du ou des tests à utiliser, c'est à dire de la stratégie de dépistage la plus approprié , repose sur trois (4) critères :

- 1- l'objectif du test
- 2- la sensibilité et la spécificité du ou des tests utilisés
- 3- la prévalence de l'infection à VIH dans la population testée.

### **II 6-2-1-1 Objectifs du test anti- VIH**

La recherche des anticorps anti- VIH a essentiellement quatre (4) objectifs :

- Sécurité des transfusions et des dons d'organes : dépistage sur le sang et les produits sanguins de même que sur le sérum des donneurs de tissus d'organe, de sperme et d'ovules.
- Surveillance : dépistage anonyme et banalisé 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.
- Diagnostic de l'infection : dépistage volontaire sur le sérum de personnes asymptomatiques ou de porteurs de signes cliniques symptomatique.
- Dépistage volontaire sur le sérum des personnes recrutées dans les études épidémiologiques, cliniques virologiques ou autre relatives au VIH .

### **II 6-2-1-2 Sensibilité et spécificité des tests anti- VIH**

La sensibilité et la spécificité sont deux éléments de première importance qui permettent de déterminer l'exactitude avec laquelle un test peut faire la distinction entre personne infectées et personnes non infectées.

Un test dont la sensibilité est élevée donne peu de résultats faussement négatifs.

Aussi ,seuls les tests ayant la sensibilité la plus élevée possible seront-ils utilisés lorsqu'il est nécessaire de réduire au minimum le taux de résultats faussement négatifs.

## II 6-2-1-3 Prévalence de l'infection à VIH

La probabilité qu'un test rende compte exactement de la situation d'un sujet vis à vis de la maladie varie avec la prévalence de l'infection à VIH dans la population dont le sujet est issu. En règle générale, plus la prévalence de l'infection à VIH est élevée dans une population, plus grande est la probabilité que la personne donnée pour positive par le test soit réellement contaminée (la valeur prédictive positive « VPP » soit élevée). Donc, quand la prévalence augmente, la proportion de résultats faussement positifs parmi les échantillons de sérum testé diminue réciproquement. La probabilité qu'une personne dont le test est négatif ne soit pas réellement contaminée (c'est à dire la valeur prédictive négative « VPN » diminue quand la prévalence augmente). Par conséquent quand la prévalence augmente, la proportion d'échantillon donnant un résultat faussement négatif augmente aussi.

## II 6-2-2 Recommandation de l'O M S concernant les stratégies de dépistage du VIH en fonction de l'objectif visé, et de la prévalence de l'infection dans la population

**TABLEAU IV** Recommandation de l'O M S en 1992 concernant la stratégie de dépistage du VIH en fonction de l'objectif visé et de la prévalence de l'infection dans la population (47)

Objectif du test		Prévalence de l'infection	Stratégie
Sécurité des transfusions et des dons de sang et d'organe		Toutes prévalences	Stratégie I
Surveillance épidémiologique		> 10% < 10%	Stratégie I Stratégie II
Diagnostic	Signes cliniques symptômes d'infection au VIH	Toutes prévalences	Stratégie II
Dépistage	Patients Asymptomatiques	> 10% < 10%	Stratégie I Stratégie III

## II 6-2-3 Description des stratégies de dépistage du VIH utilisé par l'OMS

Stratégie I :

Elle consiste à pratiquer un test de dépistage isolé par technique ELISA ou test rapide, sans test de confirmation.

Cette stratégie, qui privilégie la sensibilité du test de dépistage, est adaptée aux dons de sang ou à la surveillance épidémiologique en zone de forte endémicité (prévalence élevée supérieur à 10%), le risque de résultats faussement positifs étant faible.

Une telle stratégie ne doit pas être utilisée à des fins de diagnostic individuel.(47)



### Stratégie II :

Elle utilise deux tests de dépistage (ELISA ou tests rapides) utilisant des préparations antigéniques devant reposer sur des principes différents. Elle est adaptée au diagnostic de l'infection à VIH chez les individus ayant des signes cliniques ou encore dans le cadre des études de surveillance épidémiologique en zone de faible endémicité (prévalence inférieure ou égale à 10%), puisque la pratique d'un second test diminue le risque de faux positifs. L'OMS recommande également cette stratégie pour le diagnostic individuel en zone de forte endémicité.(47)

### Stratégie III

Elle utilise potentiellement trois tests de dépistage (ELISA ou tests rapides) utilisant des préparations antigéniques reposant sur des principes différents. L'OMS ne recommande cette stratégie que pour le diagnostic individuel de l'infection à VIH en zone de faible endémicité (prévalence inférieure ou égale à 10%).(47)

## II 7- PREVENTION DE LA TRANSMISSION DU VIH

La prévention de la transmission du SIDA a été l'une des préoccupations majeures des décideurs nationaux et internationaux. Cette prévention de la transmission du VIH repose sur deux approches :

- l'éducation permettant d'éviter des situations qui favorisent un risque de transmission
- la prévention physique de l'infection.

Parmi ces moyens de prévention on peut évoquer :

**Transmission sexuelle :** elle peut être réduite en évitant les pratiques sexuelles dangereuses.

C'est pourquoi il est conseillé l'usage de préservatifs au cours de chaque rapport et surtout en restant fidèle. Ces mesures permettent de réduire la transmission partout où elles ont été encouragées.

**Transmission par injections de drogues :** elle peut être réduite par l'utilisation de seringues et d'aiguilles jetables, et dans le cadre d'un système d'échange de matériel utilisé contre du matériel stérile. Mais cela est difficile car les toxicomanes se signaleraient en venant retirer les seringues ; c'est pourquoi il convient de lutter efficacement contre la toxicomanie.

**Transmission transfusionnelle :** la première façon de réduire la transmission est de sélectionner des donneurs à faible risque par :

- l'identification des donneurs à faibles risque
- l'exclusion des donneurs dangereux
- la promotion de l'auto exclusion grâce à la sensibilisation des donneurs
- un programme de dépistage efficace par :

Des conseils précédant le don, notamment une évaluation des facteurs de risque et la confidentialité de l'exclusion ;

Une recherche rapide des antécédents médicaux, notamment des signes évocateurs d'une infection transfusionnelle ;

La promotion du don volontaire, non rémunéré et régulier.

### **Essais vaccinales**

La mise au point d'un vaccin efficace serait d'un apport énorme dans la lutte contre le VIH. Mais actuellement toutes les recherches vaccinales se sont avérées inefficace

## **II 8- CELLULES CIBLES LORS DE L'INFECTION PAR VIH ET L'EVOLUTION DES MARQUEURS**

### **II 8-1 Les cellules cibles du VIH.**

Le VIH doit infecter une **cellule hôte** afin de **se répliquer**. Pour cela, des protéines constitutives de son enveloppe doivent interagir avec des molécules de surface cellulaires appelées récepteurs et corécepteurs : la principale étant le **récepteur CD4**. Ainsi, les cellules cibles du VIH sont celles qui présentent à leur surface la molécule CD4 :

- > **les lymphocytes T CD4+ ( helper )**
- > **les monocytes/macrophages**
- > d'autres cellules de la même origine que les monocytes et les macrophages, telles que :
  - les cellules folliculaires dendritiques, présentes dans les centres germinatifs des ganglions
  - les cellules de Langerhans ( 65).

### **II 8 -2 Cinétique des anticorps**

Une bonne connaissance de la cinétique des anticorps et de l'antigène p24 est indispensable à l'interprétation des tests VIH. La *figure ci dessous* résume les différentes situations. Après la contamination, le virus est délectable, sous sa forme d'acide ribonucléique (ARN) dès le 10-12<sup>e</sup> jour et sous sa forme d'antigène p24 représentant juste une fraction du virus, vers le 12-14<sup>e</sup> jour. Les premiers anticorps sont délectables vers le 21<sup>e</sup> jour. Cette cinétique peut varier en fonction de chaque patient et aussi de la souche infectante. La positivité des tests de dépistage dépend donc de l'apparition des anticorps. Actuellement, les tests de dépistage utilisés en Occident sont le plus souvent capables de détecter, en plus des anticorps, simultanément, la fraction "antigène p24". L'utilisation de ces tests raccourcit donc la période

de "silence" sérologique lors de la primo-infection. Une fois produits par la réponse immune, les anticorps anti-VIH persisteront toute la vie du patient ( 65).

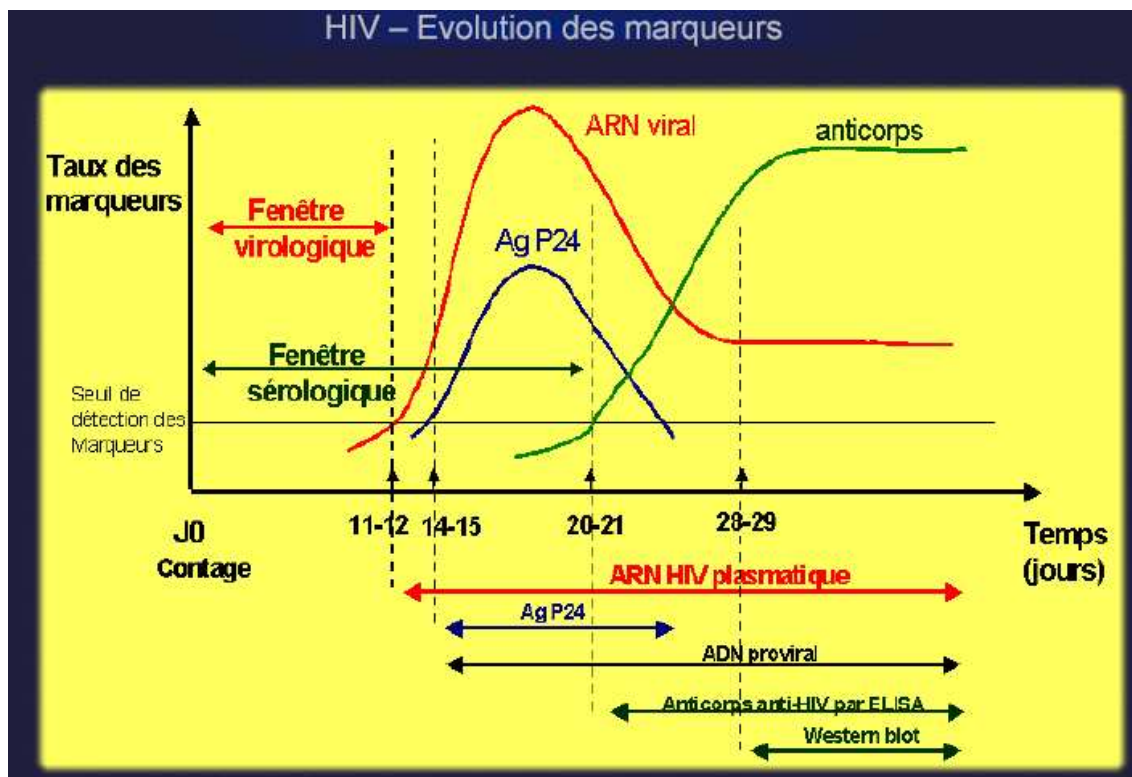


Figure 5 : Evolution des marqueurs.

Source : [http : //documentation.ledmed.org/IMG/html/doc-10797.html](http://documentation.ledmed.org/IMG/html/doc-10797.html)

### **III - MATERIELS ET METHODES**

#### **III 1-LIEU D'ETUDE**

##### **CNTS DE BAMAKO**

Le Centre National de Transfusion Sanguine C.N.T.S est un établissement public à caractère scientifique, technologique et culturel

Le C.N.T.S à pour mission de collecter, conditionner, conserver le sang humain et ses dérivés. Le centre est doté d'un service de séro- immunologie où s'effectuent tous les tests de dépistage, d'évaluation et de recherche concernant le VIH/SIDA et autres tests sérologique qui entrent dans les caractéristiques de la sécurité transfusionnelle.

C'est dans ce cadre que le C.N.T.S en collaboration avec le service des infectieux de l'hôpital du point G à initié cette étude pour l'amélioration de la qualité des résultats de dépistage de l'infection par le VIH grâce a un meilleur choix des tests.

##### **LE SERVICE DES MALADIES INFECTIEUSES**

Le service des maladies infectieuses est situé à l'Hôpital National du Point « G » entre le service de Neurologie et la Morgue . Il a été construit dans les années 1906. Depuis 2001 il est la référence nationale dans la prise en charge des patients infectés par le VIH et dont l'état de santé nécessite une hospitalisation. Il a 22 lits en majorité occupé par les malades du SIDA

#### **III 2- TYPE ET PERIODE D'ETUDE**

Notre étude s'est étendu sur une période de 13 mois , de novembre 2003 à novembre 2004 .Il s'agit d'une étude prospective transversal.

#### **III 3 - POPULATION D'ETUDE ET ECHANTILLONNAGE**

Notre population d'étude était composée des patients du service des maladies infectieuses du Point G qui ont accepté les prélèvements en double et les donneurs de sang du C.N.T.S .

Nous avons travaillé sur deux types d'échantillons en deux phases différentes .

Pendant la première phase l'échantillonnage était constitué de 81 patients du service des infectieux de l' HNPG.

La deuxième phase de l'échantillonnage comportait 161 donneurs de sang prélevé au C.N.T.S

##### **Critères d'inclusion**

Les donneurs de sang ayant rempli tous les critères de don de sang (dans annexe)

Et les malades qui ont présenté au moins 2 signes majeurs

- perte de poids supérieur à 10%

- diarrhée prolongée de plus d'un mois

- fièvre prolongée depuis pus d'un mois

Et 1 signe mineur

- toux persistante

- candidose oropharyngée ou dermatose prurigineuse généralisée

Selon la définition clinique de Bangui proposée par l'OMS en 1985.

Ont été inclus tous les sérums qui se sont révélés soit positifs ou négatif en anticorps anti-VIH-1 ou anti-VIH-2 au western blot.

### **Critères de non inclusion**

Ont été exclus tous les sérums indéterminés (ni positifs ni négatifs en anti-corps anti-VIH1 ou anti-VIH2) au western blot.

### **III 4- MEHODES D'ETUDE :**

Il s'agit d'une enquête prospective où nous allons comparer différents kits de dépistage du VIH chez les malades et les donneurs séropositifs.

Les produits biologiques que nous allons examiner sont le sérum et les urines.

Ces produits seront testés au laboratoire avec les différents kits de dépistage et nous allons prendre comme méthode de référence le western blot.

La comparaison sera basée sur le calcul des sensibilités et des spécificités.

- Immuno combII HIV ½ Bis pot
- Le Génie II HIV1/2
- Determine HIV1/2
- Genscreen HIV1/2 V2
- Vironostika HIV Uni- form II Ag/Ab
- Murex HIV 1.2.0
- L'ora Quick HIV1/2
- Western Blot
- Calypte™ HIV-1 Urine EIA

### III 4-1 PRESENTATION DES TESTS

#### PRINCIPES DES TESTS DE SEROLOGIE

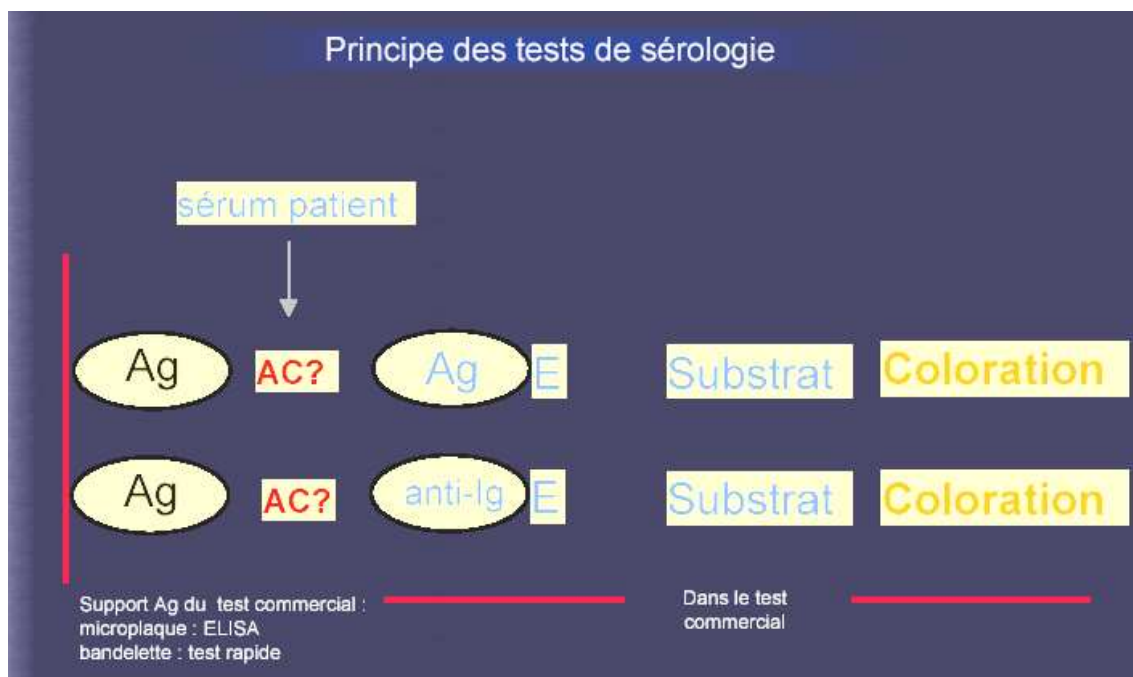


Figure –6 : Principe des tests de sérologie. [Htt:// documentation.ledmed.org/IMG/html/doc-10797](http://documentation.ledmed.org/IMG/html/doc-10797)

#### III 4.1.1 GENSCREEN V2 (BIO - RAD , France)

Le test utilisé était ELISA GENSCREEN HIV1/HIV2 de Bio-rad Comme test de screening .

##### Matériels et réactifs :

Les réactifs et matériels utilisés sont :

- Un papier absorbant ;
- Des gants
- Des éprouvettes graduées de 10, 200, 1000 ml ;
- Des pipettes de 50, 100,200 et 1000 ;
- Des agitateurs ;
- Un système de lavage automatique ;
- Un incubateur sec de micro plaques ;
- Des conteneurs de déchets contaminés ;
- Un spectrophotomètre (PR 2100).

## **Principe :**

Genscreen HIV1/2 version 2 est une technique immuno-enzymatique basée sur le principe du sandwich en deux étapes pour la détection des différents anticorps associés aux virus VIH1 et /ou VIH2, dans le sérum ou le plasma humain. Genscreen HIV1/2 repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec les antigènes purifiés (protéines recombinants gp160 et p25 du virus VIH1 et peptide mimant l'épitope immunodominant de la glycoprotéine du virus VIH2) et d'un conjugué préparé avec des antigènes marqués à la peroxydase (protéine recombinante nucléocapsidique et peptides mimant les épitopes immunodominants des glycoprotéines d'enveloppe des VIH1 et VIH2).

## **Mode opératoire :**

Utiliser les sérums de contrôle négatif, positif et le sérum seuil à chaque mise en œuvre du test pour valider la qualité du test.

Etablir soigneusement le plan de distribution et d'identification des échantillons. Préparer la solution de lavage diluée.

Sortir le cadre support et les barrettes de l'emballage protecteur.

Déposer directement sans prélavage de la plaque, successivement :

25µl de diluant dans chaque cupule.

75µl de sérum de contrôle négatif (R3) en A1.

75µl de contrôle seuil (R4) en B1, C1, et D1.

75µl de sérum de contrôle positif (R5) en E1.

75µl de sérum du premier échantillon en F1.

75µl de sérum du deuxième échantillon en G1, etc.

Homogénéiser le mélange par trois aspirations minimums avec la pipette de 75µl ou en agitant la microplaque après l'étape de pipetage.

(Couvrir d'un film autocollant en appuyant bien sur les bords pour assurer l'étanchéité.

Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant

30 ±5 minutes à 37±1°C.

Retirer le film adhésif, laver la plaque à l'aide du laveur automatique de microplaques jusqu'à 5 fois.

Distribuer 100µl de conjugué dans toutes les cupules. Le conjugué doit être agité avant emploi.

Recouvrir d'un film autocollant neuf et incuber 30± 5 minutes à la température ambiante (18-30°).

Retirer le film adhésif ; laver 5 fois à l'aide du laveur automatique.

Distribuer rapidement dans toutes les cupules 80µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique préalablement préparée.

Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30±5 minutes à la température ambiante. Lors de cette incubation, ne pas utiliser de film adhésif.

Ajouter 100µl de la solution d'arrêt dans les cupules.

Essuyer soigneusement le dessous des plaques. Lire la densité optique à 450-620 nm à l'aide d'un lecteur de plaques, dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

- Calculs et interprétations des résultats :

La présence ou l'absence des anticorps anti-VIH1 et ou VIH2 est déterminée en comparant pour chaque échantillon l'absorbance enregistrée à celle de la valeur seuil calculée.

Calcul de la moyenne des absorbances du sérum de contrôle seuil :

$$\text{DOR4} = \frac{\text{DO (B1)} + \text{DO (C1)} + \text{Do (D1)}}{3}$$

Valeur Seuil : VS

$$\text{VS} = - \frac{\text{DOR4}}{10}$$

Validation de l'essai :

Le sérum de contrôle négatif doit être inférieur à 70% de la valeur seuil : DOR3 inférieure à 0,7 VS.

La moyenne des sérums de contrôle seuil doit être supérieure ou égale à 0,8 : DOR4 supérieure ou égale à 0,8.

Facultatif : le rapport DOR5/DOR4 doit être supérieur ou égal à 1,3



Les échantillons dont les absorbances sont inférieures à la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test de Genscreen HIV1/2 Version 2.

Les échantillons dont les absorbances sont égales ou supérieures à la valeur seuil sont considérés initialement positifs d'après le test Genscreen HIV1/2 version 2.

Toute fois, les résultats situés juste au-dessous de la valeur seuil

( $VS-10\% < DO < VS$ ) doivent être interprétés avec prudence et les échantillons correspondants doivent être retestés en double.

### **Limites du test :**

De très faibles taux d'anticorps peuvent ne pas être détectés lors d'infection récente, en conséquence un résultat négatif signifie que l'échantillon contrôlé ne contient pas d'anticorps détectables par le test Genscreen. Un tel résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection VIH1/VIH2. La variabilité des virus VIH1 (groupe M, groupe O) et VIH2 ne permet pas d'exclure la possibilité de réactions faussement négatives. Aucune méthode connue pour l'instant ne peut offrir l'assurance que le virus est absent. Toute technique ELISA hautement sensible peut produire des réactions faussement positives. Afin de spécifier la réaction, tout échantillon trouvé positif reproductible doit être soumis à un test de confirmation (Western-blot par exemple).

### **III 4-1-2 MUREX HIV -1.2.0 ( ABBOTT , France)**

#### **Principe du test**

Le Murex HIV- 1,2 est un test sur support micro plaque dont les cupules sont recouvertes d'un peptide synthétique représentatif d'une région immunodominante du VIH -1 (groupe O), d'une protéine recombinante dérivée des protéines d'enveloppe du VIH-1 et du VIH-2 et d'une protéine du core du VIH . Le conjugué est un mélange des mêmes épitopes tous marqués à la peroxydase.

Les échantillons à analyser et les contrôles sériques sont incubés dans les cupules et les anticorps anti-VIH présents dans l'échantillon ou les contrôles sériques se lient aux antigènes dans les cupules ; l'échantillon et tout excès d'anticorps sont ensuite éliminés par lavage .

Lors de l'étape suivante , le conjugué est ajouté et se lie aux anticorps spécifiques déjà liés aux antigènes sur les cupules.

Les échantillons ne contenant pas d'anticorps spécifiques n'entraîneront pas la fixation du conjugué dans la cupule, le conjugué non lié est éliminé par lavage et une solution contenant du 3,3',5,5'- tétraméthylbenzidine (TBM) et de l'eau oxygénée est ajoutée aux cupules.

Les cupules ayant fixé le conjugué développent alors une couleur violette qui vire à l'orange lorsque la réaction est stoppée par l'acide sulfurique. Après incubation, les réactions enzymatiques sont stoppées par de l'acide sulfurique et la couleur est lue par spectrophotométrie à 450nm.

La qualité et l'intensité de la couleur dans les cupules sont directement proportionnelles à la concentration en anticorps anti-VIH présents dans l'échantillon.

### **Interprétation des résultats :**

Les résultats d'une série de test sont valides si les critères suivants sont remplis :

- Contrôle négatif : la DO moyenne doit être inférieure à 0,3
- Contrôle positif : la DO de chacun des contrôles positifs doit supérieure à la DO moyenne du contrôle négatif de plus 0,8.

Les tests qui ne correspondent pas ces critères doivent être recommencés. La valeur seuil (VS) = DO moyenne + 0,20

#### **\*Résultats négatifs**

les échantillons fournissant une DO inférieure à la VS sont considérés comme négatif.

#### **\*Résultats positifs**

Les échantillons fournissant une DO supérieure à la VS sont considérés comme initialement réactifs en utilisant dans le test. De tels échantillons doivent être ré analysés en double en utilisant l'échantillon original. Les échantillons réactifs de manière reproductible par le test Murex HIV1,2,O et présumés contenir des anticorps anti- VIH1 et VIH2 .

De tels échantillons doivent faire l'objet d'analyse supplémentaire et la présence d'anticorps anti-VIH doit être confirmée par d'autres tests. Par contre, les échantillons non réactifs de manière reproductible sont considérés comme négatifs pour les anticorps anti-VIH.

#### **Remarque :**

-Les valeurs de DO significativement supérieures au contrôle négatif peuvent être obtenues avec les cupules ayant reçu tous les réactifs mais, ayant été sautés l'étape d'addition des échantillons.

- En accord avec les recommandations de l'institut Paul Ehrlich (laugen, RFA )et de l'AFSSAPS (Saint- Denis , France ), une zone grise de 10% doit être appliquée. Les nouveaux critères d'interprétation sont les suivants :

(soit  $DO_E$  la moyenne des DO négatifs).

\* $DO < 0,18 + DO_E$  =====> négatif

\* $0,18 + DO_E \leq DO \leq 0,22 + DO_E$  =====> douteux

\* $DO > 0,22 + DO_E$  ===== => positif

Les échantillons douteux devrons être centrifugés et ré analysés en double. Si la ré analyse présente des résultats discordants ou douteux répétables l'échantillons doit faire l'objet d'analyses complémentaires et d'un suivi en prélevant d'autres échantillons sur les mêmes donneurs.

### **Limites du test**

Le test Murex HIV1/2 et O doit être effectué uniquement sur des échantillons de sérum ou de plasma individuel . Le test n'a pas été validé pour une autre utilisation.

Un test négatif par détection d'anticorps n'exclut pas la possibilité d'infection à VIH.

Un test positif par Murex HIV1/2 et O doit être confirmé par au moins un autre test. Des résultats réactifs non reproductibles peuvent être obtenus avec toute procédure EIA.

### **III 4-1-3 VIRONOSTIKA HIV UNI- FORM II Ag/Ab (BIOMERIEUX ,Pays Bas)**

#### **Principe du test :**

Vironostika HIV Uni- form II Ag/Ab .est un test immuno- enzymatique ( ELISA) basé sur le principe du « sandwich » en une étape . Un mélange d'antigènes du VIH et d'anticorps anti- VIH combiné à de la peroxydase de Raifort (HRP) sert de conjugué , le tétramethylbenzidine (TBM) et le peroxyde sont utilisés comme substrat. La coloration qui apparaît à la fin du test indique la présence d'anticorps anti- VIH ou d'antigènes du VIH . L'absence de coloration ou une coloration très claire indique l'absence d'anticorps ou d'antigènes du VIH .

Les cupules microelisa sont recouvertes de plusieurs antigènes du VIH : gp160 du VIH-1 , de peptide ANT703 du VIH-1 ,de peptide d' ENV du VIH-2 (acides aminés 592 –603) ; et d'anticorps anti p24 VIH-1 .

Chaque cupule microelisa contient une sphère de conjugué l'HRP avec le mélange anticorps/antigène . Le diluant pour échantillons est tout d'abord additionné aux cupules afin de dissoudre la sphère. Ensuite , l'échantillon à tester ou le contrôle approprié contenant des anticorps , ou des antigènes VIH est incubé dans les cupules . Si des anticorps de VIH –1

ou/et VIH-2 sont présent dans l'échantillon , un complexe antigène / anticorps anti- VIH en phase solide se forme. Si l'antigène anti- VIH-1 est présent dans l'échantillon, un complexe anticorps/ antigène VIH-1/enzyme en phase solide se forme. Après lavage et incubation avec le substrat TBM , une coloration se développe qui vire au jaune au moment de l'arrêt de la réaction par l'acide sulfurique. Si un anticorps l'anti-VIH1, anti-VIH2 , anti-VIH1 groupe O et/ou un antigène VIH , est présent dans l'échantillon il se développe une coloration intense . Au contraire , si l'échantillon ne contient aucun anticorps anti-VIH et aucun antigène VIH, le test présente une absence de coloration ou une coloration très claire après addition du substrat.

### **Interprétation des résultats :**

-un résultat négatif signifie que l'échantillon testé ne contient pas d'anticorps anti-VIH1 anti-VIH2 anti- VIH1 groupe O ou d'antigène VIH-1 ou en dessous du seuil de détection du Vironostika HIV Uni- form II Ag/Ab.

-Un résultat positif signifie que l'échantillon testé contient des anticorps anti-VIH-1, anti-VIH2 , anti- VIH1 groupe O et/ou des antigènes VIH-1 ou un facteur non spécifique.

-les échantillons positifs doivent être testés à nouveau. Si le test est à nouveau positif , l'échantillon est présumé porteur d' anticorps anti- VIH-1 anti-VIH2 , anti- VIH-1 groupe O et/ou antigènes VIH-1.

Tout échantillon positif reproductible doit être soumis à un test de confirmation. Le Vironostika HIV Uni-form II Ag/Ab ayant une sensibilité élevée, lors de l'analyse des échantillons avec séroconversion précoce il est conseillé d'inclure un test d'antigène VIH sensible dans le test de confirmation .

Les échantillons positifs non reproductibles peuvent être du à des conditions opératoires impropres :

- contamination par un échantillon fortement positif à travers le matériel ou des embouts de pipette.
- Contamination croisée provenant de gouttelettes d'humidité ou de réactifs.
- Contamination du substrat par des ions métalliques.
- Lavage ou aspiration incorrect au cours du procédé de lavage
- Erreur de lecture due au liquide résiduel du fond de la cupule ou à des bulles d'air dans la cupule.

**Limite du test :**

Tous les tests immunoenzymatiques très sensibles peuvent donner des réactions non spécifiques . C'est pourquoi, la spécificité des échantillons positifs reproductibles doit être confirmée avec une méthode appropriée.

**III 4-1-4 CALYTE™ HIV-1 URINE EIA (CALYPE BOIMEDICAL CORPORATION USA)****Principe**

Calypte™ HIV 1 urine EIA est une technique immunoenzymatique basée sur le principe du sandwich en deux étapes pour la détection des anticorps associés aux virus HIV -1 dans les urines .

Calypte™ HIV-1 urine EIA repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec des antigènes purifiés (protéines recombinantes gp160).

**MISE EN ŒUVRE**

- Les urines à étudier , ainsi que les contrôles sont distribués dans les cupules. Si des anticorps anti- VIH sont présents ,ils se lient aux antigènes fixés sur la phase solide.
- Le conjugué est ajouté après lavage. Il se lie aux anticorps retenus par la phase solide.
- La présence de l'enzyme immobilisée sur les complexes est révélée par incubation en présence du substrat après élimination de la fraction de conjugué resté libre.
- La réaction se termine par addition de la solution d'arrêt . la lecture s'effectue au spectrophotomètre à 405nm.

L'absorbance observée pour un échantillon permet de conclure quant à la présence ou l'absence d'anticorps anti- HIV.

**INTERPRETATION DES RESULTATS**

La valeur seuil est de 0,180 additionné à l'absorbance du contrôle négatif

- Les échantillons dont les absorbances sont inférieures à la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test de Calypte™ HIV-1 Urine EIA.
- Les échantillons dont les absorbances sont égales ou supérieures à la valeur seuil sont considérés initialement positifs d'après le test Calypte™ HIV-1 Urine EIA. Ils doivent être contrôlés de nouveau en double avant l'interprétation finale.

- Si après répétition de l'essai l'absorbance mesurée est égale ou supérieure à la valeur seuil l'échantillon est déclaré positif selon le test Calypte™ HIV-1 Urine EIA.
- Si le résultat n'est pas reproductible l'échantillon est considéré négatif selon Calypte™ HIV-1 Urine EIA .

### **LES LIMITES DU TEST**

Comparé aux tests utilisant le sérum ou le plasma celui utilisant les urines donne beaucoup plus de faux négatifs . De très faibles taux d'anticorps peuvent ne pas être détectés lors d'infection récente. En conséquence un résultat négatif signifie que l'échantillon contrôlé ne contient pas d'anticorps détectables par le test Calypte™ HIV –1 Urine EIA.

Les faux positifs sont plus fréquents avec les tests utilisant les urines comparé à ceux utilisant le sang.

### **III 4-1-5 IMMUNOCOMB II (ORGENICS , France)**

Le test utilisé était IMMUNOCOMBII® VIH-1 et VIH-2 Bis pot de PBS ORGENICS.

#### **Matériels**

- Pipette de précision avec embout à usage unique pour la distribution de 50µl.
- Ciseaux
- Chronomètre de laboratoire ou montre
- Papier absorbant

#### **Principe :**

La trousse IMMUNOCOMBII® VIH-1 et VIH-2 Bis pot est un test immuno-enzymatique indirect en phase solide (EIA). La phase solide est un peigne de 12 dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface de trois points ou spots de réaction :

- Spot supérieur, anticorps de chèvre anti-immunoglobulines humaines servant de contrôle interne ;
- Spot médian, peptides synthétiques VIH-2 ;
- Spot inférieur, peptides synthétiques VIH-1.

Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et pré-distribués dans le bac de développement qui est divisé en 6 compartiments (A-F) de 12 puits chacun, chaque compartiment correspondant à un réactif et à une étape du test.

### **Mode opératoire :**

Avant d'entamer la distribution des sérums il est important de :

1. Equilibrer réactifs et échantillons à tester à la température ambiante et exécuter le test à la température ambiante.
2. Distribuer 50µl de chaque échantillon et contrôle dans les puits du compartiment A du bac de développement et homogénéiser ; jeter l'embout un conteneur de déchets contaminés.
3. Insérer le peigne dans le compartiment A et procéder comme indiqué dans ce tableau :

**Tableau I V :** Résumé du mode opératoire

<b>Etape</b>	<b>Compartiment</b>	<b>Opération</b>
Réaction antigène-anticorps	A	Homogénéiser ; incubé 10 mn ; absorber
Lavage	B	Agiter ; incubé 2 mn ; absorber
Conjugué	C	Homogénéiser ; incubé 10mn ; absorber
Conjugué	D	Agiter ; incubé 2 mn ; Absorber
Lavage	E	Agiter ; incubé 2 mn ; Absorber
Révélation	F	Homogénéiser ; incubé 10mn
Réaction d'arrêt	E	Incuber 1mn ; sécher à l'air.

### **Résultats et validation :**

Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats les conditions suivantes doivent être remplies :

1. Le contrôle positif doit présenter trois spots sur la dent.
2. Le contrôle négatif doit présenter uniquement le spot supérieur ou spot de contrôle interne.
3. Tout échantillon testé doit présenter le spot de contrôle interne confirmant un dépôt correct de l'échantillon.

Si une de ces conditions n'est pas remplie, les résultats ne peuvent être validés. Dans ce cas, échantillons et contrôle doivent être retestés

Lecture des résultats: Lorsqu'une dent affiche uniquement le spot supérieur de contrôle interne, l'échantillon correspondant n'est pas réactif pour les anticorps anti-VIH 1 et anti-VIH 2.

Un spot médian circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH 2.

Un spot inférieur, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH 1.

Certains échantillons contenant des concentrations élevées en anticorps anti-VIH-1 ou anti-VIH-2 peuvent occasionner des réactions croisées en affichant un spot secondaire faible associé à un spot principal plus intense correspondant à l'antigène homologue.

Tout résultat indiquant la présence d'anticorps anti-VIH-1 ou anti-VIH-2 doit être confirmé par un test de confirmation.

### **III 4-1-6 GENIE II HIV-1/HIV-2 (BIO RAD , France )**

La trousse Bio Rad Génie II HIV-1/HIV-2 est un test immuno-enzymatique rapide pour la détection qualitative des anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine de type 1 et 2 (VIH-1 et VIH-2) dans le sérum ou le plasma humain.

#### **Matériels**

- Pipette de précision avec embout à usage unique pour la distribution de 50, 200µl.
- Ciseaux
- Chronomètre de laboratoire ou montre.

#### **Principe du test :**

Le test Génie II HIV-1/HIV-2 est le test de la double reconnaissance, basé sur la détection spécifique des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 par des antigènes. Le test utilise l'immunochromatographie et l'immunoconcentration en combinaison. Le support de réaction est constitué de deux puits : le puits A pour le dépôt de l'échantillon et le puits B plus grand et plus elliptique, qui est le puits de réaction. La membrane du puits B est sensibilisée en deux spots de réaction séparés par des antigènes dérivés du VIH-1 et VIH-2, et un troisième spot de contrôle interne permettant le suivi du bon déroulement du test.



### **Mode opératoire :**

#### **1. Capture des anticorps anti-VIH**

Distribuer 3 gouttes (150µl) de réactif #1 ou diluant des échantillons dans un micro tube. Ajouter 50µl d'échantillon de contrôle. Mélanger le contenu du tube par pipetages successifs. Transférer immédiatement la totalité du contenu du micro tube dans le puits de réaction A du support de réaction. Jeter l'embout de la pipette et le micro tube le conteneur de déchets. Attendre 3 minutes.

Les étapes suivantes sont réalisées dans le puits de réaction B :

#### **2. Liaison du conjugué**

Ajouter 3 gouttes de réactif #2 ou conjugué Streptavidine/PAL dans le puits de réaction B, attendre 3 minutes.

#### **3. Lavage**

Remplir à ras-bord le puits de réaction B avec le réactif #3 ou solution de lavage, attendre 1 minute.

#### **4. Révélation**

Ajouter 2 gouttes de réactif #4 ou 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 #5 ou solution d'arrêt, attendre l'absorption complète de la solution, et lire le résultat.

### **Validation et résultats :**

Le contrôle interne doit être obligatoirement présent sur chaque support de réaction pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats.

Les résultats :

Positif VIH-1 : l'apparition du spot VIH-1 de gauche avec le support de contrôle interne indique la présence d'anticorps anti-VIH-1.

Positif VIH-2 : l'apparition du spot du milieu avec le spot de contrôle interne indique la présence d'anticorps anti-VIH-2.

Positif VIH : l'apparition des trois spots indique la présence d'anticorps anti-VIH-1 et /ou VIH-2. Dans ce cas, l'échantillon doit être retesté avec des méthodes complémentaires pour une différenciation plus poussée entre VIH-1 et VIH-2.

Résultat négatif : l'apparition du spot de contrôle interne seul indique l'absence d'anticorps anti-VIH.

#### **LIMITE DU TEST :**

La trousse Génie II HIV-1/HIV-2 est un test de dépistage. La production d'anticorps anti-VIH pouvant être retardée à la suite de l'exposition initiale au virus, les tests de dépistage peuvent ne pas détecter les anticorps dans la phase précoce de l'infection. Aussi, un résultat négatif ne permet pas d'exclure la possibilité d'une infection.

La présence d'anticorps anti-VIH-1 et/ou VIH-2 doit être confirmée par un test de confirmation.

Conformément à la législation française, ce test doit être utilisé en association avec un test ELISA pour le dépistage des anticorps anti-VIH.

### **III 4.1.7 DETERMINE HIV –1/2 ( ABOTT , DIVISION DIAGNOSTIC , France)**

#### **Principe de la méthode**

Abbot Determine est un test immuno chromatographique pour la détection qualitative des anticorps anti- VIH ½ . l'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon .Comme l'échantillon migre jusqu'à la zone du conjugué, il se reconstitue et se mélange avec le conjugué colloïde de sélénium –antigène. Ce mélange continue de 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 ½ sont présent dans l'échantillon , ils se lient à l'antigène du conjugué antigène- colloïde de sélénium et à l' antigène de la fenêtre – patient en formant une ligne rouge .

Si les anticorps anti- VIH ½ sont absents, le conjugué antigène – colloïde de sélénium traverse la fenêtre patient sans donner de ligne rouge . la barre de contrôle de la procédure est incluse dans ce système de test afin d'assurer la validité du test.

## **Interprétation des résultats**

### **VALIDATION : contrôle de qualité**

Le contrôle de la procédure annotée (control) est inclus dans le système afin d'assurer la validité du test . Si la barre de contrôle ne vire pas au rouge à la fin du test, le résultat n'est pas valide et l'échantillon doit être ré analysé .

### **RESULTATS :**

#### **POSITIF : Deux barres**

Les barres rouges apparaissent dans la fenêtre – contrôle et la fenêtre patient (control et patient) sur la bandelette.

Toute couleur rouge visible dans la fenêtre patient doit être interprétée comme résultat positif .

#### **NEGATIF : Une barre**

Une barre rouge apparaît dans la fenêtre contrôle ( annotée « control » ) la barre rouge de la fenêtre patient (annotée patient) n'apparaissant pas la bandelette .

Le résultat est non valide si la barre rouge n'apparaît dans la fenêtre contrôle . ce résultat est aussi non valide si une barre rouge apparaît dans la fenêtre patient pas dans celle de la fenêtre contrôle .

Le test doit être recommencé si le problème persiste, contacter le « service clients Abbot »

### **REMARQUE**

Le résultat du test est positif même si la barre patient est plus claire ou plus foncée que la barre contrôle

### **Limites de la méthode :**

Le test Abbot HIV1/2 est destiné à détecter les anticorps anti VIH-1 et VIH-2 dans le sérum , le plasma et le sang total humains. D'autres liquides biologiques risquent de fournir des résultats imprécis . L'intensité de la barre patient n'est pas nécessairement corrélée avec le titre de l' anticorps se trouvant dans l'échantillon .

Un résultat négatif par Determine VIH ½ n'exclut pas la possibilité d' une infection par le VIH. Un résultat faussement négatif peut être obtenu dans les circonstances suivantes :

- Faibles taux d'anticorps (début de séroconversion) en dessous de la limite de détection du test.
- Infection par un variant du virus moins facilement détectable par la configuration des tests Determine VIH ½.
- Patient présentant des anticorps anti- VIH qui ne réagissent pas avec les antigènes spécifiques utilisés dans la configuration du test .
- Condition de traitement de l'échantillon provoquant une perte de polyvalence de l'anticorps anti- VIH.

Pour ces différentes raisons , il faut prendre des précautions lors de l'interprétation des résultats négatifs . D'autres données cliniques(par exemple symptômes ou facteurs de risque) devront être utilisées en association avec le test.

Des résultats positifs devront être ré analysés en utilisant une autre méthode et les résultats devront être évalués à la lumière clinique globale avant d'établir un diagnostic.  
Des échantillon de sang total ou de plasma contenant des anticoagulants autre que l'EDTA peuvent donner des résultats incorrects.

### **III 4-1-8 NEW LAV BLOT I ( BIO – RAD France ) WERTERN BLOT**

#### **PRINCIPE DE LA METHODE**

Le test repose sur le principe de l' ELISA indirect sur bandelette de nitrocellulose contenant toutes les protéines constitutives du virus et un contrôle interne anti- IgG . La bande de contrôle interne est située du côté de l'extrémité non numérotée de la bandelette avant la réaction P18 et permet de valider l'addition de l'échantillon, des réactifs et le bon déroulement du protocole opératoire.

Les protéines du virus HIV1 sont séparées en fonction de leurs poids moléculaires par électrophorèse sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant et réducteur, puis électrotransférées sur membrane de nitrocellulose.

#### **MISE EN ŒUVRE DU TEST**

- Réhydratation des bandelettes
- Incubation des échantillons à confirmer ou des sérums de contrôle . Si des anticorps anti- HIV 1 sont présents , il se lient aux protéines virales reconnues, présentes sur la bandelette.
- Après lavage , on procède à l'incubation des anticorps anti IgG humain marqués à la phosphatase alcaline . Le conjugué se lie aux anticorps anti- HIV retenus sur le support solide.
- Après lavage et élimination du conjugué en excès, la solution de révélation permet de mettre en évidence l'activité enzymatique des complexes liés à la nitrocellulose.
- L'apparition de bandes colorées spécifiques permet de mettre en évidence la présence d'anticorps anti- HIV1 dans le sérum

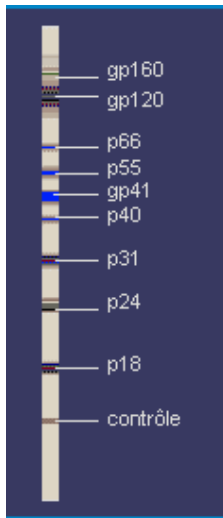


Figure 7 : Western blot VIH 1 positif complet d'après (31)

### Remarque

La détection par immunoempreinte des anticorps anti- HIV2 (NEW LAV BLOT II) sériques ou plasmatiques humains en vue de confirmer une réponse anti-HIV2 positive et d'en préciser la spécificité antigénique dans le cadre du diagnostic du SIDA est basé sur le même principe que le HIV1( NEW LAV BLOT I )

### VALIDATION DES RESULTATS

La bande du contrôle interne anti-IgG doit être présente avec une coloration forte ,elle permet de valider l'addition de l'échantillon ,des réactifs et le bon déroulement du protocole opératoire. L'absence ou la faible intensité de coloration de la bande du contrôle interne anti-IgG traduit soit une absence de dépôt de l'échantillon ou de réactifs, soit un non respect du protocole opératoire.

### INTERPRETATION DES RESULTATS

La présence d'anticorps anti- protéines constitutives du virus HIV1 (HIV2)  
 Dans les échantillons contrôlés se traduit par l'apparition de bandes spécifique colorées (bleu-violet) Leur position correspond aux masses moléculaires des protéines virales

TABLEAU : Protéines constitutives du virus VIH-1

Dénomination	Génome	Nature	Aspect en western blot
<b>GP 160</b>	ENV	Glycoprotéine précurseur de la GP110/120 et de la GP41	Bande nette
<b>GP110/120</b>	ENV	Glycoprotéine d'enveloppe	Bande aux bords diffus
<b>P68</b>	POL	Transcriptase inverse	Bande nette
<b>P55</b>	GAG	Précurseur de protéine internes	Doublet
<b>P52</b>	POL	Protéase	Bande nette
<b>GP41</b>	ENV	Glycoprotéine transmembranaire	Bande diffuse
<b>GP40</b>	GAG	Précurseur de protéine internes	Bande nette
<b>P34</b>	POL	Endonucléase	Bande nette
<b>P24/25</b>	GAG	Protéines interne	Bande nette
<b>P18</b>	GAG	Protéines internes	Parfois un doublet

#### NEW LAV BLOT I

INTERPRETATION	PROFIL
Positif	2 ENV ±GAG± POL
Indéterminé	1 ENV ± GAG ± POL GAG + POL GAG POL
Négatif	Aucune bande Bande non répertoriées

La rubrique indéterminé peut faire suspecter une des alternatives suivantes : Séroconversion , HIV2 ou des réactions croisée avec d'autres rétrovirus

TABLEAU : Protéines constitutives du virus VIH-2

Dénomination	Génome	Nature	Aspect en western blot
GP 140	ENV	Glycoprotéine précurseur de la GP105 et de la GP36	Bande +/- diffuse
GP 105	ENV	Glycoprotéine d'enveloppe	Bande +/- diffuse
P 68	POL	Transcriptase inverse	Bande nette
P 56	GAG	protéines Précurseur de interne	Bande nette
P36	ENV	Glycoprotéine transmembranaire	Bande diffuse
P26	ENV	Protéines interne	Bande nette
P16	GAG	Protéine interne	Bande nette

<b>INTERPETATION</b>	<b>PROFIL</b>
Positif	ENV + GAG +POL
Indéterminé	ENV+GAG ENV +POL GAG + POL GAG POL ENV
Négatif	Aucune bande Bandes non répertoriées

#### REMARQUE

Les profils ou indéterminés peuvent être obtenus par contamination avec un sérum positif

#### MODE OPERATOIRE GENERAL

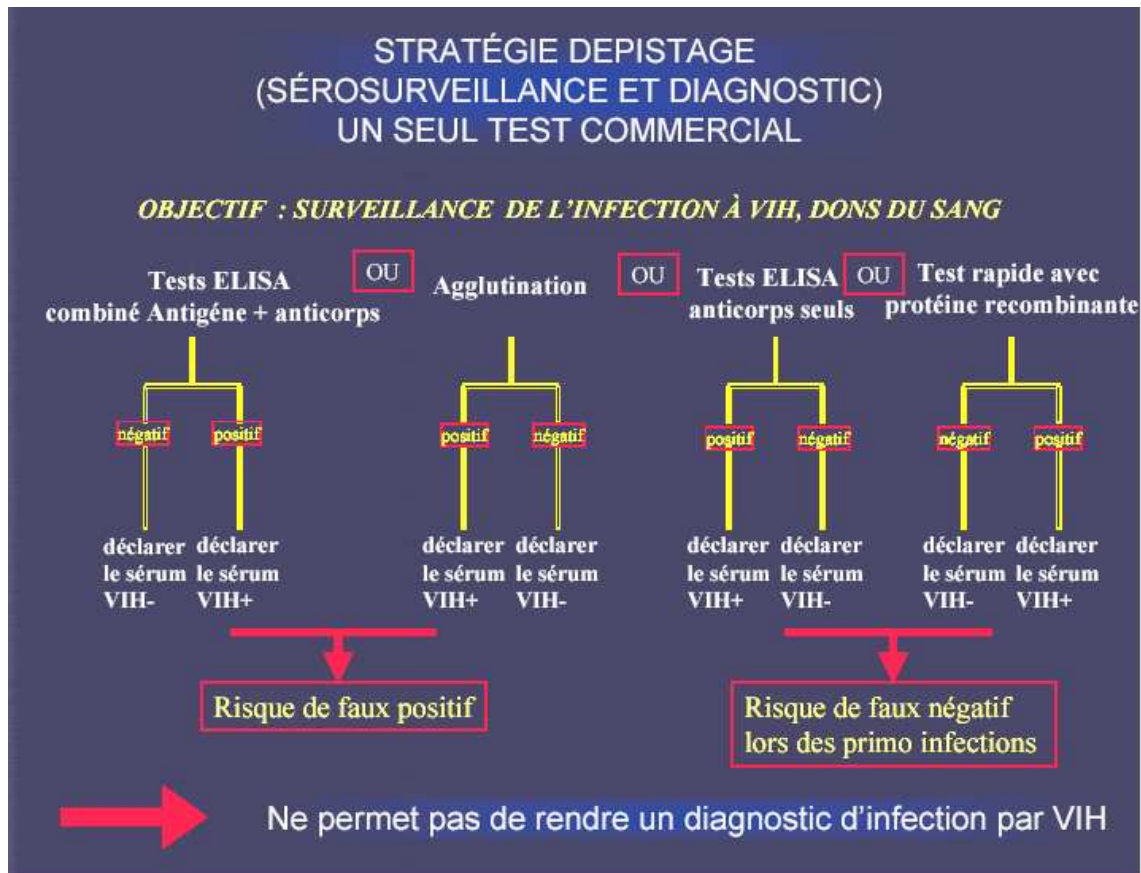
Toutes les analyses ont été réalisées conformément au mode opératoire présenté sur la fiche technique contenue dans la trousse

#### PRECAUTIONS A PRENDRE LORS DE LA SEROLOGIE HIV

- Ne pas utiliser de réactif après date d'expiration
- Ne pas pipeter à la bouche
- Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones où sont manipulés les échantillons à tester.
- Porter des gants à usage unique pour manipuler les échantillons et se laver soigneusement les mains après le travail

- Considérer que tous les échantillons et le matériel utilisé pour la réaction sont ponctuellement infectants. Pour leur stérilisation et leur destruction, les meilleurs méthodes sont l'autoclave à 121°C pendant 60 mn et l'incinération . Ne pas mettre de solution contenant l'eau de javel dans l'autoclave .
- Manipuler le sérum témoin de positivité comme s'il était capable de transmettre une infection même s'il à été chauffé à 56 °C pendant 30mn
- Pour chaque échantillon a tester, utiliser , pipette à usage unique différente ou un embout différent .
- Les taches d'éclaboussures d'échantillons où de réactifs sur la surface de travail doivent être soigneusement traités, avant essuyage , à l'aide d'hypochlorite de sodium (5%) d'alcool à 70% ou d'un désinfectant à base d'iode.
- Les solutions d'arrêt contenant l'hydroxyde de sodium dont à des concentrations telles qu'elles peuvent être considérées comme potentiellement irritantes pour les yeux et la peau . En cas de contact , laver immédiatement et abondamment avec de l'eau.
- Ne pas utiliser les produits après la date de péremption inscrite sur l'étiquette.
- Ne pas mélanger les réactifs de lots différents
- Ramener les réactifs à tester à la température ambiante et remettre les réactifs entre 2 – 8°C après utilisation
- Veiller à ce que les réactifs et les échantillons soient homogène avant utilisation
- Pour éviter toute contamination, ne pas toucher le haut des barrettes, le bord des cupules, le liquide dans les cupules ou la sphère de conjugué avec les doigts ou avec les embouts de pipette.
- Toutes les manipulations avec pipette doivent être effectuées avec un soin et une précision particulière.
- Eliminer toutes les bulles d'air dans les cupules en tapotant doucement
- Une maintenance de routine du système aspiration /lavage est fortement recommandée afin d'éviter la contamination des échantillons entre eux
- Manipuler tout le matériel utilisé comme s'il s'agissait de déchets biologiques dangereux.
- Eviter la contamination microbienne des réactifs.
- Eviter tout contact du tampon substrat , du chromogène et de la solution d'arrêt avec la peau et les muqueuses (risque de toxicité d'irritation et de brûlures).





Source : western blot bandelette hiv .pdf

### III 4-2 CONSIDERATIONS ETHIQUES ET DEONTOLOGIQUE

Le protocole d'étude à été approuvé par le comité d'éthique de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'odonto- stomatologie du Mali.

L'obtention des consentements éclairés ont précédé la collecte.

Afin de prévenir toutes contaminations iatrogène par les objets souillés de sang, chaque prélèvements sanguin à été effectué à l'aide d' instruments stériles neuf à usage unique.

Le port de gants était de rigueur pour le personnel travaillant en Immunologie.

Les informations recueillies étaient gardées confidentielles

### III 4-3 -TRAITEMENT ET ANALYSE DES DONNEES : Terminologie

Assurance de la qualité (AQ) : Ensemble des processus qui garantissent que les résultats finaux rendus par le laboratoire sont aussi exacts que possible. Ceci nécessite un contrôle des prélèvements, une révision des procédés de transcription , l'utilisation des tests les plus fiables et la vérification des comptes rendus des résultats.

Contrôle de qualité (CQ) : Comprend les mesures qui doivent être prises lors de la réalisation de chaque analyse afin de vérifier qu'elle se déroule correctement. Ceci comprend la vérification des conditions de température correctes, de l' existence de témoin de contrôle ,etc. Ce CQ indique si l'analyse en cours est valable et donne des résultats acceptables . Le

contrôle de qualité n'indique pas ce pendant si les résultats sont exacts, ni s'ils ont été correctement enregistrés.

Evaluation de la qualité (**EQ**) : Est le moyen de déterminer la qualité des résultats. Généralement, c'est une évaluation externe de la performance d'un laboratoire, utilisant un panel significatif.

L'évaluation de la qualité est mise en œuvre en vue de déterminer l'efficacité du programme d'assurance de la qualité.

### **ANALYSE STATISTIQUE:**

VP : Vrai Positif

FP : Faux Positif

VN: Vrai Négatif

FN : Faux Négatif

**Sensibilité** : Capacité d'un test à pouvoir détecter les sujets malades dans une population donnée ; mesure ainsi l'aptitude d'un test à éliminer les faux négatifs.

$$Se = \frac{Vp * 100}{Vp + Fn}$$

**Spécificité** : Capacité d'un test à détecter des sujets sains dans une population donnée ; mesure ainsi l'aptitude d'un test à éliminer les faux positifs.

$$Sp = \frac{Vn * 100}{Vn + Fp}$$

**Valeur prédictive positive** : Probabilité pour qu'un patient chez qui un test est positif soit réellement atteint de la maladie.

$$Vpp = \frac{Vp * 100}{Vp + Fp}$$

**Valeur prédictive négative** : Probabilité pour qu'un patient chez qui un test est négatif ne soit pas atteint de la maladie.

$$VPN = \frac{Vn * 100}{Vn + Fn}$$

La prévalence influe beaucoup sur la valeur prédictive.

Normes OMS : Se = 99 %

SP = 99 %

**Efficacité :** Aptitude globale à identifier avec exactitude tous les positifs et tous les négatifs (absence de faux positif et de faux négatif) .  
Elle combine Se et Sp de l'épreuve et donne une idée de son efficacité totale.

$$\text{Efficacité} = \frac{V_p + V_n}{V_p + F_p + V_n + F_n} * 100 = \frac{V_p + V_n}{N}$$

N= Nombre d'échantillons analysés

## IV- RESULTATS

**TABLEAU I** : REPARTITIONS DES ECHANTILLONS SELON LEURS ORIGINES

ORIGINE	POINT G	CNTS	TOTAL
EFFECTIF	81	161	242
POURCENTAGE	33 ,5%	66,5%	100%

**TABLEAU II** : REPARTITION DES ECHANTILLONS SELON LE SEXE

SEXE	ORIGINE				TOTAL	
	Point G		CNTS		Effectif	%
	Effectif	%	Effectif	%		
Masculin	49	60,5%	137	85,1%	186	76,9%
Féminin	32	39,5%	24	14,9%	56	23,1%
TOTAL	81	100%	161	100%	242	100%

**TABLEAU III** : REPARTITION DES ECHANTILLONS SUIVANT L' AGE

**TABLEAU III- a** : Donneurs de sang du C.N.T.S

Classe d'âge	18-35	36-55	Total
Effectif	65	39	104
Pourcentage	62,5%	37,5%	100%

**TABLEAU III -b** : Malades du point G

Classe d'âge	20-40	41-55	Total
Effectif	45	36	81
Pourcentage	55,55%	44,44%	100%

Ce travail a été réalisé sur 242 sérums dont les caractéristiques se trouvent dans les tableaux suivants

**TABLEAU IV** : Résultats du western blot sur 185 Sérums testés

Nombre de sérum	Nombre de positifs	Nombre de négatifs	Nombre d'indéterminés
Donneurs(104)	17	87	0
Malades (81)	63	10	8
Total (185)	80	97	8

Le western Blot a donné un résultat positif chez 17 donneurs de sang du C.N.T.S .Il n'y a pas eu de cas indéterminés ; avec donc une séroprévalence de 16,34%. Chez les malades le Western Blot a donné 63 positifs et 8 cas d'indéterminés. La séroprévalence était de 77,78%

La répartition en fonction du type de virus ont été pour 2 cas pour le VIH-2 , 77 cas pour le VIH-1 et un cas pour le VIH-1 et VIH-2

Parmi les 185 sérums testés 8 (4,32%) ont été indéterminés au western blot et exclus de l'analyse statistique de tests de dépistage du VIH.



**Résultats de 6 tests par rapport au Western Blot sur les 104 sérums des donneurs de sang**

**DONNEURS**

**TABLEAU V : RESULTAT DU GENSCREEN PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT**

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
GENSCREEN V2	Positif	17	3	20
	Négatif	0	84	84
Total		17	87	104

Se = 100%    Sp = 96,55%    VPP = 85 %    VPN = 100%    Ef = 97,11%

**TABLEAU VI : RESULTAT DE VIRONOSTIKA HIV Uni – Form II Ag/Ab PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT**

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
VIRONOSTIKA HIV Uni – Form II Ag/Ab	Positif	17	2	19
	Négatif	0	85	85
Total		17	87	104

Se = 100%    Sp = 97,70%    VPP = 89,47%    VPN = 100%    Ef = 98,07%

**TABLEAU VII : RESULTAT DE MUREX ABBOTT HIV 1/2 PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT**

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
MUREX ABBOT HIV 1/2	Positif	15	0	15
	Négatif	2	87	89
Total		17	87	104

Se = 88,23%    Sp = 100%    VPP = 100%    VPN = 97,75%    Ef = 98,07%

**TABLEAU VIII** : RESULTAT DE IMMUNO COMB II HIV 1/2 PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
IMMUNO COMB II	Positif	13	0	13
	Négatif	4	87	91
Total		17	87	104

Se = 76,74%    Sp = 100%    VPP = 100%    VPN = 95,60%    Ef = 96,15%

**TABLEAU IX**: RESULTAT DU GENIE II HIV 1/2 PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
GENIE II HIV 1/2	Positif	13	0	13
	Négatif	4	87	91
Total		17	87	104

Se = 76,74%    Sp = 100%    VPP = 100%    VPN = 95,60%    Ef = 96,15%

**TABLEAU X** : RESULTAT DU DETERMINE HIV 1/2 PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
DETERMINE	Positif	10	0	10
HIV 1/2	Négatif	7	87	94
Total		17	87	104

Se = 58,82 %    Sp = 100%    VPP = 100%    VPN = 92,55%    Ef = 93,26%



**Résultats de 7 tests par rapports au Western Blot sur les 73 prélèvements des malades.**

**MALADES**

**TABLEAU XI:** RESULTATS DE GENSCREEN V2 PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
GENSCREEN V2	Positif	63	0	63
	Négatif	0	10	10
Total		63	10	73

Se = 100%    Sp = 100%    VPP = 100%    VPN = 100%    Ef = 100%

**TABLEAU XII:** RESULTATS DE VIRONOSTIKA HIV1/2 Uni Form II Ag/Ab PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
VIRONOSTIKA HIV Uni – Form II Ag/Ab	Positif	63	0	63
	Négatif	0	10	10
Total		63	10	73

Se = 100%    Sp = 100%    VPP = 100%    VPN = 100%    Ef = 100%

**TABLEAU XIII:** RESULTATS DE MUREX ABBOT HIV 1/2 PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
MUREX ABBOT HIV 1/2	Positif	63	0	63
	Négatif	0	10	10
Total		63	10	73

Se = 100%    Sp = 100%    VPP = 100%    VPN = 100%    Ef = 100%

**TABLEAU IXV:** RESULTATS DE CALYPTE HIV 1 Urine EIA PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
CALYPTE HIV 1	Positif	45	6	51
Urine EIA	Négatif	18	4	22
Total		63	10	73

Se = 71,42%    Sp = 40%    VPP = 88,23%    VPN = 18,18%    Ef = 67,12%

**TABLEAU XV:** RESULTATS DE IMMUNO COMB II HIV 1/2 PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
IMMUNO COMB II	Positif	60	0	60
HIV 1/2	Négatif	3	10	13
Total		63	10	73

Se = 95,24 %    Sp = 100 %    VPP = 100 %    VPN = 96,92 %    Ef = 95,89 %

**TABLEAU XVI:** RESULTATS DE GENIE II HIV 1/2 PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
GENIE II HIV 1/2	Positif	60	0	60
	Négatif	3	10	13
Total		63	10	73

Se = 95,24 %    Sp = 100 %    VPP = 100 %    VPN = 96,92 %    Ef = 95,89 %

**TABLEAU XVII:** RESULTATS DE DETERMINE HIV 1/2 PAR RAPPORT AU WESTERN BLOT

TESTS		Western Blot		Total
		Positif	Négatif	
DETERMINE	Positif	58	0	58
HIV 1/2	Négatif	5	10	15
Total		63	10	73

Se = 92,06%      Sp = 100 %      VPP = 100 %      VPN = 66,67 %      Ef = 93,15 %

La deuxième évaluation a porté sur 57 donneurs avec le Genscreen V2 utilisé comme tests de screening.

**TABLEAU XVIII :** Résultats du Genscreen V2 sur 57 donneurs

Nombre de sérum	Nombre de positifs	Nombre de négatifs	Total
Donneurs	43	14	57

**TABLEAU IXX :** Résultat des 57 donneurs par rapport au Genscreen V2 sur les urines

Test	Vrais positifs	Vrais négatifs	Faux négatifs	Faux positifs	Nombre total d'urines
Calype	28	6	15	8	57

**TABLEAU XX:** Résumé des Performances des 6 tests de diagnostics du VIH sur 104 sérums de donneurs de sang

Tests	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Efficacité
Genscreen V2 HIV1/2	100 %	96,55%	85 %	100%	97,11 %
Vironostika HIV Uni-Form II Ag/Ab	100 %	97,70 %	89,47%	100%	98,07 %
Murex Abott HIV1/2	88,23	100 %	100 %	97,75 %	98,07 %
Immuno comb II HIV1/2	76,47 %	100%	100 %	95,60 %	96,15 %
Genie II HIV1/2	76,74 %	100 %	100 %	95,60 %	96,15 %
Determine HIV1/2	58,82	100 %	100 %	92,55 %	93,26 %

GENSCREEN V2 , VIRONOSTIKA HIV UNI-FORM II Ag/Ab ont une valeur prédictive négative de 100%.

MUREX ABOIT HIV1/2 , IMMUNO COMB II HIV1/2 , GENIE II HIV1/2 DETERMINE HIV1/2 une valeur prédictive positive de 100% chacune.

**TABLEAU XXI** :Résumé des Performances des 7 tests de diagnostics sur 73 sérums et urines de malades

Tests	Sensibilités	Spécificité	VPP	VPN	Efficacité
Genscreen V2	100%	100%	100%	100%	100%
Vironostika HIV Uni- Form II Ag/Ab	100%	100%	100%	100%	100%
Murex Abott HIV1/2	100%	100%	100%	100%	100%
Calype	71,42%	40%	88,23%	18,18%	67,12%
Immuno comb II HIV1/2	95,24%	100%	100%	76,92%	95,89%
Genie II HIV1/2	95,24%	100%	100%	76,92%	95,89%
Determine HIV1/2	92,06%	100%	100%	66,67%	93,15%

GENSCREEN V2 , VIRONOSTIKA HIV UNI- FORM II Ag/Ab , MUREX ABOTT HIV1/2 ont une efficacité, une valeur prédictive positive et une valeur prédictive négative de 100% chacune.

IMMUNO COMBII HIV 1/2 , GENIE II HIV ½ DETERMINE HIV ½ ont une valeur prédictive positive de 100%.

**TABLEAUX XXII** : Performance de calype HIV-1 Urine EIA sur 57 urines de donneurs

Test	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN	Efficacité
Calype HIV-1 Urine EIA	65,11 %	42,85 %	77,77 %	28,57 %	59,65 %

## **V - COMMENTAIRES ET DISCUSSION**

### **V-1 LA METHODOLOGIE**

Cette étude d'évaluation des tests de dépistage du VIH est la première au MALI d'autant plus, qu'elle a porté sur des sérums et des urines provenant de donneurs de sang et de malades présentant des signes cliniques évocateurs de l'infection à VIH (définitions O.M.S positive). Nous nous sommes intéressés à ces deux groupes de populations car nos soucis primordiaux ont été de garantir la sécurité transfusionnelle dans la population Malienne d'une part et d'autre part de faire un bon diagnostic de l'infection à VIH chez les malades en vue d'une prise en charge rapide.

La taille de notre échantillon a été limitée 242 sérums et 138 urines. Cette taille à été inférieure à celle utilisée par certains auteurs tels que : KLINE et coll. (37) , BRATTEGAARD et coll.(7) STETLER et coll. (59) , NKENGASONG et coll. (41) . Ces derniers ont utilisé respectivement 547 , 1185 , 8283 sérums. Par contre, elle a été supérieure à celle de PALMER et coll. (52) ; ce dernier a utilisé 208 sérums .

Cette étude nous a permis de formuler des conclusions statistiquement valables sur le choix des tests à utiliser chez les donneurs de sang et les malades .

### **V-2 RESULTATS GLOBAUX**

Répartition suivant le sexe

Chez les donneurs de sang.

Les donneurs de sexe masculin sont les plus représentés. Il y' avait en effet 85,1% de donneurs de sexe masculin contre 14,9% de donneurs de sexe féminin ( tableau 4).

Ce écart s'explique en grande partie par les contres indications du don de sang chez les femmes. (femmes enceintes, allaitantes ou en menstruation, ne doivent pas donner le sang ) .

Il y' a également la peur que de nombreuses femmes manifestent devant le don de sang.

Toutefois il est important de signaler que la participation des femmes au don de sang a augmenté comparativement aux années précédentes. En effet dans cette étude le sexe ratio homme/femme est de 5,70 par contre Kiemtoré a eu un sexe ratio homme/femme de 8,37 en 1997(36) , Kimba Harouna 8,22 en 1998 (35) et Bourama Traoré 6,83 en 2002 (12)

Chez les malades

Les malades de sexe masculin représente 60,5% contre 39,5% pour le sexe féminin .

Le sexe ratio homme/femme est de 1,53%.

## Répartition suivant l'âge

### Chez les donneurs de sang

La tranche d'âge de 18-35 ans contient le plus grand nombre de donneurs avec 62,5% des dons. Ceci s'explique par le fait que la politique de collecte mobiles qui ont lieu majoritairement dans les garnisons et les établissements scolaires.

Dans ces deux types de structures la population est essentiellement jeune. En plus cette tranche d'âge est beaucoup plus disposée et volontaire à donner du sang.

### Chez les malades

La tranche d'âge de 20-40 ans est majoritaire .cela peut s'expliquer par le fait que cette tranche d'âge est constituée par la couche active de la société qui est la population cible de l'infection. Les tranches d'âge les plus touchées sont variables d'une étude à une autre. Toutes fois nombre d'études ont montré que la tranche d'âge de 14-34 ans est la plus touchée (61).

Les résultats ont montré que le taux de séroprévalence du VIH chez les donneurs de sang du CNTS de Bamako a été de 16,34 %. Evaluation qui portait sur 104 donneurs.

Ce taux est supérieur à celui trouvé par BOURAMA T. qui a été de 4,98% en 2002 (12).

Ces taux sont largement supérieur aux taux national qui est de 1,7% donné par l'EDSIII (Enquête Démographique et de Santé III ).

Cette enquête a porté sur un échantillon représentatif de l'ensemble de la population Malienne alors que nos résultats portent uniquement sur les donneurs de sang de Bamako.

La majorité des dons sont effectués par des donneurs occasionnels.

Les résultats obtenus des centres de transfusion des pays environnants sont variables.

Ainsi au Togo l'étude de GABA J.D. à révélé une fréquence de 5,66% à la banque de sang de Lomé (30). Une prévalence de 8% à été trouvé au Burkina Faso (56) et en Centre Afrique (20).

Des prévalences plus faibles ont été décrites au Sénégal et en Guinée avec respectivement 0,56% et 0,84% en 1994 (13,39).

La Guinée et le Sénégal sont deux pays où les donneurs de sang sont majoritairement volontaires et réguliers. Par contre le Burkina Faso , le Mali ,le Togo sont des pays où le don est beaucoup plus occasionnel.

Chez les malades le taux de seroprévalence à été de 77,78%.Ce taux de prévalence à été inférieur à celui trouvé par Touré B. (11). Ce dernier a trouvé une seroprévalence de 83,33% Cette différence peut être expliquée par le mode de recrutement des malades.

En effet les malades inclus dans l'étude de Touré B. ont été recruté après confirmation de leur états sérologique.

Nous avons constaté une prédominance du VIH –1 soit 96,25% contre 2,5% pour le VIH-2 . Ce taux faible de VIH-2 est dû à sa difficile transmission.

Ce taux faible de VIH-2 à été retrouvé pour la même raison par GAITOU 4,28% (44)

Par KLINE RL.et coll. 1,5% (56).

## COMPARAISON DES TESTS.

Sur les 7 tests seul le test CALYPTE™ HIV-1 Urines EIA n'a pas été évalué sur les urines des 104 donneurs par manque d'échantillons.

### Chez les donneurs de sang

Les résultats des six tests par rapport au western Blot ont montré que parmi les tests ELISA , Genscreen V2 et Vironostika HIV Uni FormII Ag /Ab ont donné des résultats identiques à ceux obtenus par le Western Blot. Quant aux tests rapides GenieII HIV1/2 et ImmunocombII HIV1/2 donnent des résultats proche à 91,25% de ceux obtenus par le Western Blot.

### Chez les malades

Vironostika HIV Uni Form II Ag/Ab ,Genscreen V2, Murex Abbott ont donné des résultats identiques à ceux obtenu par le Western Blot.Tous les tests rapides ont reconnu tous les sérums négatifs au Western Blot.

## PERFORMANCES DES TESTS

Les valeurs prédictives d'un test rendent compte mieux de sa validité dans une population donnée. La sensibilité , la spécificité et l'efficacité sont des critères importants dans le choix d'un test.

### Chez les donneurs

#### Tests ELISA

Vironostika HIV Uni Form II Ag/Ab est un test de quatrième génération qui utilise à la fois des anti-corps IgG et IgM et les antigènes du VIH.Il est indiqué pour dépister les dons de sang. Il a une grande sensibilité sur les échantillons avec séroconversion précoce.

Il a donné des résultats performants par des valeurs prédictives négatives de 100%.

Genscreen V2 qui est un test de troisième génération a donné aussi des valeurs prédictives négatives de 100% .

Quant aux autres tests ELISA : Murex Abbot a eu des valeurs prédictives positives de 100%.

Calype HIV1 Urine EIA a présenté des valeurs prédictives négatives et positives faibles.

#### Tests rapides

Le Genie II HIV1/2 , ImmunocombII HIV1/2 et Determine HIV1/2 ont eu des valeurs prédictives positives de 100%. Par contre les valeurs prédictives négatives de Determine HIV1/2 ont été plus faible que ceux de Genie II et Immuno comb II.

Le Genscreen V2 et Vironostika HIV Uni Form II Ag/Ab ont une sensibilité et une valeur prédictive négative de 100% par rapport au Western Blot. Les résultats du Genscreen V2 sont comparables à ceux donnés par l'ONU SIDA et l'OMS qui ont obtenu une valeur prédictive négative de 100% et une valeur prédictive positive de 80,92% (50). La VPN de Genscreen V2 à été identique à celle trouvée par BOURAMA T . qui à été de 100%. Par contre la VPP à été légèrement inférieur à celle trouvé par le même auteur. Ce dernier à trouvé 86,36% contre 85%.

Chez les malades

Les tests ELISA

Vironostika HIV Uni Form II Ag/Ab ,Genscreen V2 et Abbott Murex ont été très performants. Leurs valeurs prédictives positives et négatives ont été respectivement 100%. Quant à Calype HIV1 Urine EIA il a présenté des valeurs prédictives faibles, une sensibilité, et une spécificité également faible.

Les premiers essais comparatifs entre les tests sanguin et les tests urinaires effectués sur 515 personnes dans une population à risque faible ont montré des résultats identiques. La sensibilité du test d'urine a été évalué à 99,7% (10). Seul 2 personnes sous traitement antiretroviral ont reçu un résultat négatif erroné. En 1999, Meeldanet et al. ont évalué le test Calype HIV1 Urine EIA en Ouganda sur 222 sujets. La sensibilité et la spécificité ont été évalué à 100% (40). Une autre étude réalisée sur le même test par Dacosta et al. sur 360 Brésiliens a montré une sensibilité de 100% et une spécificité de 97,9% (24). La sensibilité et la spécificité que nous avons trouvés sont inférieures à ces différents auteurs cela peut s'expliquer par le fait que leur population d'étude portait sur des personnes à risque faible.

Les tests rapides

Genie II HIV1/2 Immunocomb II HIV1/2 Determine HIV1/2 ont donné des valeurs prédictives positives de 100% et une spécificité de 100%.

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 Determine HIV1/2 avec le sang total sur des sujets Ghanéens et ont trouvé une spécificité de 100% (2). Au cours de cette même année Koblavi –Deme et al ont évalué les performances du test Determine dans une clinique anténatale à Abidjan ont trouvé une spécificité de 99,4% (38).

Nogueira et al ont obtenu à Rio de Janeiro en 2001 dans trois maternités publiques avec Determine une spécificité de 100% (42). Ces résultats confirment les nôtres.

Pour les tests Immuno comb II HIV1/2 et Genie II HIV1/2 des études similaires réalisées à Honduras, en Côte d'Ivoire et au Sénégal (14,51,21) ont montré une spécificité identique aux nôtres. Par ailleurs une étude réalisée en 1999 au Togo par Dagnara et al. avec le test Genie II HIV1/2 a donné une spécificité de 100% par contre la sensibilité reste inférieure à la nôtre (90,5%) (17).

Harrison et coll. (44) à Honduras ont montré pour GENIE II une VPN de 100% et une VPP de 100% sur une population composée de femmes enceintes, de donneurs de sang et d'étudiants de 15 à 19 ans pour une séroprévalence de 34,23%

Brattegaard et coll.(7) en Afrique du Sud ont trouvé pour GENIE II une VPN de 99,9% et une VPP de 99,6% sur une population de femmes enceintes et de patients pour une séroprévalence de 13%.

Kline RL et coll. (37) au Nigéria ont obtenu pour GENIE II une VPN de 99,3 % et une VPP de 99,2% sur une population de prostituées pour une séroprévalence de 30,23%.

Fatoumata M. (29) a trouvé une sensibilité de 98,6% pour Immuno comb II. Cette sensibilité est supérieure à la nôtre qui est de 95,23% mais inférieure à celle de Sangaré D. qui avait une valeur de 92%(57)

En application des nouvelles Stratégies de L'ONU SIDA et de l'OMS de 1997 (44) nous avons retenu.



Pour une meilleure sécurité transfusionnelle chez les donneurs de sang les tests suivants.

Pour les tests ELISA : Vironostika HIV1/2 Uni Form II Ag/Ab Genscreen V2 ces tests sont retenus pour leur valeurs prédictives négatives de 100% car l'exigence est de transfuser un sang réellement négatif.

Pour les tests rapides : Genie II HIV1/2 et ImmunocombII HIV1/2 pour leurs VPN qui est de 95,60% proche des valeurs de l'ONU SIDA.

Pour un diagnostic fiable chez les malades, Vironostika HIV1/2 Uni Form II Ag/Ab Genscreen V2 Murex Abbott HIV1/2 car leur valeurs prédictives a été de 100% et la seroprévalence de l'infection du VIH a été de 77,8% ; ce taux étant strictement supérieur à 30% .

### **En terme de praticabilité :**

Les tests ELISA sont plus intéressants dans le dépistage à grande échelle d'échantillons mais sont plus long en durée d'exécution (2 heures), difficile à réaliser et en plus ,nécessitent d'être réalisés dans des laboratoires bien équipés, sophistiqués ayant une alimentation électrique constante.

Par contre les tests rapides sont utilisés dans les dépistages unitaires. Ils ne nécessite pas d'appareils sophistiqués, d'eau distillée , et s'exécute en peu de temps (10 à 30 minutes). Il ne demande pas une haute précision. Ainsi Genie II HIV1/2 et Immunocombs II HIV1/2 peut être utilisé chez les donneurs de sang pour un dépistage rapide dans les régions peu développés ne disposant pas de laboratoires équipés.

### **En terme de coût :**

En terme de coût le test unitaire de Vironostika VIH ½ Uniform II Ag / Ab (4200 Fcfa) est 1,15 fois plus cher que GENSCREEN V 2 (3646 F cfa), 1,5 fois plus cher que GENIE II HIV1/2 (2750 Fcfa ) et 1,7 fois plus cher que IMMUNOCOMB II HIV1/2 (2500 F cfa)

**Chez les donneurs** nous avons retenus le GENSCREEN V2 et L'IMMUNOCOMBS II HIV1/2

**Chez les malades** nous avons retenus GENSCEEN V2 pour la confirmation du diagnostic clinique et GENIE II HIV1/2 pour le typage

## UTILISATION DES TESTS DE DEPISTAGES DU VIH POUR LES ETUDES EPIDEMIOLOGIQUES DANS LA POPULATION GENERALE ET DANS LES POPULATIONS A RISQUE ELEVE

Dans la population Générale

La séroprévalence du VIH dans la population Malienne à été de 1,7%. Ce taux étant inférieur à 10%, l'OMS a conseillé d'appliquer la stratégie II dans le dépistage de l'infection à VIH c'est à dire utiliser deux tests, le premier très sensible et le deuxième très spécifique avec des principes antigéniques différents.

Au vue des analyses faites sur la performance des tests aussi bien chez les donneurs que chez les malades , nous avons constaté que les tests Genscreen V2 et Vironostika HIV1/2 Uni Form II Ag/Ab a été très sensible dans ces deux populations avec une valeur prédictives négative de 100%. De même Genie II HIV1/2 Immunocomb II HIV1/2 ont été très spécifiques avec des valeurs prédictives positive de 100% . de ce fait nous proposons d'utiliser un des tests ELISA en première intention et en deuxième intention comme test rapide Genie II HIV1/2 et comme test semi rapide ImmunocombII HIV1/2 pour confirmer la séropositivité.

Dans les populations à haut risque

Les populations à haut risque au MALI sont les professionnels du sexe , les prisonniers , les malades hospitalisés avec des taux de prévalence respectifs de 63% ,13%, 21,38% en 1987 (62).Les séroprévalences étant supérieures à 10% ,l'utilisation d'un test très sensible serait efficace pour le dépistage de l'infection à VIH. Ainsi , nous proposons d'utiliser le test Genscreen V2 ou Vironostika HIV1/2 Uni Form II Ag/Ab.

## **VI- CONCLUSIONS ET RECOMMANDATIONS**

### **VI - 1 CONCLUSION**

Les résultats que nous avons obtenus au cours de cette étude permettent les conclusions suivantes.

- Le VIH1 est beaucoup plus fréquent chez nos malades du SIDA que le VIH2
- Les VIH1 et 2 sont rencontrés chez les donneurs de sang avec une nette prédominance du VIH1.

A l'issu de cette étude , nous avons aussi constaté une variation de la performance des tests de dépistage du VIH chez les donneurs de sang et chez les malades présentant des signes cliniques évocateurs du SIDA.

#### **Chez les donneurs de sang :**

Il ressort clairement qu'avec CALYPE HIV1 URINE EIA les urines ne peuvent être utilisées pour le dépistage du VIH dans un centre de transfusion sanguine par manque de sensibilité et de spécificité.

-Les tests les plus sensibles sont :GENSCREEN VII ,VIRONOSTIKA HIV1/2  
UNI FORM Ag/Ab

-Les tests les plus spécifiques : MUREX ABBOTT HIV1/2 , IMMUNOCOMBII  
HIV1/2 GENIE II HIV1/2 DETERMINE HIV1/2

-Les tests les plus fiables : GENSCREEN V2, VIRONOSTIKA HIV1/2 UNI  
FORMII Ag/Ab ,GENIE II HIV1/2, IMMUNOCOMB II HIV1/2

#### **Chez les malades présentant des signes évocateurs du SIDA**

-Les tests les plus sensibles : GENSCREEN V2, MUREX ABBOTT HIV1/2  
VIRONOSTIKA HIV1/2 UNI FORM II Ag/Ab

-Les Tests les plus spécifiques sont : GENSCREEN V2, MUREX ABBOTT  
HIV1/2 VIRONOSTIKA HIV1/2 UNI FORM II Ag/Ab , IMMUNOCOMBII HIV1/2 GENIE  
II HIV1/2 DETERMINE HIV1/2

-Les tests les plus fiables sont : GENSCREEN V2, MUREX ABBOTT HIV1/2  
VIRONOSTIKA HIV1/2 UNI FORM II Ag/Ab , IMMUNOCOMBII HIV1/2 GENIE II  
HIV1/2

En tenant compte de la praticabilité et du bon rapport qualité / coût des tests nous avons retenu les tests suivants :

GENSCREEN V2 et IMMUNOCOMB II HIV1/2 et GENIE II HIV 1 /2

## **VI -2 RECOMMANDATIONS**

**Au terme de ces résultats, nous formulons les recommandations suivantes :**

### **Au décideurs politiques , au haut conseil de lutte contre le VIH et au Programme National de lutte contre le SIDA**

- Accroître leur engagements dans la lutte contre le SIDA en mobilisant plus de fond pour l'achat des tests de dépistage du VIH les plus sensibles pour la sécurité transfusionnelle et les plus spécifiques pour les centres de diagnostic et de traitement.
- Renforcer les campagnes de sensibilisation en vue de la prévention de l'infection.
- Appuyer l'ADBS dans sa mission de sensibilisation pour la fidélisation des donneurs bénévoles afin de diminuer le risque infectieux lié à la transfusion.

### **Au CNTS**

- Créer une antenne de conceling au sein du CNTS pour l'annonce des résultats
- Améliorer le support de données pour permettre leur bonne exploitations

## **BIBLIOGRAPHIE**

**1. AGUT H. , V. CALVEZ., A. G-DEJEAN.** Virologie médicale et infection VIH.IN : P.-M.GIRARD, Ch.KATLAMA, G.PIALOUX  
VIH EDITION 2001

**2. AIDOO S, AMPOFO WK, BRANDFUL JAM, NUVOR SV, ANSAH JK et al.**  
Suitability of a rapid immunochromatographic test for detectio antibodies of human immunodeficiency virus in Ghana, West Africa, J Clin Microbiol 2001;39:2572-5

**3 . ANNE LAPORTE, FLORENCE LOT**

Epidémiologie : situations actuelles et tendances IN : P.-M.GIRARD, Ch.KATLAMA, G.PIALOUX VIH EDITION 2001  
Doin; Paris; 55-58

**4 –BARRE S.**

Virologie fondamentale de l'infection à VIH tiré de GIRARD P .M ET AL- sida Edition Doin Paris 1998.

**5. BARRE-SINOUSSE F.**

HIV as the cause of AIDS.  
Lancet 1996 ; 348 :31-5

**6. BARRE-SINOUSSE F.**

Virologie fondamentale de l'infection VIH IN : P.-M.GIRARD, Ch.KATLAMA, G.PIALOUX VIH EDITION 2001  
Doin ; Paris; 3-19

**7. BRATTEGAARD K , KUADIO J , ADOM M-L , et al.** Rapid and simple screening and supplemental testing for HIV-1 and HIV-2 infection in west Africa.  
AIDS 1993, 7: 883-885

**8. BARIN F. ; DENIS F. ; BAILLOU A. ; LEONARD G. ; M'BOUK S. ; GERSHY-DAMET G M. ; SANGARE A. ; KANKI P. ; ESSEX M.**

A STLVIII related human retrovirus, HTLV-IV: analysis of cross reactivity with the human immunodeficiency virus.

J. Virol. Methods ; 1987, 17 :55-61

**9. BARON SAMUEL.**

Human Immunodeficiency Virus.

**MEDICAL MICROBIOLOGY 4<sup>th</sup> Edition In: [www.ncbi.nlm.nih.gov/books](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books)**

**10. BARNETT J, BHATIA R, BURKE N, CARBALLO M, CHAM H, ET al.**

Dépistage rapide du VIH aux point de service: question juridiques et éthiques, Bull Canadien VIH /SIDA et droit 1996 ; 3 (1) : 30 P.

**11. BOUBACAR T.**

Les atteintes rénales au cours de l'infection à VIH Thèse Méd. 2001

**12. BOURAMA T.**

Résultats épidémiologiques de l'utilisation de cinq techniques de dépistage du VIH au CNTS de Bamako. Thèse pharma. 2002 ; Bamako Mali

**13. BOYELDIEU D, THIAM D et DIAKHATE L.**

Sécurité transfusionnelle au Sénégal in SIDA alerte, mai 1995 ; 43 : 26-27

**14. BRANSON MS, CONSTANTINE NT, RAYFIELD M et al** rapid tests of HIV

Antibody. AIDS rev 2000 , 2 : 76-83

**15. CASSUTO J.P.**

SIDA et infection par le VIH

Abrégé 2<sup>nd</sup> ed 1996.

**16. CHABROLLE D. et AGUT H .**

Diagnostic biologique de l'infection VIH

M. ROSENHEIM et ITOUA – NGAPORO

SIDA- infection VIH , aspect en zone tropicale

CH1 – P36- 46

Edition Ellipses/Aupelf Paris 1989

**17. CHAMARET S.**

Encore un nouveau Retrovirus VIH-1 identifié.

Transcriptase sud 1999 ; 1 : 28-30

**18. CHAIBOU M.**

Le SIDA pédiatrique : à propos de 16 cas colligés dans le service de pédiatrie de l'hôpital Gabriel Touré de Bamako de mars 1989 à 1991.  
Thèse en médecine . Bamako- 1990

**19. COFFIN JM.**

\_Structure and classification of retroviruses.  
IN: Levy JA, Ed. The retroviridae, vol. 1. New York: Plenum, 1992:19-50

**20. COURBOT GEORGES MC.**

Seroprevalence of HIV is much higher in young women than in men in Central African.  
In *genitourin medecine* 1989; 65: 131-132

**21. DIALLO A A, DIOUM A.A., GUEYE-NDIAYE A. M. BOUP S.**

Performance de huit tests rapides: proposition d'algorithmes de diagnostic de l'infection à VIH au Sénégal. Laboratoire de bactériologie, virologie, hôpital Aristide Le Dantec, Dakar, Sénégal, 14 P.

**22. DELAPORTE L. , JONSSONS W. , PEETERS M . et al.**

Epidémiologie and molecular characteristics of HIV infection in GABON 1986- 1994.  
*AIDS Res. Hum Rétrovirus* 1996; 10 : 903- 10.

**23. DELLABETTA G. FIESL M.L. , LAGAM. , ISLA M M.**

La lutte contre les IST un fardeau mondial et un défi à la prévention  
*AIDSCAP/USAID* 1997 ; 15P

**24. DA COSTA GC, MORGADO M G, ALARY M, OELEMANN WM,**

LOWNDES CM et coll. Diagnostic detection of human immunodeficiency virus type 1 antibodies in urines: a Brazilian study *J Clin Microbiol* 2002; 40 (3): 881-5

**25. 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). *Méd. Trop* 2002 ; 62 : 507-10

**26. DAVACHI F., et AL.**

LAV/HTLVIII SEROPREVALENCE IN PEDIATRIC PATIENTS AT MAMA YEMO HOSPITAL, KINSHASSA AIDS, PARIS JUNE 1986 23-25.

**27. DE COCK K, ADJORLOLO G, EKPINI et AL**

Epidemiology and transmission of HIV-2. Why there is no HIV-2 pandemic.  
*JAMA* 1993 ; 270 :2083-6

**28. Dix questions sur le VIH**

In [www.sida-info-service.org](http://www.sida-info-service.org)

**29.FATOUMATA M T.**

Dépistage du VIH à partir de confetis de sang total sur papier filtre

Validation d'un algorithme utilisant des tests rapides .

Thèse Pharm.2004 ;Bamako ;Mali

**30. GABA D.J .P.M.**

Evaluation des performances de huit tests de dépistage du VIH utilisés au TOGO.

Thèse en pharma. FMPOS Bamako (Mali) ;16 ;95P

**31. Gallo RC.**

The first human retrovirus. Scientific American 1986; 255:88-98

IN: P.-M.GIRARD, Ch.KATLAMA, G.PIALOUX

VIH EDITION 2001

Doin ; Paris; 3-19

**32.GILLE Y. Structure du VIH selon in [www.google .fr/rubrique/ santé /sida](http://www.google.fr/rubrique/santé/sida)**

**33. GIRARD P M, Ch.KATLAMA, G.PIALOUX**

VIH EDITION 2001

Doin ; Paris 542 pages

**34. GLUMECK N, MASCART-LEMOINE F, DE MAUBEUGE J.**

Acquired immunodeficiency syndrome in black Africans

Lancet 1983; ii: 6

Doin; Paris 12-16

**35.KIMBA H.**

Enquête épidémiologique sur l'infection à VIH chez les donneurs de sang à Bamako

Thèse pharma. 1999 ;Bamako ; Mali



**36. KIEMTORE P.M.N.G**

Les anticorps antitoxoplasmiques chez les donneurs de sang et les malades atteints de SIDA à Bamako.

Thèse pharma. 1998 ;Bamako ; Mali

**37.KLLINE RL. ,DABA A. ,BLATTNER W. QUINN TC.** Diagnosis and Differentiation of HIV-1 and HIV-2 Infection by two rapid assays in Nigeria. *J Acquir Immune Defic Syndr* , 1994 ; 76 : 623 – 26 .

**38. KOBLAVI- DEME S , MAURICE C, YAVO D, SIBAILLY TS , WIKTOR ZS et al.** Sensibility and specificity of human immunodeficiency virus ,rapid serologic assays and tessting algorithms in antenatal clinic in Abidjan, Ivory coast . *J Clin Microbiol* 2001, 39 : 1808-12

**39. KOUROUMA K.**

La transfusion sanguine en Guinée( CNTS Guinée) en 1994. in *SIDA alerte* mai 1995 , 43 : 27-28.

**40. 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 projet Team. *Sex transm Dis* 1999; 26:590-82

**41. NKENGASONG J N, MAURICE C, KOBLAVI S, et al.** Evaluation of serial and parallel serologic testing algorithm in Abidjan , Ivory Cost. *AIDS* 1999; 13: 109-117.

**42.NOGUEIRA SA, LAMBERT JS , ALBUQUERQUE AL ,RADRIGUES 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;76:278-82.

**43. O.M.S Dépistage du VIH et d'autres agents infectieux**

In : Sécurité du sang et des produits sanguins, module2

**44.O.M.S. Recommandation ONUSIDA et O.M.S** relatives aux stratégies de dépistages du VIH, en fonction de l'objectif du test et de la prévalence de l'infection dans la population. *Rel Epid hebd*, 1997 ; 72 : 81-88

**45. ONUSIDA /Rapport sur l'épidémie mondiale de VIH/ SIDA – 2002**

**46.ONUSIDA/** Rapport sur l'épidémie du sida dans le monde.  
Genève Décembre 2003

**47.ONUSIDA/ OMS.** Rapport sur l'épidémie mondiale de l'infection à VIH SIDA . Genève  
(Suisse) Novembre 2002

**48. ONUSIDA**

Le point sur l'épidémie de SIDA.

Décembre 2003 in [www.unaids.org](http://www.unaids.org)

**49.ONUSIDA/ OMS :** Guide pour l'Organisation d'un système National  
Evaluation Externe de Qualité de l'analyse Sérologique du VIH Genève (Suisse) Janvier  
1996. 1211 Genève 27. Suisse.

**50. ONUSIDA** Méthodes de dépistage du VIH (Collections meilleures pratiques de l'ONU  
SIDA : actualisation 1997) , 16P.

**51. PAIR J P, CHADWICK M DL.**

The Biologic and clinical basis of infectious diseases, eds Shulman ST, Phair JP, Sommers  
HM. Philadelphia : WB Saunders, 1992 : 383.

**52.PALMER CJ. DUBON JM , KOENIG E, et al.** Field evaluation of Determine HIV1/2  
rapid human immunodeficiency virus diagnostic test in Honduras and the domican republic.  
*Journ of clinic Microb , (111999 ; 37): 3698-700.*

**53. POINT SUR LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DU VIH SIDA AU MALI**

Résultats du test VIH /SIDA de l'EDSM III

Déc 2001 CPS

**54. RAFFI F.**

La Lettre de l'Infectiologie, *Actualités sur le VIH – Mars 1999,*

**55. ROSENHEIM M.ET A.ITOUA NGAPORO**

SIDA et infection à VIH : Aspects en zone tropicale

Paris : Méd. tropicale, ed ELLIPSES, AUPELF

**56.SANGARE L, MEDAN**

Etude préliminaire sur l'activité d'un médicament à base de plante pour la prise en charge des sujets VIH positif.

Thèse de pharmacie 1999.

**57. SANGARE DAOUDA B**

Identification d'un algorithme de dépistage du VIH par test rapides utilisables dans les centres de dépistage et de conseil volontaire.

Thèse Pharm. Bamako ;Mali 2003

**58. Situation du VIH/SIDA au Mali.**

In : [www.santetropicale.com/actualites/1103/1103\\_10.htm](http://www.santetropicale.com/actualites/1103/1103_10.htm)

**59.STETLER HC , GRANADE TC , NUEZ CA, et al.** Field evaluation of rapid HIV –1 infection in Honduras. AIDS , 1997 ; 11 : 369 -375

**60. TCHALLA A. M**

Etude bibliographique sur l'infection au vih au Mali .point sur les études réalisées de 1983 à février 2003.

Thèse en Pharmacie . Bamako 2004

**61.TRAORE Y.**

Etude de la prévalence des MST/VIH et les facteurs de risque de l'infection par le VIH dans les 6 communes du district de Bamako à propos de 551 cas.

Thèse Méd. 1997 ; Bamako ; Mali.

**62.TRAORE S.**

Contribution à l'étude de la séroprévalence du SIDA chez les groupes à risque à Bamako

Thèse de Pharm. Bamako-1987

N :87-P-2

**63.WEBER B .**

Multicenter evaluation of the new automated Enzymum- test

Anti- HIV –1+2+Subtyp O. *Journ of clinic microb*, 1998; 36 (2): 580- 584.

**64. [www.HIV-sida.com](http://www.HIV-sida.com)**

**65. <http://documentation.Ledmed.org/IMG/html/doc-10797.html>**

**66. [http //www.pasteur.fr /actu/presse/dossier/sida/decouverte.htm](http://www.pasteur.fr/actu/presse/dossier/sida/decouverte.htm)**

**67. Aide Mémoire/ ONU/SIDA/OMS/ juillet 2002 (anonyme)**

**68. [http://anne.decoستر.free.fr/d1\\_viro/vretroVO.html](http://anne.decoستر.free.fr/d1_viro/vretroVO.html)**

**69. Anonymous: AIDS weekly surveillance report, AIDS-program CDC  
Atlanta, 1988**

**70. In : [www.yahoencyclopédie.fr/sida](http://www.yahoencyclopédie.fr/sida)**

## ANNEXES

### FICHE D'ENQUETE

CNTS /\_\_\_\_/

HNPG/\_\_\_\_/

#### I -Données socio -démographique

Nom \_\_\_\_\_

Prénom \_\_\_\_\_

Age \_\_\_\_\_

Sexe \_\_\_\_\_

Profession \_\_\_\_\_

Situation Matrimoniale \_\_\_\_\_

Niveau Scolaire \_\_\_\_\_

Type de don \_\_\_\_\_

II- Clinique                    1= oui

2= non

#### II- 1 Manifestations Majeurs

9.Amaigrissement/\_\_\_\_/

10.Fièvre /\_\_\_\_/

11.Diarrhées/\_\_\_\_/

#### II-2 Manifestations mineurs

12. Taux/\_\_\_\_/

13. Dermatite cutanée Prurigineuse/\_\_\_\_/

14. Adénopathie/\_\_\_\_/

15. Zona /\_\_\_\_/

16. Autres/\_\_\_\_/

17- Syndrome de Kaposi            /\_\_\_\_/

## II-3 Stades Cliniques

Avant traitement \_\_\_\_\_

Au moment de l'enquête \_\_\_\_\_

## III- Biologie

### Sang

	Positif	négatif	DO	HIV1	HIV2
ELISA	/___/	/___/	./___/	/___/	/___/
Tests rapides	/___/	/___/		/___/	/___/
Western Blot	/___/	./___/		/___/	/___/
Urine:ELISA	/___/	/___/	/___/	/___/	/___/

## **FICHE SIGNALITIQUE**

**Nom:**OUEDRAOGO

**Prénom :**HAGUIRATOU WENDLASSIDA

**Titre :**Performance de 7 tests de dépistage du VIH utilisés au CNTS de Bamako

**Année Universitaire :**2003-2004

**Ville de soutenance :**Bamako

**Pays d'origine :**Burkina Faso

**Lieu de dépôt :**Bibliothèque de la faculté de médecine de pharmacie et  
d'odonto- stomatologie

**Secteur d'intérêt :**Transfusion sanguine ,virologie, santé publique

## RESUME

De nos jours compte tenu de la variabilité du VIH et de la multiplicité des tests de dépistages du VIH nous avons évalué 7 tests dans le but de déterminer ceux qui sont adaptés à nos contextes socio –économiques .

Cette étude s'est proposée d'évaluer les performances de 7 kits commerciaux de diagnostics de l'infection à VIH.

Il s'agissait d'une enquête prospective transversale comparant 7 kits de dépistage chez les donneurs de sang et les malades du service des maladies infectieuses de l'hôpital du Point G. Elle a porté sur un total de 242 sérums provenant de 161 donneurs de sang du CNTS, 81 malades hospitalisés et 81 urines provenant de ces mêmes malades et 57 urines provenant de donneurs de sang .Le western Blot de Bio Rad a été le test référence.

En tenant compte de la stratégie de l'OMS et de l'ONUSIDA de 1997 , de la praticabilité et du coût des tests nous retenons en définitif les tests suivants :

- Chez les donneurs de sang ,GENSCEERN V2 et I MMUNOCOMB II HIVV1/2
- Chez les malades présentant des signes cliniques évocateurs du SIDA.  
GENSCREEN V2 et GENIE II HIV1/2
- Dans la population générale où le taux de prévalence est de 1,7%: le test  
GENSCREEN V2 en première intention et le test semi-rapide IMMUNO COMB II  
HIV1/2 en deuxième intention pour la confirmation des résultats.
- Dans la population à risque ou la séroprévalence est supérieur à 10% le test  
GENSCREEN V2
- Nous ne recommandons pas le test des urines ni chez les donneurs de sang ni chez les patients.

**MOTS CLES :** Evaluation – Performance – tests dépistage