

Ministère de l'Education Nationale

Université du Mali

République du Mali
Un Peuple – Un But – Une Foi

Faculté de Médecine, de Pharmacie
et d'Odontostomatologie

Année universitaire : 2001 – 2002

Thèse N° 27...

**Résultats épidémiologiques de l'utilisation de cinq
techniques de dépistage du VIH au CNTS de
Bamako.**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le -----2002 devant la

Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie

par **M^R TRAORE Bourama**

pour l'obtention du grade de **Docteur en Pharmacie**

(Diplôme d'Etat)

JURY

Président du Jury :

Professeur Amadou DIALLO

Membres :

Professeur Flabou BOUGOUDOGO

Docteur Ibrahima MAIGA

Directeur de Thèse :

Professeur Anatole TOUNKARA

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2001 - 2002

ADMINISTRATION

DOYEN : MOUSSA TRAORE - PROFESSEUR
1^{ER} ASSESSEUR : MASSA SANOGO - MAITRE DE CONFERENCES
2^{EME} ASSESSEUR : GANGALY DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - MAITRE DE CONFERENCES AGREGE
AGENT COMPTABLE : YEHIHA HIMINE MAIGA - CONTROLEUR DE TRESOR

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophtalmologie
Mr Bocar SALL	Orthopédie Traumatologie - Secourisme
Mr Souleymane SANGARE	Pneumo-phtisiologie
Mr Yaya FOFANA	Hématologie
Mr Mamadou L. TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Balla COULIBALY	Pédiatrie
Mr Mamadou DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Mamadou KOUMARE	Pharmacognosie
Mr Mohamed TOURE	Pédiatrie
Mr Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie

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

D.E.R. CHIRURGIE ET SPECIALITES CHIRURGICALES

1. PROFESSEURS

Mr Abdel Karim KOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie, Chef de D.E.R.
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Amadou DOLO	Gynéco-Obstétrique
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mme SY Aïssata SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Sadio YENA	Chirurgie Générale
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale

5. ASSISTANTS CHEF DE CLINIQUE

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophtalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie. Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophtalmologie
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale
Mr Adama SANGARE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie - Réanimation
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mr Sanoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie
Mr Issa DIARRA	Gynéco-obstétrique
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO	Chimie Générale & Minérale
Mr Bréhima KOUMARE	Bactériologie-Virologie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Gaoussou KANOUTE	Chimie analytique
Mr Yéya T. TOURE	Biologie
Mr Amadou DIALLO	Biologie
Mr Moussa HARAMA	Chimie Organique
Mr Ogobara DOUMBO	Parasitologie – Mycologie Chef de D.E.R.

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Yénimégué Albert DEMBELE	Chimie Organique
Mr Anatole TOUNKARA	Immunologie
Mr Amadou TOURE	Histoembryologie
Mr. Fiabou Bougoudogo	Bactériologie-Virologie

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bakary M. CISSE	Biochimie
Mr Abdrahamane S. MAIGA	Parasitologie
Mr Adama DIARRA	Physiologie
Mr Mamadou KONE	Physiologie
Mr.Massa SANOGO	Chimie Analytique

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Mahamadou CISSE	Biologie
Mr Sékou F.M. TRAORE	Entomologie médicale
Mr Abdoulaye DABO	Malacologie, Biologie Animale
Mr Abdrahamane TOUNKARA	Biochimie
Mr Ibrahim I. MAIGA	Bactériologie - Virologie
Mr Benoît KOUMARE	Chimie Analytique
Mr Moussa Issa DIARRA	Biophysique
Mr Amagana DOLO	Parasitologie
Mr Kaourou DOUCOURE	Biologie

5. ASSISTANTS

Mr Mounirou BABY
Mr Mahamadou A. THERA

Hématologie
Parasitologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

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

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

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

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

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

3. MAITRES ASSISTANTS

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

Médecine Interne
Radiologie
Pédiatrie
Pneumo-Phtisiologie
Pédiatrie
Radiologie
Radiologie
Endocrinologie

4. ASSISTANTS CHEFS DE CLINIQUE

Mr Bou DIAKITE
Mr Bougouzié SANOGO
Mr Saharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY
Mr Kassoum SANOGO
Mr Seydou DIAKITE
Mme Habibatou DIAWARA
Mr Mamadou B. CISSE
Mr Arouna TOGORA

Psychiatrie
Gastro-entérologie
Néphrologie
Psychiatrie
Cardiologie
Cardiologie
Dermatologie
Pédiatrie
Psychiatrie

5. ASSISTANT

Mr Cheick Oumar GUINTO

Neurologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEUR

Mr Boubacar Sidiki CISSE Toxicologie

2. MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Mr Arouna KEITA † Matière Médicale
Mr Ousmane DOUMBIA Pharmacie Chimique

3. MAITRES DE CONFERENCES

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

4. MAITRES ASSISTANTS

Mr Drissa DIALLO Matières Médicales
Mr Alou KEITA Galénique
Mr Ababacar I. MAIGA Toxicologie
Mr Yaya KANE Galénique

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. PROFESSEUR

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

2. MAITRE DE CONFERENCES AGREGE

Mr Moussa A. MAIGA Santé Publique

3. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sanoussi KONATE Santé Publique

4. MAITRES ASSISTANTS

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

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA	Botanique
Mr Boubou DIARRA	Bactériologie
Mr Salikou SANOGO	Physique
Mr Bokary Y. SACKO	Biochimie
Mr Boubacar KANTE	Galénique
Mr Souleymane GUINDO	Gestion
Mme DEMBELE Sira DIARRA	Mathématiques
Mr Modibo DIARRA	Nutrition
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA	Hygiène du Milieu
Mr Arouna COULIBALY	Mathématiques
Mr Mahamadou TRAORE	Génétique
Mr Souleymane COULIBALY	Psychologie Médicale
Mr Yaya COULIBALY	Législation

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA	BROMATOLOGIE
Pr. Babacar FAYE	PHARMACODYNAMIE
Pr. Eric PICHARD	PATHOLOGIE INFECTIEUSE
Pr. Mounirou CISS	HYDROLOGIE
Pr. Amadou Papa DIOP	BIOCHIMIE

DEDICACES

Je dédie cette thèse :

❖ **A toutes les victimes et orphelins du SIDA.**

❖ **A mon père feu Bakary Nanko TRAORE**

Cher père, la réalisation de ce modeste travail est le fruit de l'effort que vous avez consenti pour mon éducation. Votre souci premier a été toujours la réussite de vos enfants. Je ne cesserai jamais de prier pour le repos de votre âme.

Dors en paix cher père.

❖ **A ma mère Flamo Kadidia SAMAKE et à ma grande sœur M^{me} Sacko Maïmouna TRAORE.**

Je me souviendrai toujours de l'amour que vous me portez depuis mon enfance. Votre soutien ne m'a fait défaut à aucun moment de ma vie.

Que Dieu vous garde longtemps parmi nous.

❖ **A Mastan CAMARA**

Sans même peut être le savoir, tu as été un personnage important dans la réalisation de ce travail. Ta bonne compréhension et ton sens de l'amour m'ont été d'un apport inestimable. Que Dieu renforce et bénisse notre union.

REMERCIEMENTS

❖ A mes camarades Thésards notamment : Ibrahima TRAORE dit IB, Mamadou Yaya SARRO, Oumou TRAORE, Karim TEMBELY, Ghislain NOUMSI et Younoussa SIDIBE.

Je n'oublierai pas les moments merveilleux que nous avons passés ensemble au CNTS, je vous remercie de votre collaboration.

❖ A mes amis et frères: Bourama DEMBELE, Kassim TRAORE, Abdoulaye DIAKITE, Bourama DOUMBIA, Moussa DOUMBIA, Soumaïla CAMARA et Yaya DIARRA.

Que Dieu nous guide et renforce notre amitié.

❖ A Faraba Moïse DOUMBIA :

Cher ami, ce travail est le tien, je n'oublierai jamais les moments de souffrances et de joie que nous avons passés ensemble. Puisse Dieu renforcer d'avantage notre amitié et nous réserver un avenir radieux.

❖ A tout le corps professoral de la FMPOS.

❖ A tout le personnel de la bibliothèque notamment Sekou KINDE pour les recherches bibliographiques.

❖ Au D^R Bourema KOURIBA :

Je me souviendrai toujours des sacrifices que vous avez consentis pour la réussite de ce travail ; vous avez toujours mis vos connaissances scientifiques au service des étudiants. Votre disponibilité n'a fait défaut à aucun moment. Recevez, l'expression de ma profonde reconnaissance.

❖ A tout le personnel du CNTS pour leur franche collaboration

❖ A Sekou Zanfing TRAORE :

Tout au long de mes études, je me suis rendu compte de vos grandes qualités humaines, vous avez été exemplaire. Je vous serai toujours reconnaissant.

Que Dieu vous donne une longue et heureuse vie.

❖ Au D^R Boubacar HAIDARA et famille ainsi qu'à tout le personnel de la Pharmacie «DANAYA».

❖ Au D^R DIARRA Mariam Dao et à tout le personnel de la Pharmacie «Daoudabougou Marché ».

❖ Au DR ADAM IDRISSE ainsi qu'à sa femme Amsetou.

Cher ami, les moments que nous avons passés ensemble à la FMPOS resteront un grand souvenir pour moi. Que Dieu nous guide dans la vie.

❖ A mes amis : Lassine SAMAKE, Tidiany NIMAGA, Bakary NIMAGA, Mahamoud Tambadou, Mahamadou DRAME.

❖ A tous mes frères, sœurs et belles-sœurs ; qu'ils reçoivent ici toute ma sympathie.

❖ Aux familles A/C Daouda TRAORE, Adjudant Bourama TRAORE, Bakary Djessé TRAORE, Sekou COULIBALY, DR Adama KONE, Chaka BOUARE, Hamidou SANGARA, Alpha GUINDO, Diakaridia KONATE.

- **A notre Maître et Président du jury**

Monsieur le professeur Amadou DIALLO

Professeur de Biologie à la FMPOS

Vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations ; Nous avons admiré vos qualités humaines et scientifiques et votre simplicité. Nous avons suivi avec beaucoup d'intérêt et plaisir vos cours de Zoologie et de biologie animale.

Veillez accepter cher Président, l'expression de notre profonde reconnaissance et sincère remerciement.

- **A notre Maître et juge**

Monsieur le Professeur Flabou BOUGOUDOGO

Maître de conférence agrégé de Bacteriologie-Virologie à la FMPOS

Nous sommes très honorés par votre présence parmi nos juges. Vos connaissances scientifiques, votre disponibilité et vos qualités humaines font de vous un Maître écouté et respecté de tous.

Veillez trouver ici cher Maître, l'expression de notre profonde reconnaissance et sincère remerciement.

- **A notre Maître et juge**

Monsieur le Docteur Ibrahima MAIGA

Maître Assistant de Bacteriologie-Virologie à la FMPOS

Chef de service du laboratoire de biologie médicale de l'Hôpital National du Point G.

L'intérêt que vous portez à vos étudiants et la clarté de votre enseignement forcent notre admiration. Nous avons pu bénéficier de votre disponibilité et de vos conseils dans la réalisation de ce travail.

Recevez cher Maître, toute notre gratitude et soyez rassuré de notre profond respect.

• **A notre Maître et Directeur de thèse**

Monsieur le professeur Anatole TOUNKARA

Maître de conférence agrégé d'immunologie à la FMPOS

Directeur du CNTS

C'est un grand honneur que vous nous avez fait en nous confiant ce travail. Nous avons apprécié pendant notre séjour au CNTS vos immenses qualités scientifiques et humaines. Nous avons beaucoup admiré votre rigueur dans le travail, votre modestie et votre honnêteté.

Soyez assuré cher Maître de notre profonde gratitude, de notre respect et de notre attachement à vos enseignements.

ABREVIATIONS

Ac : Anticorps.

ADBS : Association des Donneurs Bénévoles de Sang.

ADN : Acide Désoxyribonucléique.

Ag : Antigène.

ARN : Acide Ribonucléique .

CDC: "Center of disease Control".

CNTS: Centre National de Transfusion Sanguine.

DER : Département d'Etude et de Recherche.

ELISA : "Enzyme Linked Immunosorbent Assay".

Env: Enveloppe.

Fig: Figure.

FMPOS: Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.

Gag : Group Antigen.

GP: Glycoprotéine.

HTLV: "Human T-Leukemia Virus".

IFI: Immunofluorescence Indirecte.

IgG : Immunoglobuline G.

IgM: Immunoglobuline M.

INRSP: Institut National de Recherche en Santé Publique.

IST : Infection Sexuellement Transmissible.

Kd : Kilodalton.

LAV : "Lymphadenopathy Associated Virus".

LTR: Long Terminal Repeat.

ml: Millilitre.

nm: Nanomètre.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

ONUSIDA : Organisation des Nations Unies pour le SIDA.

P : Protéine.

PCR : Réaction en chaîne de la polymerase.

PHA : Phytohemagglutinine.

PNLS : Programme National de Lutte contre le SIDA.

Pol : Polymerase.

P- RM : Présidence de la République du Mali.

RIPA : Radio Immunoprecipitation Assay.

SIDA : Syndrome d'Immunodéficience Acquise.

SIV : "Simian Immunodeficiency Virus".

Taq: Thermophilus aquaticus.

UR: Unité Régionale.

UV : Ultra Violet.

VIH : Virus de l'Immunodéficience Humaine.

VPP : Valeur Prédictive Positive.

VPN : Valeur Prédictive Négative.

μl : Microlitre.

SOMMAIRE

	Pages
I. Introduction :.....	1
II. Objectif :.....	3
II.1- Objectif général :.....	3
II.2- Objectifs spécifiques :.....	3
III. Généralités :.....	4
III.1- Historique :.....	4
III.2- Description du VIH :.....	6
III.2.1- Définition :.....	6
III.2.2- Structure :.....	6
III.2.3- Cycle de réplication :.....	13
III.2.4- Mécanisme d'action du virus :.....	17
III.2.5- Variabilité du VIH :.....	18
III.2.6- Mode de transmission :.....	20
III.3- Diagnostic biologique :.....	21
III.3.1- Diagnostic indirect :.....	21
III.3.2- Diagnostic direct :.....	25
III.4- Epidémiologie :.....	27
IV. Matériels et Méthodes :.....	29
IV.1- Lieu d'étude :.....	29
IV.2- Type d'étude :.....	31
IV.3- Population d'étude :.....	31
IV.4- Méthodes d'étude :.....	32
IV.5- Analyses des données :.....	55
V. Résultats :.....	57
V.1- Résultats globaux :.....	57
V.2- Comparaison des techniques :.....	62

VI. Commentaires et Discussion :.....	66
VI.1- Résultats globaux :.....	66
VI.2- Comparaison des techniques :.....	70
VII. Conclusion et Recommandations :.....	72
VIII. Bibliographie :.....	74

I. INTRODUCTION

Le Syndrome d'Immunodéficience Acquise (SIDA) est causé par des virus qui appartiennent à la famille des Retroviridae et au genre *Lentivirus*, caractérisés par une plus grande variabilité de leur matériel génétique. Les infections dues aux virus de l'immunodéficience humaine (VIH) constituent de nos jours un problème mondial de santé publique et leurs conséquences socio-économiques sont des plus préoccupantes. L'OMS et le programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA [39] ont publié en 1999, qu'environ 33,6 millions d'individus vivaient avec le VIH/SIDA (2,6 millions de personnes ont été infectés au cours de la seule année 1999).

Le nombre de décès attribuable au VIH/SIDA était de 20 millions à la fin de l'année 2001.

Le taux d'infection augmente dans la plupart des pays d'Asie du Sud-Est (sauf l'Indonésie, le Laos et les Philippines), d'Europe Orientale, d'Afrique Australe, d'Amérique Latine, des Caraïbes et de l'ex-Union Soviétique. Les prévalences les plus élevées sont observées chez les usagers de drogue par injection et les personnes ayant des comportements à risque (homosexuels, prostitués). Par contre en Europe Occidentale, les prévalences sont moins élevées que les pays ci dessus cités probablement grâce à l'utilisation massive des médicaments antirétroviraux. Presque 70% des cas mondiaux se retrouvent en Afrique Subsaharienne [39] et tous les sous types viraux du VIH1 y sont rencontrés.

Au Mali, la prévalence du VIH est de 1,7% avec une prédominance du VIH1 sur le VIH2 (EDS III). On rencontre les sous types A, C, D, G du VIH1 [41].

Le diagnostique de l'infection à VIH est un élément essentiel de la lutte contre cette pandémie. C'est pourquoi des efforts considérables ont permis de mettre point de nombreux tests de dépistage de l'infection à VIH. Cependant ces tests de dépistage présentent des valeurs diagnostiques variables [12, 62] et le choix du test le plus adapté est difficile.

Le Centre National de Transfusion Sanguine est un poste fixe de surveillance épidémiologique du SIDA car il reçoit environ 12000 donneurs volontaires par an chez qui le dépistage systématique du VIH est effectué. La garantie d'une sécurité infectieuse des transfusions de sang exige l'utilisation d'un test de dépistage fiable. C'est pourquoi nous avons décidé d'évaluer les valeurs diagnostiques des différents tests de dépistage disponibles au Mali

II. OBJECTIFS

II.1- OBJECTIF GENERAL

Donner la situation épidémiologique de l'infection par le VIH dans la population des donneurs de sang à Bamako.

II.2- OBJECTIFS SPECIFIQUES

- Mettre au point la technique du Western Blot au CNTS de Bamako.
 - Déterminer la prévalence de l'infection à VIH par la technique du Genelavia Mixt[®] chez les donneurs de sang.
 - Comparer les résultats du Western Blot des donneurs de sang à ceux de malades hospitalisés.
 - Comparer les valeurs diagnostiques du Genscreen[®] version2, de l'Ortho Clinical Diagnostic[®], de l'ImmunoComb II[®] par rapport au Western Blot.
-

III. GENERALITES

III.1- HISTORIQUE

Les rétrovirus sont des pathogènes connus de longue date chez l'animal ; il était donc naturel de leur chercher des homologues humains [32].

Pendant plus de 20 ans tous les progrès théoriques et techniques de la rétrovirologie ont été immédiatement appliqués à cette tâche.

La découverte du « Human T-cell Leukemia Virus » (HTLV maintenant HTLV1) chez des malades atteints de leucémies T ou d'un lymphome cutané est le fruit de recherches menées indépendamment aux Etats-Unis et au Japon [26, 32]. A la fin des années 1970 avaient été décrites au Japon de nouvelles formes de leucémies et lymphomes à cellule T de l'adulte, dont les caractéristiques épidémiologiques étaient évocatrices d'une origine infectieuse. Ce virus fut désigné ATLTV pour « Adult T-cell Leukemia Virus », mais une fois son identité avec l'isolat Américain établie, seule la terminologie HTLV1 a été conservée.

Ce virus a été surtout retrouvé au Japon, ainsi que dans les Caraïbes et en Afrique Centrale.

Un deuxième virus distinct antigéniquement (HTLV2), est plus rare et n'a pas encore été associé de façon certaine à un type de pathologie.

Les premiers rétrovirus humains (HTLV1 et HTLV2) avaient un tropisme pour les lymphocytes T, et en particulier leur sous- population T4.

En même temps que la recherche d'un HTLV comme agent causal du SIDA se développe en Outre-Atlantique, Luc Montagnier et coll, reprenant l'idée d'une étiologie virale isolaient des rétrovirus humains apparemment d'un nouveau type.

Ce premier isolat sera par la suite désigné LAV ou LAV1 pour « Lymphadenopathy Associated Virus ». Il avait en effet été observé chez un malade atteint d'un syndrome de lymphadenopathies.

En 1984 plusieurs équipes américaines en collaboration avec le groupe de Luc Montagnier ou indépendantes ont confirmé et développé ces résultats.

Les isolats obtenus furent désignés également LAV, mais aussi HTLVIII ou AAV pour « AIDS Associated Virus ».

L'emploi de LAV avait une justification historique puisqu'il se referait au premiers isolats obtenus mais ne faisait pas mention de la maladie Sida.

Gallo et col ont voulu rattacher ce virus à HTLVI et II et ont utilisé la terminologie HTLVIII pour « Human T- lymphotropic Virus type III ».

L'analyse moléculaire des génomes clonés a finalement confirmé l'appartenance du virus du Sida à un groupe rétroviral bien distinct de celui des HTLV ; la terminologie HTLV était alors inacceptable [32].

En 1986 ces problèmes de nomenclature ont trouvé leur épilogue avec l'adoption de la terminologie VIH pour Virus de l'Immunodéficience Humaine pour remplacer AAV, LAV et HTLVIII.

Le groupe de Luc Montagnier avait également observé des profils sérologiques anormaux chez deux patients atteints de Sida et originaires d'Afrique de l'ouest (Guinée Bissau) et pu obtenir les deux premiers isolats authentiques de nouveau type de rétrovirus humains, désigné LAVII, et VIH2 après l'adoption de cette terminologie. Les VIH précédemment caractérisés en Europe, Amérique et Afrique Occidentale et Orientale sont donc maintenant désignés VIH1.

Il a été également confirmé la proche parenté de VIH-2 avec SIV, ce qui peut expliquer la facilité avec laquelle ces virus ont pu être confondus.

De nombreux isolats de VIH2 ont été obtenus en général en Afrique Occidentale mais aussi chez quelques Européens y ayant résidé.

Le VIH1 caractérisé par une importante diversité génétique est divisé en trois groupes M, N et O. Le groupe M, qui regroupe les principaux virus responsables de l'épidémie mondiale du SIDA, est composé de dix sous-types génétiquement différents (A à J) avec une répartition géographique très hétérogène, et une diversification considérable en Afrique [59].

III.2- DESCRIPTION DU VIH

III.2.1- Définition

Les virus de l'immunodéficience humaine appartiennent à la sous-famille des lentivirus et à la famille des rétrovirus (c'est-à-dire les virus possédant une transcriptase inverse)[1].

Ce sont des virus enveloppés de 80 à 120 nm de diamètre.

De forme sphérique, l'enveloppe faite d'une couche lipidique et surmontée de spicules entoure la nucléocapside qui contient et la transcriptase inverse et l'ARN viral [26].

III.2.2- Structure (Fig.1)

Le noyau viral est entouré d'une coquille protéique de forme conique, appelée P24, qui est la protéine centrale majeure et paraît identique pour le VIH-1 et le VIH-2. L'ensemble constitue la capside.

Cette capside est elle-même recouverte par deux enveloppes ; la première est une coquille protéique appelée P17. On trouve ensuite une bicouche lipidique traversée par des protéines transmembranaires ; ce sont les GP41 attachées à la matrice P17 et aux GP120. Ces dernières font saillie à la surface de la particule virale.

Ce sont ces saillies et ces protéines d'enveloppe qui différencient le VIH-1 du VIH-2. Les protéines d'enveloppe du VIH-1 sont les GP120 et GP41 tandis que celles du VIH-2 sont les GP110/130 et GP36.

Les anticorps dirigés contre ces protéines d'enveloppe spécifiques ne donnent pas lieu à des réactions croisées.

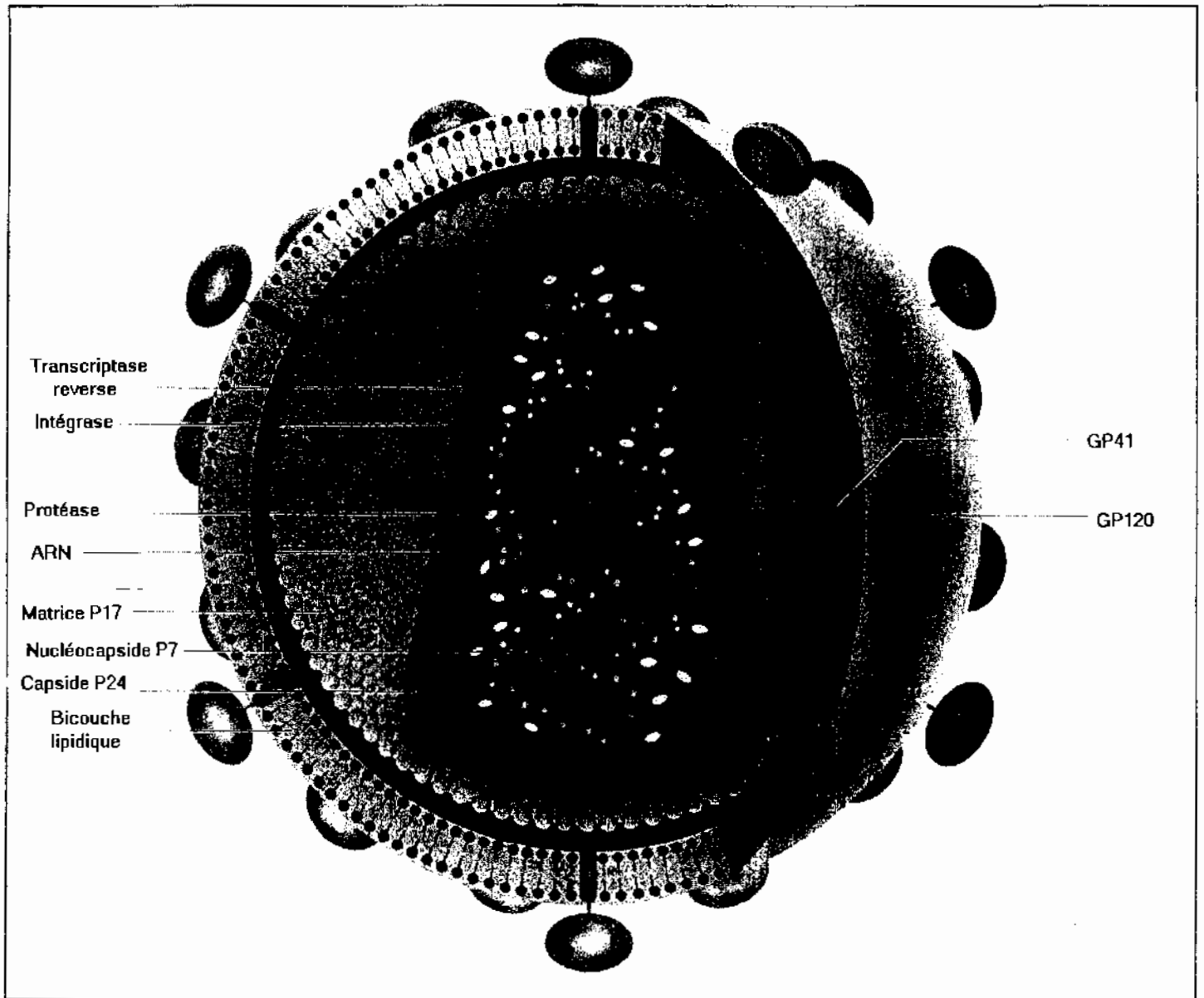


Fig I : Schéma du Virus de l'Immunodéficience Humaine (adapté de Scientific American 1993, 269 : 98-105)

Le génome du VIH comprend trois gènes majeurs (gag, env, pol) codant pour les protéines de l'enveloppe et du noyau et d'autres gènes intervenant dans la régulation de la production des protéines virales [19].

a- Gène gag (group antigen). Il code pour une polyprotéine précurseur de 55 Kd. Cette dernière est par la suite clivée par une protéase virale en trois protéines consécutives qui forment la nucléocapside. Ce sont :

- **P17/P18** : nucléocapside N- terminale
- **P24/P25** : protéine majeure
- **P13/P15** : nucléocapside C- terminale

Ces protéines sont très conservées d'une souche à l'autre. Il existe une homologie non négligeable (58%) entre les protéines gag du VIH-1 et celle du VIH-2. Ce-ci explique les réactions sérologiques croisées observées lors de la détection des anticorps dirigés contre les protéines internes de ces deux virus [2, 54].

b- Gène pol (polymérase). Ce gène code pour trois protéines dont chacune possède une activité enzymatique. Ce sont :

- **Une Protéase** : protéine de 12000 daltons. Intervient dans la phase de maturation du virion. Coupe le précurseur polyprotéique gag-pol ainsi que toutes les protéines intermédiaires pendant la maturation [2, 54].
- **Une transcriptase inverse** : c'est une protéine enzymatique constituée de deux sous-unités (66000 daltons et 51000 daltons) [14].

Elle est responsable de la retrotranscription. C'est une ADN polymérase ADN dépendante qui copie l'ARN viral en un ADN complémentaire.

- **Une endonucléase ou intégrase** : c'est une protéine de 34000 daltons [45] qui intervient dans l'intégration de l'ADN viral dans le génome de la cellule hôte [54, 65].

c- Gène env (enveloppe). Il code pour la glycoprotéine de 160Kd (environ 850 acides aminés) qui est un précurseur des glycoprotéines gp120 et gp41 [2, 54].

Le gène env est celui qui présente le maximum de variabilité notamment au niveau de la gp120 ; le taux de variation pouvant atteindre 50% entre différentes souches du VIH-1[34]. En plus la variabilité n'est pas répartie de façon homogène au niveau de la gp120 ; il existe des régions hypervariables espacées par des séquences relativement plus conservées [35]. La gp120 est responsable en partie des propriétés cytopathogènes du virus. C'est grâce à sa glycoprotéine externe que le virus se fixe sur la molécule CD4 de la cellule cible [2, 35].

d- Gènes de régulation. Ils s'expriment au moment de la réplication intracellulaire du virus en codant pour les protéines qui vont moduler la multiplication virale. Ce sont les gènes Tat, Rev, Nef, Vif présents chez VIH-1 et VIH-2. Deux autres gènes Vpu et Vpx sont présents respectivement chez VIH-1 et VIH-2 [2, 14]. Chaque gène régulateur code pour une protéine qui interagit spécifiquement avec une courte séquence nucléotidique du génome. Les protéines de régulation agissent selon le mode trans c'est-à-dire à distance tandis que leurs cibles agissent en cis sur des gènes adjacents et commandent soit la prolifération du virus, soit une multiplication régulière et modérée soit enfin la latence.

- **Gène Tat (Trans-activateur)** code pour une protéine de 14000 daltons indispensable à la réplication virale. En effet des virus mutés dans le gène Tat sont incapables de se répliquer [2, 14, 65]. La protéine Tat favorise l'expression du provirus intégré et agit à 2 niveaux.

Au niveau de la transcription, elle se fixe sur la LTR (Long Terminal Repeat) au niveau d'une région dénommée TAR (Transcription Activation Region) et active la transcription de l'ADN proviral en ARN.

Après la transcription, elle se fixe à l'extrémité 5' des ARN messagers viraux. Cette fixation est indispensable pour une traduction efficace des ARN messagers en protéines[2]. En effet l'extrémité 5' des ARN viraux présente une boucle qui inhibe leur traduction en protéine, mais la fixation de la protéine Tat sur la boucle lève cette inhibition [65]. Le gène Tat permet une augmentation du taux d'ARN viraux traduisibles dans la cellule infectée.

- **Gène Rev (Regulator of virion protein)** : c'est un gène constitué de deux hexons codants éloignés[14]. Il code pour une protéine de 19000daltons qui à une localisation nucléaire. En absence de celle-ci le virus ne peut synthétiser que des protéines de régulation mais pas de protéines de structure.

- **Gène Vif (Virion infectivity factor)** : ce gène code pour une protéine de 23000daltons et permet d'augmenter l'infectivité du virus [2, 43, 54]. Les virus dont ce gène est muté sont toujours capables de se multiplier mais ne peuvent plus infecter des lymphocytes par contact de type virus-cellule, par contre l'infectivité cellule saines à partir de cellules infectées est possible [2, 54].

- **Gène Nef (Negative factor)** : ce gène code pour une protéine de 27000daltons qui est myristillée. Il s'agit d'un gène de régulation négative. Si le virus est muté dans ce gène Nef, il se réplique plus vite et mieux. La protéine Nef ralentie l'expansion virale en interagissant probablement grâce à un intermédiaire avec une région de la LTR virale dénommée NRE (Negative

Regulator Element) [2]. Il est donc responsable de la latence caractérisée par une absence de la réplication virale.

- **Gène Vpu** : ce gène n'est présent que dans le génome du VIH-1. Les virus mutés à ce gène perdent la propriété d'assemblage au moment du bourgeonnement à la fin du cycle viral. Des cellules infectées par ces mutants présentent une forte accumulation des protéines virales intracellulaires sans production virale [54].

- **Gènes Vpr, Vpu, Vpx** : le rôle joué par les protéines codées pour ces gènes est encore mal connu.

L'organisation génomique du VIH-2 est la même que celle du VIH-1 mais constituée d'un génome plus long (9671 nucléotides pour le VIH-2 contre 9200 nucleotides pour le VIH-1).

Le VIH dispose aussi d'un système de régulation génétique qui trompe la surveillance immunitaire, parfois il se réplique lentement et perturbe les commandes génétiques des cellules infectées ; parfois il se multiplie à un rythme tel qu'il détruit les cellules. La configuration de sa protéine d'enveloppe et sa variabilité en font une cible contre laquelle le système immunitaire est désarmé [55].

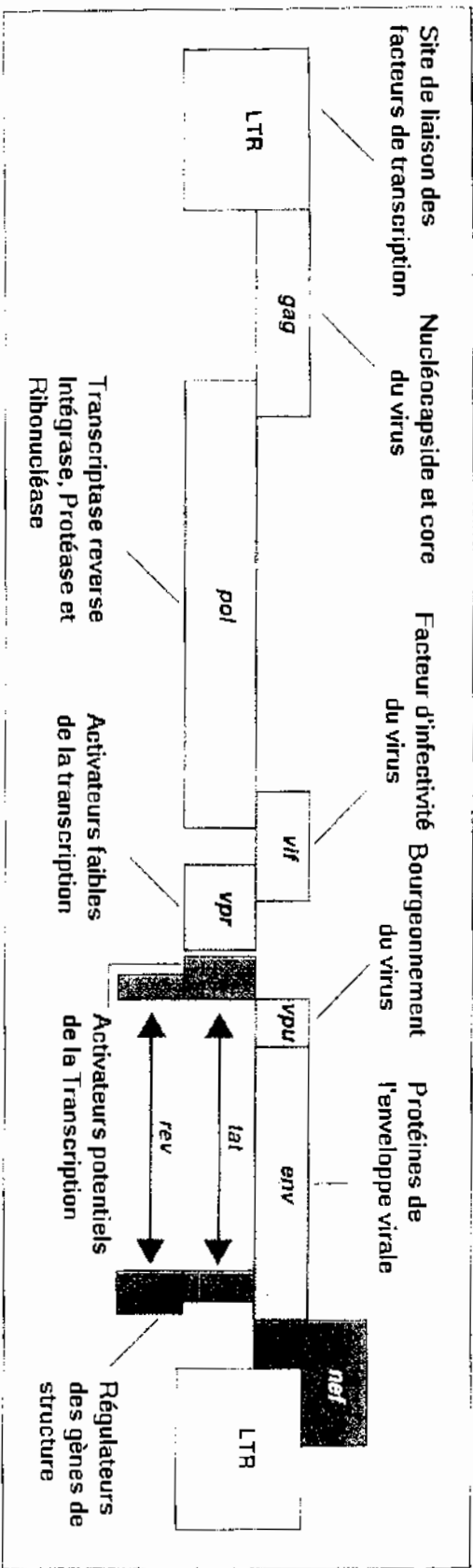


Fig II : Structure du génome du Virus de l'Immuno-déficience Humaine (adapté de 2nd Edition 1994 Cellular and Molecular Immunology A.K. Abbas ; A. Lichtman ; J. Pober.).

III.2.3- Cycle de réplication du VIH [26, 32] (fig.3)

Les principales étapes s'y déroulent selon les mêmes principes de base : l'ARN viral est transcrit en ADN (retrotranscription) ; cet ADN est intégré à l'ADN cellulaire (intégration) ; là, il va s'exprimer c'est-à-dire commander la synthèse de tous les éléments nécessaires à la production d'un nouveau virus (expression) ; une fois synthétisés, ces particules seront réarrangées avant de s'assembler en une nouvelle particule virale (assemblage) ; celle-ci libérée sera capable d'infecter une autre cellule et de s'y répliquer .

a- Fixation. Le VIH reconnaît sa future cellule hôte par l'intermédiaire d'un récepteur spécifique, la molécule CD4. Cette molécule localisée à la surface de la cellule, n'a évidemment pas le seul rôle de permettre l'entrée du virus dans la cellule hôte. Elle est présente sur certains lymphocytes , les lymphocytes T4 et constitue un accessoire essentiel de la réponse immunitaire.

L'association virus-CD4 est réalisée par la glycoprotéine d'enveloppe. Cette interaction est extrêmement spécifique et forte.

Située à la surface du virus, la glycoprotéine d'enveloppe est une grosse protéine complexe. Elle est composée de deux molécules associées. La plus externe, la GP120, est celle qui reconnaît CD4 ; la portion interne, la GP41 sert d'encrage à la glycoprotéine d'enveloppe à la surface du virus.

La pénétration se fait par fusion directe entre la membrane virale et la membrane plasmique et libération du core dans le cytoplasme.

b- Retrotranscription. C'est la synthèse de l'ADN viral. Comme celui de tous les rétrovirus, le matériel génétique du VIH est formé d'ARN.

Pour qu'il puisse s'exprimer au sein du matériel génétique de la cellule hôte, constitué lui d'ADN, il faut donc qu'il soit d'abord transcrit en ADN (c'est-à-dire rétrotranscrit).

La retrotranscription de l'ARN (simple brin) en ADN (double brin) est une phase essentielle de la réplication du virus et se fait grâce à la transcriptase inverse. Au terme du processus, deux séquences identiques viennent se placer aux extrémités de l'ADN produit : ce sont les LTR (Long Terminal Repeat).

c- Intégration. Elle s'effectue dans le génome de la cellule infectée et fait intervenir une autre enzyme codée par le virus : l'intégrase.

L'intégrase est le facteur protéique nécessaire à la réaction d'intégration. Une fois intégrés au génome cellulaire, les gènes viraux vont s'exprimer.

d- Expression. Les séquences d'ADN viral sont transcrites en ARN messagers puis ces derniers seront traduits en protéines. La production d'ARN messagers à partir du génome du virus est toute fois soumise à des régulations très compliquées. Elles impliquent à la fois des facteurs produits par la cellule et des facteurs produits par le virus. Cette complexité résulte en partie de celle de l'organisation du génome viral lui-même qui comporte de nombreuses régions codantes ou gènes, correspondant chacune à une protéine virale.

Chez les rétrovirus, tous les ARN sont synthétisés à partir d'une origine unique située dans un des LTR du génome viral intégré.

Dans le noyau, ces ARN seront ensuite découpés puis réassemblés (phase d'épissage). Ce processus conduit à la production de plusieurs classes d'ARN messagers de taille différente et représentant différentes régions du génome. Chacun de ces ARN va exprimer spécifiquement une des protéines du virus.

e- Synthèse et assemblage. Cette synthèse s'effectue selon les mêmes mécanismes que celles des protéines cellulaires.

Les protéines de structure interne qui sont codées par les gènes gag et pol sont synthétisées sous la forme d'une longue molécule qui sera découpée en

différents segments. De même la glycoprotéine d'enveloppe, une grosse protéine enrichie de nombreuses chaînes glucidiques sera clivée en deux segments donnant la gp120 et la gp41.

L'assemblage des particules s'effectue sous la membrane cellulaire où se rassemblent les protéines de structure . Le nouveau génome viral (en ARN) est associé à la particule naissante ; puis celle-ci bourgeonne, se détache de la cellule et s'organise dans sa forme définitive. La glycoprotéine d'enveloppe, déjà présente à la surface s'associe à la particule virale et se regroupe pour former les spicules visibles à la surface de certaines particules en microscopie électronique. C'est la fin du cycle de réplication.

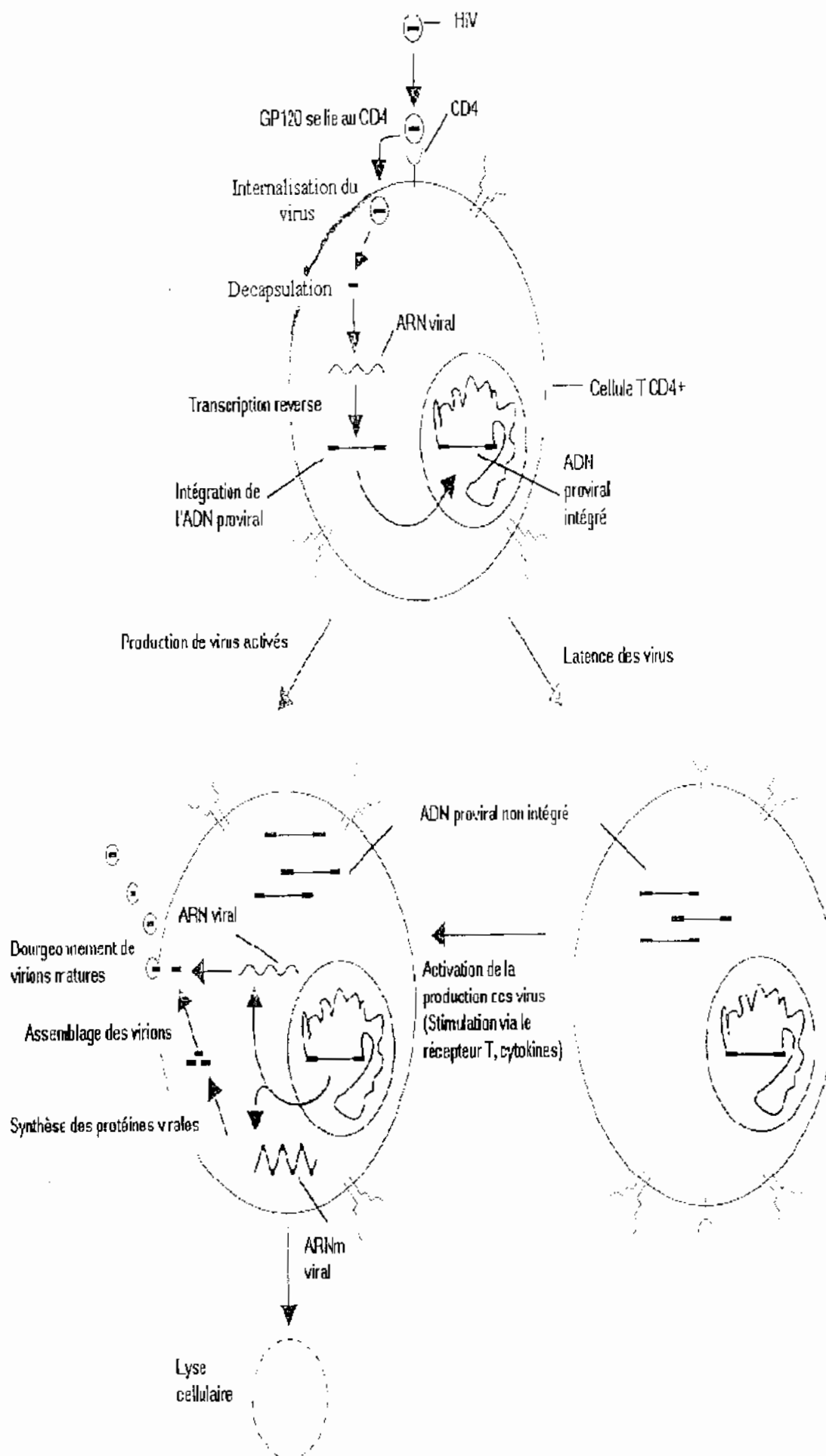


Fig III Cycle du Virus de l'Immunodéficience Humaine (adapté de 2nd Edition 1994 Cellular and Molecular Immunology, A.K. Abbas; A. Lichtman; J. Pober.).

III.2.4- Mécanisme d'action du VIH

Le VIH est un virus fragile ; isolé, la particule virale est inerte. Après sa pénétration dans l'organisme, le VIH infecte en priorité les cellules porteuses sur leur membrane de surface, de la molécule CD4, les plus nombreuses étant les lymphocytes T helper. D'autres cellules possédant à des degrés plus ou moins grands des molécules CD4 sont aussi infectées notamment les cellules de la lignée monocyte macrophage, les lymphocytes B transformés par le virus d'Epstein Barr, les cellules tumorales exprimant des marqueurs premonocytaires, les cellules de langherans dans la peau...

Les cellules macrogliales et les cellules folliculaires dendritiques des ganglions sont touchées. La GPI20 du VIH se lie spécifiquement à la molécule CD4 qui agit comme un récepteur. Après la liaison, le virus fusionne avec la membrane cellulaire et perd ainsi son enveloppe : l'ARN viral pénètre dans la cellule, il est transcrit en ADN par la transcriptase inverse. Une partie de l'ADN viral nouvellement formé est intégrée dans l'ADN cellulaire grâce à l'intégrase et devient un provirus. Une quantité importante d'ADN restant demeure non intégrée dans le cytoplasme cellulaire. La réplication du VIH dans la cellule est limitée à cette étape jusqu'à ce que la cellule infectée soit activée par des stimulus d'origine virale, bactérienne ou immunologique (cytokine comme interleukine 6, les facteurs de stimulation des granulocytes macrophages, facteur alpha de nécrose tumorale)[28].

Une fois activée, la séquence provirale dans le noyau cellulaire peut transcrire l'ARN messager et celui du genome, menant à la synthèse de nouvelles protéines virales ; cela se fait grâce à la protéase. Les protéines virales et l'ARN se rassemblent à la surface de la cellule et sont expulsées comme des virions matures [14, 28].

La cellule reste infectée à vie porteuse de l'ADN viral dans son génome ; et à chaque fois qu'elle se réplique et se divise, elle produit des cellules progéniques qui contiennent également la séquence virale.

Une cellule infectée peut rester intacte avec une production latente de virus ou de faible niveau pendant une longue période. Quand un stimulus active la cellule, il y a une production massive de virus qui contribue à la destruction rapide de cellules T4 infectées.

La transcription des provirus se traduit également par l'expression de protéines virales comme la GP 120 à la surface cellulaire ; ce qui permet la formation de syncytium ou cellule géante multinucléaire issue de la fusion entre cellules infectées et cellules saines ayant le récepteur CD4. Les cellules qui constituent le syncytium développent un cytoplasme ballonnant et meurent rapidement [9, 63].

On a décrit également des phénomènes d'apoptose ou programmation de mort cellulaire à distance. Des cellules T4 non infectées cultivées à côté d'une cellule T4 infectée présentent des signes de mort cellulaire sans qu'il y ait eu contact entre les cellules saines et la cellule infectée. Des médiateurs de type cytokine interviendraient dans ce mécanisme d'interaction à distance [16, 22].

III. 2. 5- Variabilité du VIH

Peu après sa découverte la diversité génétique du VIH fut élucidée.

Dès 1986 deux types de virus étaient déjà connus : le VIH-1 qu'on retrouve un peu partout dans le monde et le VIH-2 qui est caractérisé par un temps de latence plus long et qui s'avère le moins pathogène a été découvert en Afrique de l'ouest qui demeure son foyer de prédilection [4, 11].

Des études effectuées sur les séquences du gène env (plus particulièrement sur la boucle V3) et du gène gag ont démontré qu'à l'intérieur du VIH-1 il existe trois groupes génomiques qui sont : le groupe M, le groupe N et le groupe O. Le groupe M qui est majoritaire regroupe les principaux virus

responsables de l'épidémie mondiale du SIDA ; il est composé de dix sous-types génétiquement différents (A à J), avec une répartition géographique très homogène et une diversification considérable [7, 31, 36].

L'analyse de plusieurs souches Africaines préliminairement classées dans le sous type F a révélé une très grande divergence au sein du sous type F, caractérisé dorénavant par deux sous groupes F1 et F2.

Cette étude a également permis de caractériser un nouveau sous type : le sous type K [59].

Le sous type O a été découvert pour la première fois chez une Camerounaise de 25 ans où il fut d'abord nommé ANT 70.

Dans le groupe M du VIH-1, les sous types dominants ne sont pas les mêmes suivant les régions. C'est ainsi qu'en Europe Occidentale et en Amérique du Nord, le sous type B est dominant. En Asie du Sud-Est (Thaïlande, Vietnam), le sous type E est dominant. En Afrique de l'Ouest et de l'Est, ce sont les sous types A et G qui dominent. En Afrique Centrale c'est le A et le C ; en Afrique du Sud le B et le C sont plus fréquents.

Le groupe O est observé au Niger, Sénégal, Togo, Bénin, Tchad, Gabon, Zambie, Kenya [40, 54].

Le VIH-2 est composé de cinq (5) sous-types [52] qui sont : les sous-type A, sous-type B, sous-type C, sous-type D et sous-type E.

Par ailleurs les deux virus VIH-1 et VIH-2 qui sont tous des lentivirus sont très proches. Toute fois on note d'importantes différences au niveau génomique et des protéines virales.

- Au niveau génomique, on note une homologie de 42% seulement entre le VIH-1 et le VIH-2 (alors qu'elle est de 72% entre le VIH-2 et le SIV).

Cette homologie est de 59% pour le gène pol, 35% pour les gènes Vpr, Tat, Nef et Vif [27].

- Au niveau des protéines virales, il y a une différence notable entre le VIH-1 et le VIH-2 surtout au niveau de la spécificité d'Ag d'enveloppe :

La glycoprotéine d'enveloppe du VIH-1 a un poids moléculaire de 120 Kd alors que celle du VIH-2 est de 105 Kd.

La glycoprotéine transmembranaire du VIH-1 a un poids moléculaire de 41 Kd alors que celle du VIH-2 est de 36 Kd.

III. 2. 6- Mode de transmission du VIH

Le VIH a été isolé du sang, du sperme, des sécrétions vaginales, de la salive, des urines, des larmes et du lait maternel. Les trois modes de transmission sont : la voie sexuelle, la voie sanguine et la voie verticale ou materno-fœtale [43, 48].

a- Transmission sexuelle : c'est le mode de contamination le plus fréquent. Il peut s'effectuer lors des rapports hétérosexuels (plus fréquent en Afrique) ou homosexuels (fréquent en Europe et en Amérique du nord) avec une personne contaminée. Les facteurs de risque augmentent cette contamination : rapport anal, nombre élevé de partenaires.

La transmission sexuelle du VIH de l'homme à la femme semble plus souvent contaminante [42]. En général les femmes sont infectées à un âge jeune par rapport aux hommes. Toutefois un seul contact sexuel non protégé même sans aucun facteur de risque peut être suffisant pour assurer la transmission du VIH.

b- Transmission sanguine. Dans beaucoup de pays en voie de développement, cette transmission est liée au traitement par voie parentérale plus préféré au traitement oral. Les utilisateurs de drogue par voie intraveineuse constituent une couche beaucoup touchée[42].

La transmission par transfusion sanguine et de dérivés sanguins est actuellement extrêmement limitée avec les mesures de sécurité

transfusionnelle, notamment le dépistage obligatoire des donneurs de sang. Tout de même le risque résiduel n'est pas à exclure[48].

c- Transmission materno-fœtale ou verticale. Le taux de contamination de la mère à l'enfant est en France de 20%, mais plus élevé en Afrique (30 à 40%). Cette transmission s'effectue essentiellement pendant le 3^{ème} trimestre de la grossesse et pendant l'accouchement. Une transmission par le lait maternel est également possible. Certains facteurs augmentent le risque de transmission de la mère à l'enfant : maladie symptomatique de la mère, taux de lymphocytes T4 plus bas et/ou charge virale plasmatique élevée [48].

III. 3- DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE :

Le diagnostic biologique de l'infection à VIH repose sur la mise en évidence du virus lui-même ou de certains de ses composants (diagnostic direct) et la détection des anticorps spécifiques du virus (diagnostic indirect).

III. 3. 1- Diagnostic indirect

a- Les techniques immuno-enzymatiques (EIA) [38, 47].

- **Principe** : Le sérum à étudier est mis d'abord à incuber en présence du support sensibilisé : microplaque ou bille, des complexes anticorps-antigènes se forment et leur présence est révélée dans un second temps par l'adjonction d'un sérum antiglobuline humain marqué par une enzyme ; après une série de lavages minutieux, le substrat de cette enzyme donnera une réaction colorée d'autant plus intense que le sérum est riche en anticorps. Des témoins inclus dans chaque réaction permettent de déterminer par un calcul légèrement différent selon les trousse, la valeur seuil ou limite.

Il existe plusieurs techniques d'EIA parmi lesquelles :

□ **EIA type antiglobuline**[50] :

Les sérums à étudier ainsi que les sérums de contrôle sont distribués dans les cupules. Si des anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont présents, ils se lient aux antigènes fixés sur la phase solide.

Les anticorps anti-IgG et IgM humaines, marqués à la peroxydase sont ajoutés après lavage, ils se lient à leur tour aux IgG et/ou IgM retenues 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 restée libre.

Avantages : Technique sensible, simple d'exécution.

Inconvénients : Peu spécifique, peut donner de faux positifs

□ **EIA par compétition** : 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 fixera de conjugué. Le substrat chromogène donnera une réaction colorée qui sera donc 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 seuil sont considérés positifs.

Avantages : Technique d'EIA très spécifique, simple d'exécution (une seule incubation), donne moins de faux positifs.

Inconvénients : Moins sensible, détecte de façon privilégiée les anticorps anti-enveloppe au détriment des anticorps dirigés contre les protéines internes du VIH, peut ignorer le début de séroconversion.

□ **EIA Sandwich [51] :**

Les sérums à étudier ainsi que les sérums de contrôle sont distribués dans les cupules. Si des anticorps anti-VIH-1 et/ou VIH-2 sont présents, ils se lient aux antigènes fixés sur la phase solide.

Les antigènes VIH-1 et VIH-2 purifiés, marqués à la peroxydase, sont ajoutés après lavage. Ils se lient à leur tour aux IgG et /ou IgM et/ou IgA, retenus par la phase solide.

La présence de l'enzyme immobilisé sur les complexes est révélée par incubation en présence du substrat après élimination de la fraction de conjugué restée libre.

Avantages : Technique très sensible, peut détecter le début de séroconversion

Inconvénients : Technique moins spécifique, peut donner de faux positifs.

b- Technique d'agglutination.

- **Principe** : les Ac anti-VIH forment avec le support composé de billes de polystyrène ou des hématies humaines un réseau d'agglutination visible à l'œil nu.

Avantages : ne nécessite pas d'équipement onéreux, lecture à l'œil nu, ne comporte pas beaucoup d'étapes.

Inconvénient : moins spécifique

c- Radio immunoprécipitation assay (RIPA) [37]

- **Principe** : le virus radiomarqué (à la cystéine ou à la méthionine radioactive) est purifié puis incubé en présence de sérum contenant l'Ac anti-VIH. On procède à une précipitation des complexes immuns par une protéine A couplée à la sepharose. Après dénaturation, les Ag complexés seront analysés par migration électrophorétique sur gel de polyacrylamide puis révélés par autoradiographie.

Avantages : test de confirmation très sensible, permet de discriminer le type de VIH.

Inconvénient : réalisation difficile réservée aux laboratoires spécialisés.

d- Western blot (WB) [6, 37]

- **Principe**. Le WB consiste à séparer les protéines virales selon leurs poids moléculaires par migration électrophorétique sur gel de polyacrylamide en milieu dissociant puis transférés sur une membrane de nitrocellulose.

La membrane de nitrocellulose sera découpée en bandelettes longues et étroites. Après incubation des bandelettes avec le sérum à tester, les Ac présents se fixent en fonction de leurs spécificités sur les protéines préalablement séparées. La révélation se fait par addition dans un premier temps d'une antiglobuline humaine marquée par une enzyme (phosphatase, peroxydase etc...) puis du substrat chromogène. La présence d'Ac se traduit par l'apparition de bandes spécifiques colorées dont la position correspond aux poids moléculaires des protéines majeures du VIH.

Avantage : c'est la technique de référence pour la confirmation d'une séropositivité VIH, Elle est spécifique.

Inconvénient : c'est une technique coûteuse, de réalisation longue.

e- Immunofluorescence indirecte (IFI) [37]

- **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 Ac présents se fixent sur les cellules et sont révélés par une antiglobuline humaine marquée à l'isothiocyanate de fluoresceine.

Une réaction positive se traduit par une fluorescence visible uniquement à la périphérie des cellules infectées ; une fluorescence observée également sur le

témoin signe une fixation non spécifique d'Ac reconnaissant les éléments cellulaires et non le virus.

Avantages : bonne sensibilité, permet de détecter des Ac dirigés contre les glycoprotéines membranaires et transmembranaires spécifiques de l'infection par le VIH..

Inconvénients : Cette technique est difficile à standardiser, et ne peut être utilisée en dépistage de routine.

III. 3. 2- Diagnostic direct

a- Détection de l'antigène du VIH

- **Principe** : la détection des Ag du virus dans le sérum, le plasma, le LCR ou tout autre liquide biologique est réalisée par une méthode ELISA.

Le prélèvement biologique est mis dans les puits d'une plaque de microtitration recouverts d'un anticorps spécifique d'un antigène du VIH. Après des lavages répétés, la présence de l'Ag est révélée par un autre anticorps spécifique du virus. L'Ag est donc pris en sandwich entre deux anticorps. Le deuxième anticorps est généralement couplé à une enzyme. L'ajout du substrat de l'enzyme donne une coloration qui permet de révéler la réaction antigène-anticorps et l'intensité de la coloration permet de quantifier le taux de l'antigène.

- **Intérêt** : cette technique a une spécificité supérieure à celle des épreuves indirectes qui emploient des lysats viraux entiers, elle permet la détection précoce de l'infection par le VIH (l'Ag peut être détecté avant la séroconversion chez des jeunes enfants nés de mères séropositives).

b- Isolement du virus [37]

- **Principe** : il repose sur la mise en culture des cellules mononuclées du sang périphérique prélevé sur anticoagulant. Ces cellules mononuclées seront mises en suspension dans un milieu de culture riche contenant l'Interleukine-2 : un facteur de croissance indispensable pour les lymphocytes et les substances favorisant l'infection virale telle que : le polybrène et le sérum anti-interféron et un agent mitogène.

Après quatre à six semaines d'observation, la multiplication du VIH se traduit par l'apparition d'un effet cytopathique. La mise en évidence repose sur l'étude du surnageant de culture dans lequel on détecte l'Ag viral ou l'activité de la Transcriptase inverse.

Avantages : permet de mettre en évidence des souches de VIH ou d'autres rétrovirus qui échapperaient à la détection antigénique.

La détection de l'Ag est plus précoce et plus sensible.

Inconvénients : technique lourde et coûteuse. Il y'a un risque lié à la différenciation de virus hautement pathogène, ce qui impose de travailler dans des conditions de sécurité bien codifiées. La négativité de la culture n'implique pas forcément l'absence de l'infection.

c- Réaction de polymérisation en chaîne ou Polymerase Chain Reaction (PCR) [15].

- **Principe** : L'ADN est composé de deux brins complémentaires d'orientation inverse. C'est la structure double-brin. Les bases s'apparient deux à deux d'un brin à l'autre, A avec T, G avec C. Il est possible de rompre ces liaisons et de séparer les deux brins (dénaturer l'ADN) sous l'action d'agents chimiques ou bien de la chaleur. Mais ils auront toujours tendance, s'ils restent en contact, à se réassocier selon leur structure originale.

L'ADN cible et les amorces complémentaires sont dénaturés ensemble par chauffage à 90-95°C. La température est ensuite baissée afin de permettre la

rénaturation de l'ADN. Mais les amorces, très petites, vont s'intercaler en s'hybridant avec les régions qui leur sont complémentaires. La température est ensuite augmentée jusqu'à 71-72°C, afin de permettre la polymérisation à partir des amorces. Le premier cycle est terminé, le deuxième commence avec une nouvelle étape de dénaturation, suivie d'une rénaturation, polymérisation et ainsi de suite. Cette cyclisation entraîne une amplification exponentielle de la région située entre les deux amorces.

Avantages : elle est très sensible pour détecter la présence d'ADN de VIH, elle permet un diagnostic précoce de l'infection.

Inconvénients : elle donne de faux positifs dus à une contamination de l'environnement et de faux négatifs dus à la variation du virus engendrée par les mutations dans les séquences complémentaires des amorces. Elle est chère et demande un équipement spécial et un personnel bien formé.

III. 4 - EPIDEMIOLOGIE

À la date du premier avril 1988, 85273 cas de SIDA avaient été officiellement notifiés à l'OMS par 137 pays du monde dont 62536 des cas par 42 pays de la région des Amériques ; 10677 ont été recensés par 27 pays européens ; 10995 des cas par 43 pays africains et 1065 par 25 pays d'Asie et d'Océanie. 50 pays avaient notifié plus de 50 cas à l'OMS en avril 1988.

III. 4. 1- Situation du VIH/SIDA au Mali.

Après la découverte du premier cas de SIDA en 1986 [23] le taux a augmenté rapidement dans les années qui ont immédiatement suivi.

Selon une enquête menée en 1999, la prévalence du VIH dans la population malienne était de 3%. Elle était de 3,4% chez les femmes et 2,4% chez les hommes [44]. Le VIH-1 dépasse de loin le VIH-2. Au Mali on rencontre les sous-types A C D G du VIH-1 [41].

III. 4. 2- Situation du VIH/SIDA en Afrique.

Située dans l'épicentre de la pandémie, l'Afrique a un taux élevé de prévalence du SIDA. En 1999 plus de 34 millions d'Africains vivant au sud du Sahara auraient été infectés.

Le VIH-1 est cosmopolite tandis que le VIH-2 a été décrit chez des patients originaires de l'Afrique de l'Ouest ou qui y ont séjourné. En Afrique de l'Ouest les sous-types A, B, C, D, G du VIH-1 sont observés [24, 41]. En Afrique Centrale les sous-types présents sont A, B, C, D, E, F, H du VIH-1 [13, 58]. En Afrique de l'Est ce sont les sous-types A, G, D du VIH-1 qui se retrouvent [33,55,63, 66]. En Afrique du Sud, existent les sous-types B, C, D, E du VIH-1 [64].

L'étude effectuée par PETERS M et coll. [40] a montré que le VIH-1 groupe O existe dans les pays suivants : Cameroun ; Gabon ; Niger ; Sénégal ; Togo ; Bénin ; Tchad ; Zambie. L'étude de SONG OK, M'BOND [55] a montré l'existence du groupe O au Kenya.

III. 4. 3- Situation du VIH/SIDA dans le Monde

Selon l'OMS et le programme commun des Nations Unies sur le VIH/SIDA (ONUSIDA) ; 33,6 millions de personnes vivaient avec le VIH/SIDA dans le monde à la fin de 1999 soit 10% de plus qu'il y avait un an plus tôt.

En fin 1999 ; 16,3 millions de personnes (dont 2,6 millions pour la seule année de 1999) sont décédés de suite de VIH depuis le début de la pandémie ; et en 2001 l'OMS a avancé un nombre de 20 millions de victimes.

Le taux de prévalence en Asie reste relativement faible ; en Chine, le taux de prévalence est bas avec une estimation de près d'un demi million de personnes infectées sur plus d'un milliard d'habitants. En Europe Occidentale et en Amérique du Nord on retrouve le sous-type B du VIH-1 comme sous-type dominant . En Asie du sud-est (Thaïlande, Vietnam), le sous-type E est dominant.

**IV. MATERIELS
ET
METHODES**

IV. 1- LIEU D'ETUDE

L'étude s'est déroulée au Centre National de Transfusion Sanguine (C.N.T.S) de Bamako, centre de référence pour les produits sanguins et apparentés.

IV. 1.1- Présentation géographique du CNTS

Le CNTS est situé en commune II dans le quartier de Quinzambougou à Bamako. Cette situation géographique facilite son accès à la population.

IV. 1.2- Création et Mission du CNTS

Le CNTS a été créé par l'Ordonnance N°90-38/P-RM du 5 juin 1990. L'Ordonnance 041/P-RM du 20 septembre 2000 lui confère le Statut d'Etablissement Public à caractère Scientifique, Technologique et Culturel (EPSTC) avec une autonomie de gestion et le Décret N° 587/PRM du 23 novembre 2000 réglemente son fonctionnement.

Le CNTS a pour mission de :

- Mettre en œuvre la politique nationale de transfusion du Mali.
 - Organiser la transfusion sanguine sur l'ensemble du territoire national.
 - Sensibiliser, recruter et fidéliser les donneurs.
 - Collecter du sang, le traiter et préparer les différents dérivés à usage thérapeutique et à usage de laboratoire.
 - Distribuer les produits sanguins aux formations sanitaires de la capitale et des régions.
 - Créer, animer, superviser les antennes régionales de la transfusion sanguine.
 - Elaborer un programme de formation initiale et de formation continue en transfusion sanguine du personnel de tout le secteur transfusionnel.
-

- Effectuer les examens de laboratoire pour la sécurité transfusionnelle et la pratique médicale courante.
- Mettre en œuvre des projets de recherche dans le domaine transfusionnel pour sans cesse améliorer les prestations du CNTS, et la santé des populations.
- Ecrire et diffuser les guides de bonnes pratiques transfusionnelles et les procédures opératoires des laboratoires d'immunologie.

IV. 1. 3- Organisation et fonctionnement du CNTS

Le personnel est composé :

- du directeur qui est chargé, de diriger, coordonner, animer et de contrôler toutes les activités du centre ;
- de trois médecins dont l'un est responsable du laboratoire et les deux autres chargés de la collecte du sang ;
- d'un pharmacien responsable de l'assurance qualité ;
- de cinq techniciens de santé et de trois techniciens supérieurs de santé affectés aux analyses biologiques et aux prélèvements ;
- de deux gestionnaires ;
- d'une comptable ;
- de deux secrétaires de direction ;
- d'une cuisinière ;
- d'un manœuvre ;
- de deux gardiens ;

Une permanence y est assurée 24h sur 24h pour satisfaire les demandes en produits sanguins.

Le bâtiment est composé de bureaux du Directeur, du responsable des laboratoires, du responsable de l'assurance qualité, du gestionnaire, de la comptable, du surveillant et de L'ADBS (Association des Donneurs

Bénévoles de Sang) ; de 4 laboratoires (Groupage, Sérologie, Hématologie-Biochimie, Préparations des produits sanguins) et d'une chambre froide ; d'une salle de consultation et de prélèvement ; d'une salle de restauration.

Le centre dispose d'un incinérateur de déchets, d'un groupe électrogène et d'un logement pour le gardien.

IV. 2- TYPE D'ETUDE

Notre étude est une enquête sero-épidémiologique prospective transversale qui s'étend sur une année : du 1^{er} novembre 2000 au 31 octobre 2001. Cette enquête a utilisée quatre techniques différentes de dépistage.

IV. 3 – POPULATION D'ETUDE

L'étude a porté sur deux populations :

- Les donneurs de sang du CNTS
- Les malades venant au CNTS pour leur sérologie à VIH.

Les donneurs de sang sont constitués par des personnes qui viennent bénévolement donner leur sang, les personnes qui viennent donner dans le but d'en recevoir pour des parents malades, les personnes qui viennent donner dans le but de se faire dépister.

La deuxième population est constituée par des malades se présentant au CNTS avec des bulletins de sérologie à VIH.

IV. 3. 1- Critères d'inclusion

Pour l'enquête épidémiologique, étaient inclus tous les donneurs de sang du CNTS jugés aptes pour le don de sang

- avoir un poids corporel supérieur à 55 Kgs ;
 - être âgé de 18 à 60 ans ;
-

- ne pas avoir d'antécédents d'hypo/hypertension, de cardiopathies, de diabète, d'épilepsie, d'anémie, de néphropathies, de vertiges et d'infections potentiellement dangereux pour le receveur.
- ne pas être en règle ou en grossesse ou encore en allaitement pour les femmes ;

Pour la comparaison des techniques de dépistage, étaient inclus 25 donneurs de sang du CNTS et 25 malades dépistés positifs au Genelavia Mixt et tirés au sort à l'aide d'une pièce de monnaie (méthode pile ou face).

IV. 3. 2-Critères d'exclusion

Pour l'enquête épidémiologique, étaient exclus toutes les personnes inaptes pour le don de sang ; c'est-à-dire les donneurs non acceptés lors de l'entretien médical (les femmes en période de règles, d'allaitement et de grossesse ; les personnes de poids inférieur à 55 Kg ; les hypertendus, les diabétiques ; les malades sous traitement).

Pour la comparaison des techniques, étaient exclus tous les donneurs de sang et les malades négatifs en anticorps anti-VIH avec le test Genelavia Mixt.

IV. 4- METHODES D'ETUDE

IV. 4. 1- Collecte d'informations socio-démographiques.

Les données socio-démographiques pour chaque individu étaient récoltées sur des fiches d'enquête établies à cet effet (voir annexe).

IV. 4. 2 -Matériel et réactifs

Le matériel et les réactifs étaient composés :

- de fauteuils dépliant ;
 - de garrots ;
-

- d'aiguilles de prélèvement
 - de tubes à hémolyse ;
 - de cryotubes
 - de portoirs pour tubes ;
 - de marqueurs indélébiles ;
 - de ciseaux ;
 - de coton ;
 - d'alcool ;
 - d'eau de javel ;
 - des embouts de 1 à 200 μ l
 - des micropipettes de 10, 20, 100 et 200 μ l
 - du papier buvard ;
 - un laveur de plaque de titration (PW40 Sanofi Pasteur, France)
 - d'un spectrophotomètre (PR2100 Sanofi Pasteur, France)
 - d'une plaque chauffante (IPS Sanofi Pasteur, France)
 - d'un agitateur de plaque multidimensionnel (OSI)
 - de kits GENELAVIA MIXT Sanofi Diagnostics Pasteur, France ;
 - de Kits GENSCREEN HIV1/2 version 2 Sanofi Diagnostics Pasteur, France
 - de kits IMMUNOCOMB II HIV1 et HIV2 BISPOT Orgenics, USA ;
 - de kits ORTHO HIV1/HIV2 Ab-Capture Ortho Clinical Diagnostics, USA
 - de kits NEW LAV BLOT VIH1 Sanofi Diagnostics Pasteur, France
 - de kits NEW LAV BLOT VIH2 Sanofi Diagnostics Pasteur, France ;
 - de fiches d'identification
 - d'eau distillée
 - de bacs de distribution de réactifs
-

IV. 4. 3- Le prélèvement de sang et extraction de sérum

Le donneur ou le malade était installé sur le fauteuil réglable et un garrot attaché à son bras ; puis après avoir désinfecté à l'aide d'un tampon d'alcool à 90°C au pli du coude en aval du garrot, une ponction veineuse était effectuée. Environ 5 ml de sang était recueillie dans un tube à hémolyse sans anticoagulant. L'étiquette portant le numéro d'identification du donneur ou du malade était collé au tube.

Tous les tubes de sang à analyser étaient placés sur un portoir après avoir décoller par agitation brusque le caillot adhérent à la paroi du tube.

Les tubes étaient centrifugés pendant 5 minutes 2000 t/mn. Les sérums étaient récupérés et conservés dans des cryotubes.

IV. 4. 4- Techniques utilisées

Dans cette étude nous avons utilisé les techniques suivantes : le GENLAVIA MIXT, le GENSCREEN VERSION 2, l'ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC, l'IMMUNO COMB II, et le WESTERN BLOT.

Le Genelavia Mixt a été utilisé pour sélectionner les échantillons pour la comparaison des techniques de détection du VIH.

a- GENELAVIA MIXT Sanofi Diagnostics Pasteur

Pour la détection des anticorps anti-VIH1 et VIH2 dans le sérum ou le plasma par la technique immuno-enzymatique.

- **Principe.** Genelavia Mixt est une technique immuno-enzymatique indirecte pour la détection des différents anticorps associés aux virus VIH1 et / ou VIH2 dans le sérum ou le plasma humain.

Genelavia Mixt repose sur l'utilisation d'une phase solide préparée avec des antigènes purifiés (protéine recombinante gp160 et peptide mimant les

épitopes immunodominants des glycoprotéines d'enveloppe des virus VIH1 et VIH2) et d'anticorps de chèvre anti-IgG et anti-IgM humaines purifiés par chromatographie d'affinité et couplée à la peroxydase.

La mise en œuvre du test comprend les étapes réactionnelles suivantes :

*Les sérums à étudier ainsi que les sérums de contrôle sont distribués dans les cupules.

Si des anticorps anti-VIH1 et / ou VIH2 sont présents, ils se lient aux antigènes fixés sur la phase solide.

*Les anticorps anti-IgG et anti-IgM humaines marqués à la peroxydase sont ajoutés après lavage. Ils se lient à leur tour aux IgG et / ou IgM 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 restée libre.

*Après l'arrêt de la réaction, la lecture s'effectue au spectrophotomètre à 492 / 620 nm.

L'absorbance observée pour un échantillon permet de conclure quant à la présence ou l'absence d'anticorps anti-VIH1 et / ou VIH2.

- Mode opératoire

Suivre strictement le protocole proposé.

On utilise 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 :

80µl de diluant dans chaque cupule ;

20µl de sérum de contrôle négatif (R3) en A1 ;

20µl de sérum de contrôle seuil (R4) en B1, C1 et D1 ;

20µl de sérum de contrôle positif (R5) en E1 ;

20µl du premier échantillon en F1 ;

20µl du deuxième échantillon en G1, etc ---

en homogénéisant le mélange par trois aspirations minimum.

*Couvrir d'un film autocollant en appuyant bien sur toute la surface pour assurer l'étanchéité.

*Incuber la microplaque dans un incubateur sec de microplaques pendant 30 ± 5 minutes à $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

*Retirer le film adhésif, laver cinq fois avec le laveur automatique.

*Distribuer 100µl de la solution de conjugué dans toutes les cupules.

Le conjugué doit être agité avant emploi.

Recouvrir d'un film neuf et incuber 30 minutes à $40^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

*Retirer le film adhésif, laver cinq fois à l'aide du laveur automatique.

*Préparer la solution de substrat juste avant emploi. Cette solution ne doit pas rester à la lumière plus de dix minutes.

*Distribuer rapidement à l'abri de la lumière vive, 100µl de la solution de révélation de l'activité enzymatique dans toutes les cupules.

Laisser la réaction se développer à l'obscurité pendant 30 ± 5 minutes à la température ambiante ($18-25^{\circ}\text{C}$). Lors de cette incubation ne pas utiliser de film adhésif.

*Ajouter 50µl de la solution d'arrêt dans toutes les cupules.

*Essuyer soigneusement le dessous de la plaque. Lire la densité optique à 492 / 620 nm au spectrophotomètre dans les 30 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction.

- Calcul et interprétation des résultats.

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

Le mode de calcul de la moyenne des absorbances est le suivant :

Pour le sérum de contrôle seuil (DOR4)

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

La valeur seuil sera déterminée par le rapport

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

L'essai est valide si la DO du sérum de contrôle négatif est inférieur à 70% de la valeur seuil ($\text{DOR3} < 0,7 \text{ VS}$) ; la moyenne des DO des sérums de contrôle seuil est supérieure à 0,6 ($\text{DOR4} > 0,6$). Le rapport $\text{DOR5} / \text{DOR4}$ doit être supérieur ou égal à 1,3.

Les échantillons dont les absorbances sont inférieures à la valeur seuil sont considérés négatifs .

Les échantillons dont les absorbances sont égales ou supérieures à la valeur seuil sont considérés initialement positifs.

Toutefois, les résultats situés juste au dessous de la valeur seuil ($\text{VS} - 10\% < \text{DO} < \text{VS}$) doivent être interprétés avec prudence et les échantillons correspondants testés à nouveau.

b. GENSCREEN HIV1/2 VERSION 2 Sanofi Diagnostics Pasteur

Pour la détection des anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2 dans le sérum ou le plasma par technique immuno-enzymatique.

- **Principe :** Genscreen HIV1/2 Version 2 est une technique immunoenzymatique 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 des antigènes purifiés (protéines recombinantes 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 nucleocapsidique et peptides mimant les épitopes immunodominants des glycoprotéines d'enveloppe des virus VIH1 et VIH2).

La mise en œuvre du test comprend les étapes réactionnelles suivantes :

*Les sérums à étudier ainsi que les sérums de contrôle sont distribués dans les cupules. Si des anticorps anti-VIH1 et / ou anti-VIH2 sont présents, ils se lient aux antigènes fixés sur la phase solide.

*Les antigènes VIH1 et VIH1 purifiés marqués à la peroxydase, sont ajoutés après lavage. Ils se lient à leur tour aux IgG et / ou IgM et / ou IgA 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 restée libre.

*Après arrêt de la réaction, la lecture s'effectue au spectrophotomètre à 450 / 620nm.

L'absorbance observée pour un échantillon permet de conclure quant à la présence ou l'absence d'anticorps anti-VIH1 et / ou VIH2.

- **Mode opératoire** : suivre strictement le protocole proposé.

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

*Établir 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 pré-lavage 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 du premier échantillon en F1.

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

Homogénéiser le mélange par trois aspirations minimums avec la pipette de 75µl ou 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 $37^\circ \pm 1^\circ\text{C}$.

*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 100 μ l 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.

- **Calcul et interprétation 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 :

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

Valeur Seuil :VS

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

-Validation de l'essai :

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

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

Facultatif : Le rapport $DOR5/DOR4$ doit être supérieur ou égal à 1,3 (applicable seulement quand la linéarité du lecteur utilisé est supérieure à 3,000).

Les échantillons dont les absorbances sont inférieures à la valeur seuil sont considérés négatifs d'après le test 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.

Toutefois, les résultats situés juste au-dessous de la valeur seuil ($VS - 10\% < DO < VS$) doivent être interprétés avec prudence et les échantillons correspondants restés en double.

c- ORTHO HIV1 / HIV2 Ab – Capture de Ortho Clinical Diagnostics

Test immunoenzymatique qualitatif pour la détection des anticorps dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine de type 1 et / ou 2 (HIV1 et HIV2) dans le sérum ou le plasma humain.

- **Principe** : Le test se déroule en trois étapes et a pour support réactionnel des micropuits recouverts d'un mélange de quatre antigènes recombinants de type 1 et 2 (HIV1 et HIV2). Les antigènes recombinants correspondent à quatre protéines virales : 2 protéines d'enveloppe HIV1, une protéine de core HIV1 et une protéine d'enveloppe HIV2.

Dans un premier temps l'échantillon ou le contrôle est dilué dans un diluant-échantillon de couleur verte. Après si des anticorps anti-VIH1 et / ou anti-VIH2 sont présents dans le prélèvement, des complexes antigènes-anticorps vont se former à la surface des puits. Dans le cas contraire aucun complexe ne se fixera et les protéines libres du plasma ou du sérum seront éliminées dans l'étape ultérieure de lavage.

Durant la deuxième, un mélange de quatre antigènes recombinants HIV1 et HIV2 marqués à la peroxydase de raifort est ajouté dans le micropuits. Le conjugué se lie de façon spécifique aux immunoglobulines humaines anti-HIV1 et / ou anti-HIV2 (IgG et IgM) des complexes antigènes-anticorps.

Si ces complexes sont absents, le conjugué libre est évacué au cours du lavage ultérieur.

Durant la troisième étape, le substrat composé d'OPD (Ortho Phénylène Diamine) et de peroxyde d'hydrogène est ajouté. Si le conjugué lié est présent, l'OPD sera oxydé entraînant l'apparition d'une coloration. L'acide est ensuite ajouté pour arrêter la réaction. L'intensité de la coloration est lue grâce à un lecteur de microplaques à 492/620 nm.

- Mode opératoire

*Disposer les barrettes de micropuits dans le portoir et enregistrer la disposition des contrôles et des échantillons sur la microplaque. Disposer les contrôles de manière à avoir le blanc substrat dans le puits A1.

*Déposer directement sans pré-lavage de la plaque successivement :

50µl de diluant échantillon dans tous les puits sauf le puits A1.

150µl de contrôle négatif en B1, C1 et D1.

150µl de contrôle positif HIV1 en E1.

150µl de contrôle positif HIV2 en F1.

150µl du premier échantillon en G1.

150µl du deuxième échantillon en H1 etc...

*Couvrir la plaque d'un film protecteur et incuber 30 ± 2 minutes à $37^\circ \pm 2^\circ\text{C}$.

*Laver à la machine 5 fois.

*Déposer 200µl de conjugué dans tous les puits à l'exception du puits A1.

*Couvrir la plaque d'un film autocollant neuf et incuber pendant 30 ± 2 minutes à $37^\circ \pm 2^\circ\text{C}$.

*Laver 5 fois à la machine puis déposer 200µl de solution de substrat (préparée extemporanément) dans tous les puits y compris dans le puits A1.

*Incuber à température ambiante et à l'abri de la lumière durant 30 ± 2 minutes.

*Ajouter 50µl d'acide sulfurique dans tous les puits y compris le puits A1.

Lire les absorbances au spectrophotomètre à 492/620 nm dans les 60 minutes qui suivent l'arrêt de la réaction et conservation à l'abri de la lumière.

- Contrôle de qualité

Critères d'acceptation du blanc substrat

La plaque est considérée comme valide au regard du blanc substrat si la densité optique obtenue pour le blanc est supérieure ou égale et inférieure à 0,050.

Critères d'acceptation des contrôles négatifs

La densité optique de chaque contrôle négatif doit être supérieure à - 0,010 et inférieure à 0,070.

Critères d'acceptation des contrôles positifs

La densité optique du contrôle positif HIV1 est supérieure ou égale à 0,200.

La densité optique du contrôle positif HIV2 est supérieure ou égale à la valeur seuil.

Calcul de la Valeur Seuil : VS

$$VS = \frac{DO(B1) + DO(C1) + DO(D1) + 0,125}{3}$$

- Interprétation des résultats : les échantillons dont la densité optique est inférieure à - 0,025 doivent être restés en simple. L'échantillon sera considéré négatif si la densité optique obtenue lors de la répétition du test est inférieure à la valeur seuil même si elle reste inférieure à - 0,025.

-Les échantillons dont la densité optique est inférieure à la valeur seuil et supérieure ou égale à - 0,025 sont négatifs.

-Les échantillons dont la densité optique est supérieure ou égale à la valeur seuil sont considérés comme positifs initiaux.

-Après avoir retesté en double un échantillon positif initial, l'échantillon est considéré comme positif si l'une ou les deux détermination (s) est ou sont positive (s).

d- IMMUNOCOMB II HIV1 et HIV2 BISPOT Organics

Test rapide de dépistage et de différenciation des anticorps IgG dirigés contre les virus de l'immunodéficience humaine type 1 et 2 (HIV1 et HIV2) dans le sérum et le plasma humain.

- **Principe** : La trousse IMMUNOCOMB II HIV1 et HIV2 est un test immunoenzymatique indirect en phase solide.

La phase solide est un peigne de douze dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface en trois points ou spots de réaction :

Spot supérieur : anticorps de chèvre anti-immunoglobulines humaines (contrôle interne).

Spot médian : peptides synthétiques VIH2.

Spot inférieur : peptides synthétiques VIH1.

Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et pré-distribués dans le bac de développement. Ce bac est divisé en six compartiments (A-F) de douze puits chacun ; chaque compartiment correspond à un réactif et à une étape du test. Le déroulement du test consiste à transférer le peigne d'un compartiment à l'autre.

Le test commence par la distribution des sérums dans les puits du compartiment A. Le peigne est alors introduit dans les puits du compartiment A. Les anticorps anti-VIH éventuellement présents dans les échantillons testés se lient de façon spécifique aux peptides synthétiques VIH immobilisés à la surface des dents du peigne.

Parallèlement les immunoglobulines humaines contenues dans les échantillons sont capturés au niveau du spot supérieur par les anticorps immunoglobulines humaines (contrôle interne). Tout anticorps non fixé de

façon spécifique lors de cette première étape est éliminé au cours d'une étape de lavage dans le compartiment B. Dans le compartiment C, les immunoglobulines humaines de classe IgG fixées sur les dents du peigne sont reconnues par des anticorps de chèvre anti-IgG humaines conjugués à la phosphatase alcaline.

Après deux nouvelles étapes de lavage dans les compartiments D et E, la phosphatase alcaline réagit dans le compartiment F avec un composé chromogénique.

Cette dernière réaction entraîne la visualisation des résultats sous forme de spots gris-bleu à la surface des dents du peigne.

- Mode opératoire

***Réaction antigène-anticorps (compartiment A) :**

Distribuer 50µl des sérums (contrôles positif et négatif ainsi que les sérums à analyser) dans les puits du compartiment A en aspirant et en refoulant plusieurs fois afin d'assurer une bonne homogénéité. La distribution se fait à raison d'un sérum par puit. Insérer le peigne (face imprimée vous faisant face. Homogénéiser et incubé 10 minutes. Retirer le peigne, absorber le liquide résiduel en appliquant la pointe des dents du peigne sur du papier absorbant propre.

***Premier lavage (compartiment B) :**

Insérer le peigne dans les puits du compartiment B. Agiter et incubé 2 minutes. Absorber.

***Conjugué (compartiment C) :**

Insérer le peigne dans les puits du compartiment C. Homogénéiser et incubé 10 minutes. Retirer le peigne et absorber le liquide résiduel.

***Deuxième lavage (compartiment D) :**

Insérer le peigne dans les puits du compartiment D. Agiter et incubé 2 minutes puis absorber.

*Troisième lavage (compartiment E) :

Insérer le peigne du compartiment E. Agiter et incuber 2 minutes puis absorber.

*Révélation (compartiment F) :

Insérer le peigne dans les puits du compartiment F. Homogénéiser et incuber 10 minutes.

*Réaction d'arrêt (compartiment E) :

Insérer le peigne dans les puits du compartiment E. Après 1 minute retirer le peigne et le laisser sécher à l'air.

- **Résultats** : pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, les trois conditions suivantes doivent être remplies :

*Le contrôle positif doit présenter trois spots sur la dent du peigne.

*Le contrôle négatif doit présenter uniquement le spot supérieur (contrôle interne).

*Tout échantillon testé doit présenter le spot supérieur (contrôle interne), confirmant un dépôt correct de l'échantillon.

*Lorsqu'une dent affiche uniquement le spot supérieur du contrôle interne, l'échantillon correspondant est négatif.

*Lorsqu'une dent affiche le spot supérieur et le spot médian circulaire et uniformément coloré, l'échantillon est positif au VIH2.

*Lorsqu'une dent affiche le spot supérieur et le spot inférieur circulaire et uniformément coloré, l'échantillon est positif au VIH1.

*Certains échantillons contenant des concentrations élevées en anticorps anti-VIH1 ou en anticorps anti-VIH2 peuvent occasionner des réactions croisées en affichant un spot secondaire faible associé à un spot principal plus intense correspondant à l'antigène homologue.

e- NEW LAV BLOT VIH1 Sanofi Diagnostics Pasteur

Pour la détection des anticorps humains anti-VIH1 du sérum ou plasma. Test de confirmation

- **Principe** : le test repose sur le principe de l'ELISA indirect sur bandelette de nitrocellulose contenant toutes les protéines constitutives du virus VIH1 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 du bon déroulement du protocole opératoire. Les protéines du virus HIV inactivé 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.

La mise en œuvre du test comprend les étapes suivantes :

*Réhydratation des bandelettes.

*Incubation des échantillons à confirmer ou des sérums de contrôle. Si des anticorps anti-VIH1 sont présents, ils se lient aux protéines virales reconnues présentes sur la bandelette.

*Après lavage on procède à l'incubation des anticorps anti-IgG humaines marqués à la phosphatase alcaline. Le conjugué se lie aux anticorps anti-VIH1 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 des bandes colorées spécifiques permet de mettre en évidence la présence d'anticorps anti-VIH1 dans le sérum.

- Mode opératoire

*Éliminer le couvercle transparent du rack. S'assurer que la face des bandelettes comportant le trait de repère et la numérotation est visible afin que

les protéines virales présentes sur cette face soient recouvertes par les différents réactifs tout au long de la manipulation.

Les bandelettes doivent être manipulées précautionneusement à l'aide d'une pince en plastique.

*Ajouter 2ml de solution de lavage-diluant reconstituée, dans chaque compartiment. Incuber 5 minutes sous agitation lente.

*Ajouter 20µl de chaque échantillon ou sérum de contrôle dans le compartiment correspondant. Incuber 2 h à 37°C sous agitation lente.

*Aspirer entièrement le contenu de chaque compartiment. Laver 2 fois 5 minutes sous agitation lente, chaque bande avec 2ml de solution de lavage-diluant reconstituée. Eliminer la solution du dernier lavage.

*Distribuer 2ml de conjugué par compartiment. Incuber 1 heure à température ambiante sous agitation lente.

*Laver comme précédemment.

*Distribuer 2ml de solution de révélation par compartiment. Incuber sous agitation lente et surveiller l'apparition de la coloration.

Toutes les bandes correspondant aux protéines virales doivent être visualisées avec le sérum de contrôle positif. Temps d'incubation : environ 5 minutes.

*Arrêter la réaction en éliminant la solution de révélation et en rinçant les bandelettes 3 fois à l'eau distillée.

*Sécher les bandelettes entre deux feuilles de papier absorbant à température ambiante. Classer les en les positionnant parfaitement à l'aide du trait de repère et interpréter le résultat.

- **Validation et interprétation des résultats :** pour valider les résultats, la bande de contrôle interne anti-IgG doit être présente avec une coloration forte. L'absence ou la faible intensité de la 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.

S'aider du contrôle positif pour identifier les anticorps révélés et vérifier la présence de la bande du contrôle interne sur chaque bandelette.

Tableau n° 1 : Interprétation des résultats du New Lav Blot VIH1.

INTERPRETATION	PROFIL
Positif	2 env ± gag ± pol
Indéterminé	1 env ± gag ± pol gag + pol gag pol
Négatif	Aucune bande Bandes non répertoriées

La rubrique « indéterminé » peut faire suspecter une des alternatives suivantes : Séroconversion ou HIV2 ou encore la réaction croisée avec d'autres rétrovirus. Dans ces conditions, la technique du Western Blot VIH2 doit être effectuée ; si le résultat n'est pas satisfaisant, le diagnostic doit être repris 15 jours plus tard.

Tableau n° 2 : protéines constitutives du VIH1

Dénomination	Génome	Nature	Aspect en WB
gp160	env	Glycoprotéine précurseur de la gp120 et de la gp41	Bande nette
gp120	env	Glycoprotéine d'enveloppe	Bandes aux bords diffus
p68	pol	Transcriptase inverse	Bande nette
p55	gag	Précurseur des protéines internes	Doublet
p52	pol	Transcriptase inverse	Bande nette
gp41	env	Glycoprotéine transmembranaire	Bande diffuse
p40	gag	Précurseur des protéines internes	Bande nette
p34	pol	endonucléase	Bande nette
p25	gag	Protéine interne	Bande nette
p18	gag	Protéine interne	Parfois un doublet

f- NEW LAV BLOT VIH2 Sanofi Diagnostics Pasteur

Pour la détection des anticorps humains anti-VIH1 du sérum ou plasma. Test de confirmation.

- **Principe** : le test repose sur le principe de l'ELISA indirect sur bandelette de nitrocellulose contenant toutes les protéines constitutives du virus VIH1 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 p16 et permet de valider l'addition de l'échantillon, des réactifs et du bon déroulement du protocole opératoire.

Les protéines du virus HIV2 inactivé 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.

La mise en œuvre du test comprend les étapes suivantes :

*Réhydratation des bandelettes.

*Incubation des échantillons à confirmer ou des sérums de contrôle. Si des anticorps anti-VIH2 sont présents, ils se lient aux protéines virales reconnues présentes sur la bandelette.

*Après lavage on procède à l'incubation des anticorps anti-IgG humaines marqués à la phosphatase alcaline. Le conjugué se lie aux anticorps anti-VIH2 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 des bandes colorées spécifiques permet de mettre en évidence la présence d'anticorps anti-VIH2 dans le sérum.

- Mode opératoire :

*Éliminer le couvercle transparent du rack. S'assurer que la face des bandelettes comportant le trait de repère et la numérotation est visible afin que les protéines virales présentes sur cette face soient recouvertes par les différents réactifs tout au long de la manipulation.

Les bandelettes doivent être manipulées précautionneusement à l'aide d'une pince en plastique.

*Ajouter 2ml de solution de lavage-dilant reconstituée dans chaque compartiment. Incuber 5 minutes sous agitation lente.

*Ajouter 20 μ l de chaque échantillon ou sérum de contrôle dans le compartiment correspondant. Incuber 2 heures à température ambiante sous agitation lente.

*Aspirer entièrement le contenu de chaque compartiment. Laver 2 fois 5 minutes sous agitation lente, chaque bande avec 2ml de solution de lavage-diluant reconstituée. Éliminer la solution du dernier lavage.

*Distribuer 2ml de conjugué par compartiment. Incuber 1 heure à température ambiante sous agitation lente.

*Laver comme précédemment.

*Distribuer 2ml de solution de révélation par compartiment. Incuber sous agitation lente et surveiller l'apparition de la coloration.

Toutes les bandes correspondant aux protéines virales doivent être visualisées avec le sérum de contrôle positif. Temps d'incubation : environ 5 minutes.

*Arrêter la réaction en éliminant la solution de révélation et en rinçant les bandelettes 3 fois à l'eau distillée.

*Sécher les bandelettes entre deux feuilles de papier absorbant à température ambiante. Classer les bandelettes à l'aide du trait de repère et interpréter.

- **Validation et interprétation des résultats :** la bande de contrôle interne anti-IgG doit être présente avec une coloration forte, elle permet de valider l'addition de l'échantillon, des réactifs et du bon déroulement du protocole opératoire. L'absence ou la faible intensité de la 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.

S'aider du contrôle positif pour identifier les anticorps révélés et vérifier la présence de la bande du contrôle interne sur chaque bandelette.

Tableau n° 3 : Interprétation des résultats du New Lav Blot VIH2

Interprétations	Profils
Positif	env + gag + pol
Indéterminé	env + gag env + pol gag + pol gag pol env
Négatif	Aucune bande Bandes non répertoriées

Tableau n° 4 : Protéines constitutives du VIH2

Dénomination	Génomc	Nature	Aspect en W.B
gp140	env	Précurseur de la gp105 et de la gp36	Bande ± diffuse
gp105	env	Glycoprotéine d'enveloppe	Bande diffuse
p68	pol	Transcriptase inverse	Bande nette
p56	pol	Précurseurs des protéines internes	Bande nette
gp36	env	Glycoprotéine transmembranaire	Bande diffuse
p34	pol	Endonucléase	Bande nette
p26	gag	Protéine interne	Bande nette
p16	gag	Protéine interne	Bande

IV. 5- ANALYSES DES DONNEES

Les données ont été saisies et analysées sur le logiciel EPI-INFO version 6.04bfr. Nous avons utilisé le test du χ^2 (chi carré) pour les comparaisons. Le seuil de significativité a été fixé à 0,05. Le test de référence pour les comparaison était le WESTERN BLOT et nous avons calculé les VPP (Valeur Prédictive Positive) et VPN (Valeur Prédictive Négative) des différentes techniques selon la formule tirée du tableau de contingence suivant.

Tableau n° 5 : Comparaison d'un test B à un test A considéré comme référence.

Test A \ Test B	Positif	Négatif	Total
Positif	vp*	fp**	vp+fp
Négatif	fn***	vn****	fn+vn
Total	vp+fn	fp+vn	vp+fp+vn+fn

* **vp** : nombre de vrais positifs.

** **fp** : nombre de faux positifs.

*** **fn** : nombre de faux négatifs.

**** **vn** : nombre de vrais négatifs

$$\text{Sensibilité} = \frac{vp}{vp+fn}$$

$$\text{Spécificité} = \frac{vn}{fp+vn}$$

$$\text{V.P.P} = \frac{vp}{vp+fp}$$

$$\text{V.P.N} = \frac{vn}{fn+vn}$$

Sensibilité : c'est la probabilité que le résultat soit réactif chez un individu réellement infecté. Elle mesure la capacité du test à identifier la présence de la maladie.

Spécificité : c'est la probabilité que le résultat soit non réactif chez un individu réellement non infecté. Elle mesure la capacité du test à identifier l'absence de la maladie.

Valeur Prédictive Positive : Exprime la probabilité de la maladie si le test donne une réponse positive. Elle mesure la capacité de la stratégie diagnostique à correctement associer les résultats à la présence de la maladie.

Valeur Prédictive Négative : Exprime la probabilité de l'absence de la maladie si la réponse du test est négative. Elle mesure la capacité de la stratégie diagnostique à correctement associer les résultats négatifs à l'absence de la maladie.

V. RESULTATS

V. 1- RESULTATS GLOBAUX

Tableau n° 6 : Répartition des donneurs de sang en fonction du sexe.

Sexe	Effectif	Pourcentage
Masculin	13001	87,23
Féminin	1903	12,77
Total	14904	100

Il y'avait 87,23% d'homme et 12,77% de femme dans la population étudiée.
Le sexe ratio était de 6,8 en faveur des hommes.

Tableau n° 7 : Répartition des donneurs de sang selon l'âge.

Classes d'âge	18-25 ans	26-33 ans	34-41 ans	42-60 ans	Total
Effectif	5314	5452	2856	1282	14904
Pourcentage	35,65	36,58	19,16	8,61	100

Il y'avait 35,65% de donneurs âgés de 18-25 ans, 36,58% âgés de 26 à 33 ans, 19,16% âgés de 34 à 41% et 8,61% qui étaient âgés de 42 à 60 ans.
La majorité des donneurs était âgée de 18 à 33 ans (72,23%).

Tableau n° 8 : Distribution des donneurs de sang suivant le statut matrimonial.

Statut matrimonial	Effectif	Pourcentage
Mariés	5435	36,47
Célibataires	6287	42,18
Non précisé	3182	21,35
Total	14904	100

Notre échantillon était composé de 42,18% de célibataires et de 36,47 de mariés. Il y'avait 21,35 des donneurs dont le statut matrimonial était inconnu.

Tableau n° 9 : Répartition des donneurs de sang suivant la profession.

Profession	Effectif	Pourcentage
Elèves / Etudiants	2917	19,57
Commerçants	1849	12,41
Ménagères	1285	8,62
Fonctionnaires	12,85	8,62
Militaires	3204	21,50
Transporteurs	947	6,35
Autres*	3417	22,93
Total	14904	100

* Autres = donneurs de profession inconnue

Les élèves/étudiants et les militaires étaient les donneurs majoritaires par contre les ménagères et les fonctionnaires étaient les moins représentés.

Tableau n° 10 : Fréquence du VIH chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako.

Donneurs de sang	Effectif	Pourcentage
VIH -	14162	95,02
VIH +	742	4,98
Total	14904	100

La prévalence globale de l'infection par le VIH était de 4,98% dans la population de 14904 donneurs.

Tableau n° 11 : Distribution de la séroprévalence suivant la tranche d'âge.

Donneurs de sang	Classes d'âge				Total
	18-25 ans	26-33 ans	34-41 ans	42-60 ans	
HIV-	5004	5197	2728	1233	14162
HIV+	310	255	128	49	742
Prévalence	2,08	1,71	0,86	0,33	4,98

$$\chi^2 = 14,34$$

$$ddl = 3$$

$$p = 0,002$$

Les prévalences du VIH les plus élevées étaient observées chez les 18-25 ans et les 26-33 ans respectivement 2,8% et 1,71% ; par contre la plus faible a été retrouvée chez les 42-60 ans.

Tableau n° 12 :Distribution de la séroprévalence selon le statut matrimonial.

Donneurs de sang	Statut matrimonial			
	Célibataires	Mariés	Non précisé	Total
HIV-	5979	5227	2956	14162
HIV+	308	208	226	742
Prévalence	2,07	1,40	1,51	4,98

$$\chi^2 = 45,66 \quad \text{ddl} = 2 \quad p = 10^{-8}$$

La prévalence du VIH était plus élevée chez les célibataires 2,07% que les mariés (1,40%).

Tableau n° 13 : Distribution de la séroprévalence suivant la profession.

Profession	VIH-	VIH+	Prévalence %
Elèves/Etudiants	2841	76	0,51
Commerçants	1758	91	0,61
Ménagères	1196	89	0,60
Fonctionnaires	1234	51	0,34
Militaires	3045	159	1,07
Transporteurs	888	59	0,40
Autres*	3200	217	1,45
Total	14162	742	4,98

*Autres = donneurs de profession inconnue

$$\chi^2 = 64,55 \quad \text{ddl} = 6 \quad p = 10^{-8}$$

La prévalence de l'infection à VIH était plus élevée chez les militaires (1,07%) que les autres catégories socio-professionnelles. Les fonctionnaires étaient les moins atteints avec 0,34%.

Tableau n° 14: séroprévalence des anticorps dirigés contre les différentes protéines du VIH chez les donneurs et les malades.

Protéines	Donneurs		Malades	
	Nombre	Pourcentage	Nombre	Pourcentage
Anti-gp 160	19	86,86	21	95,45
Anti-gp 120	17	77,27	19	86,36
Anti-p68	17	77,27	19	86,36
Anti-p55	18	81,81	20	90,90
Anti-p52	16	72,72	18	81,81
Anti-gp 41	14	63,63	18	81,81
Anti-p34	19	86,36	19	86,36
Anti-p25	22	100	22	100
Anti-p18	20	90,90	15	68,18

Seuls les anticorps anti-p25 ont été constamment détectés chez les donneurs séropositifs et les malades du VIH.

V.2- COMPARAISON DES TECHNIQUES

Tableau n° 15 : Résultats des 50 échantillons de donneurs et de malades testés au Western Blot.

Population étudiée	Positifs	Négatifs	Indéterminés	Total
Donneurs	19	3	3	25
Malades	19	3	3	25

Le Western Blot a donné le même résultat chez les donneurs et les malades (19 cas positifs, 3 cas négatifs et 3 cas d'indéterminés)

Tableau n° 16 : Distribution des sérotypes de VIH chez les donneurs et les malades.

Population étudiée	Types de VIH				Total
	VIH1	VIH2	VIH1+VIH2	VIH1 gpc O	
Donneurs	15	2	2	0	19
Malades	19	0	0	0	19

Le VIH1 était le type de virus majoritairement rencontré chez les donneurs et les malades (respectivement 78,9% et 100%). Le VIH1 gpc O n'était ni chez les malades ni chez les donneurs. Seul le VIH1 est observé chez les malades.

Tableau n° 17 : Récapitulatif des résultats comparés des différents tests utilisés.

Tests utilisés	Positifs	Négatifs	Total
GENSCREEN Version 2	44	6	50
ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC	43	7	50
IMMUNOCOMBII	42	8	50
WESTERN BLOT	38	12	50

Le Genscreen version 2 a détecté plus de cas positifs que l'Ortho Clinical diagnostic qui a son tour a détecté plus de cas positifs que l'Immunocomb II. Le Western blot est le test qui a détecté le moins de cas positifs.

Tableau n° 18 : Sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positives et négatives du GENSCREEN version 2 par rapport au WB.

		Western Blot		
		Positif	Négatif	Total
Genscreen version 2	Positif	38	6	44
	Négatif	0	6	6
	Total	38	12	50

La sensibilité et la spécificité du GENSCREEN étaient respectivement 100% et 50% par rapport au WB. Ses VPP et VPN respectives étaient 86,36% et 100%.

Tableau n° 19 : Sensibilité , spécificité, valeurs prédictives positives et négatives de l'**ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC (OCD)** par rapport au WB.

		Western Blot		
		Positif	Négatif	Total
OCD	Positif	38	5	43
	Négatif	0	7	7
	Total	38	12	50

La sensibilité et la spécificité de l'OCD étaient respectivement 100% et 58,33% par rapport au WB ; ses VPP et VPN respectives étaient 88,37% et 100%.

Tableau n°20 : Sensibilité , spécificité, valeurs prédictives positives et négatives de l'**IMMUNOCOMB II (IC)** par rapport au WB.

		Western Blot		
		Positif	Négatif	Total
ImmunoCombII	Positif	38	4	42
	Négatif	0	8	8
	Total	38	12	50

La sensibilité et la spécificité de IC étaient respectivement 100% et 66,66% par rapport au WB. Ses VPP et VPN étaient 90,47% et 100%.

Tableau n° 21 Comparaison des valeurs diagnostiques des différents tests utilisés vis à vis du WESTERN BLOT.

Tests	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
GENSCREEN V2	100%	50%	86,36%	100%
ORTHO CLINICAL Diagnostic	100%	58,33%	88,37	100%
IMMUNOCOMB II	100%	66,66%	90,47%	100%

Les différents tests de dépistage utilisés ont les mêmes sensibilités et les mêmes valeurs prédictives négatives (100%) par rapport au Western Blot. Par contre l'IMMUNOCOMB II présente la spécificité la plus élevée (66,66%) et le GENSCREEN version 2 présente spécificité la plus faible (50%) vis à vis du Western Blot.

**VI. COMMENTAIRES
ET
DISCUSSION**

Nous avons entrepris cette étude dans le but de déterminer la séroprévalence du VIH dans la population des donneurs de sang au CNTS et d'évaluer les valeurs diagnostiques des techniques de dépistage disponibles actuellement au Mali.

L'enquête de séroprévalence a été prospective et exhaustive sur l'ensemble des donneurs vus au CNTS pendant un an (du 1^{er} novembre 2000 au 31 octobre 2001). La comparaison des techniques de dépistage a porté sur 50 échantillons (25 donneurs et 25 malades) pris au hasard parmi les séropositifs dépistés par un test de première intention (Genelavia Mixt Sanofi Diagnostic Pasteur).

VI.1 - RESULTATS GLOBAUX :

Cette étude nous a montré que le nombre de donneurs de sang a augmenté par rapport aux années précédentes. En effet, nous avons obtenu 14904 donneurs au total alors qu'en 1993, 1997 et 1998, il y'avait eu respectivement 6915, 9385 et 10000 dons de sangs [67,29, 23]. Cette augmentation sensible du nombre de dons de sang s'explique par la campagne de sensibilisation effectuées par le CNTS en collaboration avec l'Association des Donneurs Bénévoles de Sang (ADBS). Elle permet de couvrir en grande partie les besoins en produits sanguins des structures sanitaires de Bamako.

VI.1.1- Répartition des donneurs de sang suivant le sexe

Les donneurs de sexe masculin sont les plus représentés. Il y'avait en effet 87,23% de donneurs de sexe masculin contre 12,77% de donneurs de sexe féminin (Tableau n°6). Ce écart s'explique en grande partie par les contre-indications du don de sang chez les femmes (les femmes enceintes, allaitantes ou en menstruation ne doivent pas donner de 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 6,83 par contre Kiemtoré a eu un sexe ratio Homme/Femme de 8,37 en 1997 [29] ; et Kimba Harouna 8,22 en 1998 [23].

VI.1.2- Prévalence du VIH chez les donneurs de sang

Le tableau n° 10 nous montre que sur les 14904 échantillons, nous avons une prévalence de 4,98%. Ce taux est largement supérieur au taux national de 1,7% donné par l'EDS III (Enquête Démographique et de Santé III).

Cette différence est due probablement au mode d'échantillonnage utilisé dans les deux études. L'enquête de l'EDS 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 donneurs volontaires et réguliers chez qui la prévalence est très faible sont très peu nombreux. La prévalence de 4,98% pourrait diminuer si l'on parvient à sensibiliser et à fidéliser le maximum de donneurs pour des dons volontaires et réguliers. C'est pourquoi il est indispensable de renforcer la politique de fidélisation des donneurs de sang bénévoles.

Le taux de 4,98% observé est cependant comparable à celui obtenu par Sissoko Z. (4,7%) en 1993 [56] et Diarra K. en 1991 au CNTS (5,3%) [18]. Par contre Kiemtoré dans son étude toujours au CNTS avait décrit une prévalence de 3,48% en 1998.

Les résultats obtenus dans centres de transfusion des pays environnants sont variables. Ainsi au Togo l'étude de Gaba Joelle a révélé une fréquence de 5,66 à la banque de sang de Lomé [20]. Une prévalence de 8% a été trouvée au Burkina Faso [49] et en Centrafrique [21]. Des prévalences plus faibles ont été décrites au Sénégal et en Guinée avec respectivement 0,56% et 0,84% en 1994 [5,30]. La Guinée et le Sénégal sont 2 pays où les donneurs de sang sont

majoritairement volontaires et réguliers. Par contre le Togo et le Burkina Faso sont des pays où le don est beaucoup plus occasionnel.

VI.1.3- Répartition des donneurs suivant l'âge

Le tableau n° 7 montre que la tranche d'âge 26-33 ans contient le plus grand nombre de donneurs avec 36,58% des dons. Ceci s'explique par le fait que la politique de collecte du CNTS est basée principalement sur les collectes mobiles qui ont lieu majoritairement dans les établissements scolaires et les garnisons. Dans ces deux types de structure la population est essentiellement jeune. En plus cette tranche d'âge est beaucoup plus disposé et volontaire à donner du sang.

VI.1.4-Sérologie et âge des donneurs :

La tranche d'âge 18-25 ans est la plus touchée par l'infection à VIH avec 2,08% (Tableau n°11). Cela peut s'expliquer par le fait que cette classe d'âge est constituée de jeunes qui est la population cible de l'infection à VIH. Les tranches d'âge les plus touchées sont variables d'une étude à l'autre[23,67]. Toutes fois nombre d'études ont montré que la tranche d'âge de 14 à 34 ans est la plus touchée [60].

VI.1.5-Distribution des donneurs de sang suivant le statut matrimonial et séroprévalence du VIH.

Il y'avait 42,18% de célibataires et 36,47% de mariés déclarés. Toutes fois le nombre élevé de donneurs de sang dont le statut matrimonial n'est pas précisé nous empêche d'effectuer une analyse avec cette donnée. Nous pouvons indiquer que la prévalence du VIH était de 2,07% chez les célibataires et 1,40% chez les mariés (tableau n° 12). Ceci est comparable aux observations de Kimba Harouna qui a eu 3,36% de séroprévalence chez les mariés et 2,28% chez les célibataires en 1998.

VI.1.6- Distribution des donneurs de sang suivant la profession :

Les militaires constituent les plus grands donneurs du CNTS (tableau n° 9) avec 21,50%, ensuite viennent les élèves et étudiants avec 19,57%, puis les commerçants avec 12,41%, les ménagères représentent 8,62% tandis que les transporteurs occupent 6,35%. Ceci tient au fait que la collecte a lieu plus souvent dans les casernes et les établissements scolaires. Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par Kimba Harouna : militaires (20,1%) ; élèves et étudiants (18,3%) ; Commerçants (13%) ; ménagères (7%).

VI.1.7- Séropositivité et profession chez les donneurs de sang.

Le tableau n° 13 montre que les militaires sont les plus infectés avec 1,07%, ensuite viennent les commerçants et les ménagères avec respectivement 0,61% et 0,60%. Les élèves et étudiants sont les moins touchés avec 0,51%, cela est probablement le résultat des programmes de sensibilisation effectués sur le VIH/SIDA.

VI.1.8- Distribution des types de VIH chez les malades et les donneurs de sang. Le tableau n°16 nous montre que sur les 19 échantillons positifs des donneurs, 15 sont VIH1 ; 2 sont VIH2 et 2 sont VIH1+VIH2, tandis que chez les malades tous les 19 échantillons positifs sont VIH1.

L'absence de VIH2 chez nos malades pourrait être due à la taille de l'échantillon mais aussi au temps de latence très long du VIH2 par rapport au VIH1 [4, 11], en effet une personne infectée par le VIH2 peut vivre beaucoup plus longtemps sans présenter de signes cliniques du SIDA qu'une personne infectée par le VIH1. Bien que ELOUOU NKA dans son étude ait décrit la présence du VIH1 groupe 0, nous ne l'avons pas rencontré au cours de ce travail. Ceci pourrait s'expliquer par le nombre faible de WB effectué.

VI.1.9- Séroprévalence des anticorps dirigés contre les différentes protéines du VIH. Le tableau n° 14 montre que la protéine P25 est détectée chez 100% des donneurs et des malades à sérologie VIH positive, tandis que la GP160 est détectée chez 95,45% des malades et 86,86% des donneurs ; dans les deux populations la P34 est détectée chez 86,36%.

Les GP120 et GP41 ont été respectivement de 86,36% et 81,81% chez les malades contre 77,27% et 63,63% chez les donneurs.

En 1991, lors d'une étude menée sur des échantillons de malades Soumountera [58] a détecté la P25 et la GP160 chez 100%, la P34 et la GP120 chez 87,5% et la GP41 chez 57,5%.

VI.2 –COMPARAISON DES TESTS DE DEPISTAGE

La comparaison a porté sur 50 échantillons (25 donneurs et 25 malades) et concerné 4 techniques : Western Blot, Genscreen version 2, Ortho Clinical Diagnostic, ImmunoComb II. Le Western Blot a été utilisée comme la technique de référence car il constitue le test de confirmation du portage VIH. Cette étude nous a montré que le GENSCREEN version 2, l'ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC et l'IMMUNOCOMB II ont la même sensibilité (100%) et la même VPN (100%) par rapport au WESTERN BLOT (Tableau n° 21). Ces deux techniques GENSCREEN version 2 et l'ORTHO CLINICAL DIAGNOSTIC sont moins spécifiques (respectivement 50% et 58,33%) que l'IMMUNOCOMB II (66,66%) qui est un test rapide. Ces 3 technique qui sont des tests ELISA sont généralement de grande sensibilité et de faibles spécificité.

Ces résultats sont comparables à ceux de Joelle [20]. Ces résultats sont également comparables à ceux donnés par l'ONUSIDA et l'OMS sur le GENSCREEN version 2 : VPN (100%) et VPP (80,97%) [62].

Parmi nos techniques utilisées, l'IMMUNOCOMB II constitue le test le plus spécifique avec 66,66% et le GENSCREEN version 2 est le test le moins spécifique avec 50% par rapport au Western Blot.

**VII. CONCLUSION
ET
RECOMMANDATIONS**

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

- La majorité des dons de sang est constituée par des dons occasionnels ; les dons volontaires et réguliers sont peu fréquents ;
- Les hommes donnent plus leur sang que les femmes ;
- La fréquence de l'infection par le VIH est plus élevée dans la population des donneurs du CNTS;
- Les VIH 1 et 2 sont rencontrés chez les donneurs avec une nette prédominance du VIH1.
- Le VIH1 est beaucoup plus fréquent chez nos malades de SIDA que le VIH2.
- Les tests de dépistages comparés présentent les mêmes sensibilité cependant l'ImmunoComb II est le plus spécifique.

Au regard des nos résultats et conclusions, nous pouvons formuler les recommandations suivantes :

Aux autorités sanitaires

- 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.
 - Renforcer les capacités diagnostiques du CNTS en le dotant de matériels et réactifs de dépistage du VIH appropriés.
-

Au CNTS

- Intensifier les sorties de l'équipe mobile vers les établissements scolaires, les services publics et les casernes en attendant la fidélisation massive des donateurs de sang.
- Créer une antenne de concelling au sein du CNTS pour l'annonce des résultats.
- Améliorer le support de données pour permettre leur bonne exploitation.

Aux prescripteurs de produits sanguins

- Limiter les prescriptions de sang aux seuls cas nécessitant une transfusion sanguine.
 - Promouvoir l'autotransfusion.
 - Pour les interventions programmées nécessitant une transfusion, prescrire le bon de sang à l'avance.
-

VIII. BIBLIOGRAPHIE

1. ANDRE SIBOULET, JEAN PIERRE COULAUD.

Maladies sexuellement transmissibles. 2^e édition Masson 1991 ; 201-204

2. ALIZON M, CLAVEL F.

Les VIH, de la découverte à leur analyse moléculaire. In Sida et infection par le VIH. Sciences Flammarion. Paris 1989, 91-107

3. BARRE SINOUSI F.

Les VIH, rappel virologique, Impact Médecine Guide Sida, 1997.

4. BARRE SINOUSI F, CIERMANN J et REY F.

Isolation of a T. Lymphotropic rétrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency Syndrome (AIDS). Science 1983. 220, 868-871.

5. BOYELDIEU D, THIAM D et DIAKHATE L.

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

6. BRUN VEZINET F.

Méthodes diagnostiques de l'infection par le VIH in Medecine Sciences Flammarion de LUC MONTAGNIER, W. ROZENBAUM et al 1989

7. BUONAGURO I, CAUDIO et MONACO M.

Heteroduplex, mobility assay and phylogenetic analysis of V3 region sequences of human Immunodeficiency virus type-1 isolates from Norther Uganda, Journal of viral methods, 1995.

8. CHEINGSONG-POPOV R, LISTER S et CALLOW D.

serotyping HIV type-1 by antibody binding to the V3 loop : relation-ship to viral genotype AIDS. Research Human Retrovirus 1994.

9. CHIEZE F.

Aspects biomédicaux du Sida en Afrique in population africaine et Sida Vallin J, Auvert B (eds) ; Flammarion, Paris, 1994,34-46.

10. CHOUDHURYN, AYAGIRIA, RAY V L

True HIV séroprevalence in Indian blood donors1 : Transfus med 2000 mar ; 10(1) : 1-4.

11. CLAVEL F, GUETARD D, BRUN F et VEZINET.

Isolation of a new human retrovirus from west Africa patients with AIDS Science 1986, 233, 343-346.

12. CONSTANTINE N T.

Serological tests for the retroviruses : approaching a decade of evolution. AIDS ; 1993 ; 7 : 1-13.

13. DELAPORTE L, JANSSENS W et PEETERS M, et al

Epidemiological and molecular characteristics of HIV infection in Gabon 1986-1994. AIDS 1996.

14. DENIS F, M'BOUP S, SANGARE A, LEONARD G, VERDIER M et RANGER S.

Les virus de l'immunodéficience humaine. Structure, organisation génétique, réplication. In Sida, Infection à VIH : aspect en zone tropicale. Rosenheim. M, Itoua. N (eds) . Paris ; Ellipses, 1989 ; 12-34.

15. DESMARAIS E, VIGNERON S, BURESI C et ROIZES G.

Détection du polymorphisme dans l'ADN. Applications en Biologie et Médecine Diagnostique, Epidémiologie, et Pronostique. Paris: INSERM, 1995 : 65-67.

16. DEVILLE CHABROLE A, AGUT H.

Diagnostic biologique de l'infection à VIH. In le Sida, infection à VIH. Aspects en zone tropicale, Rosenheim. M, Itoua. N (eds). Paris, Ellipses 1989 ; 35-45.

17. DEVILLE CHABROLLE A, AGUT H.

Sida : infection à VIH aspect en zone tropicale Ellipses de Marc Gentilini 1989.

18. DIARRA K.

Contribution à l'étude de la seroprévalence de l'infection à VIH au CNTS de Bamako de Juillet 1989 en juin 1991.
Thèse Méd. 1992 ; Bamako ; Mali.

19. FASSIN D.

Le Sida dans le monde vers une prise en charge globale. Développement et santé février 1996.

20. GABA DEDE JPM.

Evaluation des performances de 8 tests de dépistage du VIH utilisés au Togo.
Thèse Pharm 2001; Bamako; Mali.

21. GEORGES COURBOT M C.

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

22. GOUGEON MM

Activation anormale du système immunitaire au cours de l'infection par le VIH : la mort programmée des lymphocytes.

Rapport Ve conférence d'actualité sur les rétrovirus et les hépatites virales, Paris, nov. 1991

23. KIMBA H.

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

Thèse Pharm. 1999; Bamako; Mali.

24. HEYNDRICKX L, JANSSENS W et ALARY M.

Genetic variability of HIV type-1 in Benin. *AIDS Research Human Retrovirus*, 1996

25. JANSSENS W, HEYNDRICKX L et VAN DE PETER Y.

Molecular phylogeny of part of the env gene of HIV-1 strains isolated in Ivory Coast. *AIDS* 1994.

26. Journal SCIENCE et VIE Hors Série :

Dossier SIDA n° 179 juin 1992 : 22-37

27. KEATING JA, WILLEY RL.

Structure and function on the HIV envelope, AIDS 1989

28. KESTEN L, CANHAM G.

Virologie et immunologie in developpement et santé. Février 1996; 121: 10-14.

29. KIEMTORE PMNG.

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

Thèse Pharm. 1998; Bamako; Mali.

30. KOUROUMA K.

La transfusion sanguine en Guinée (CNTS Guinée) en 1994.

In SIDA alerte mai 1995 ; 43 : 27-28.

31. LEITNER T, ALAEUS A, MARQUINA S.

Yet another subtype of HIV type1. AIDS Res. Hum. Retrovirus 1995.

32. LUC MONTAGNIER, WILLY ROZENBAUM, JEAN GLUCKMAN

Paris, Flammarion 1989. 190-202

33. LUO C, DOWNING R, DE LA LORRE N.

The evaluation of probe hybridization method used for the large scale screening of distribution of HIV in Uganda. XI International Conference on AIDS. Vancouver, July 1996.

34. MARLEEN V, DECOURT J L et ROBERT D.

Genomic doing and complete sequence analysis of a highly divergent African human immunodeficiency virus isolate. *J R viral*, 1994, 68 (3), 1586-1596.

35. MOORE J P, RAPA P.

The role of the V3 loop of gp120 in HIV infection *AIDS* 1991, 5, 21-33

36. MYERS G, KORBER B, WAIN-HOBSON S.

Human retrovirus. *AIDS* 1994.

37. NIEL TC, DOUGLAS M W et JOHNY D.

Dépistage et contrôle de qualité. Guide du personnel de laboratoire. *AIDS Tech* 1991.

38. OMS

Dépistage du VIH et d'autres agents infectieux. Module 2.

39. ONUSIDA/OMS.

Le point sur l'épidémie du SIDA ; Decembre 1999 ; 3-5 p.

40. PEETERS M, M'BOUP S et GUEYE A.

Geographical distribution of HIV-1 groupe O viruses in Africa. *AIS*, 1997.

41. PEETERS M, KOUMARE B, MULANGA C.

Genetic subtypes of HIV type 1 and HIV type 2 strains in commercial sex workers from Bamako. Mali. *AIDS. Research and Human retroviruses* 1998 ; **14** : 51-58.

42. PIOT P, CARAEL M.

Epidémiologie du Sida et de l'infection à VIH en Afrique. In médecine-sciences, Flammarion de Luc Montagnier et al, 1989 : 19-28.

43. RAFI F.

Infection à VIH, épidémiologie, dépistage, prévention, principe. Revue du praticien, 1997 ; 47 : 1347-55.

44. RAPPORTS D'ACTIVITES DU PNL**45. ROBERT R, DONALD B.**

Les manifestations cliniques du SIDA.. In SIDA, Luc Montagnier, R Gallot (Eds), Bibliothèque pour la science Paris 1989. 67-76.

46. ROUZIOUX C.

Détection des anticorps spécifiques dans le Sida et infection à VIH in médecine Sciences, Flammarion de Luc Montagnier et coll.

47. ROZENHEIM M, ITOUA N'GAPORO. A

Sida infection à VIH. Aspect en zone tropicale. Ellipses- Aupelf. Paris 1989 ; 35-45

48. KONATE S.

Etude préliminaire sur l'activité d'un médicament à base de plante pour la prise en charge des sujets VIH positifs. Thèse de Pharmacie 1999.

49. SANGARE L, MEDAN.

Infection a mong pregnant women in Burkina Faso a nation wide serosurvey in International journal of STD and AIDS 1997 ; 8(10) 646-651.

50. SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR

Genelavia Mixt : Screening kit for the detection of antibodies to HIV-1 and HIV-2 in sérum/plasma by enzyme immuno assay.

51. SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR

Genscreen HIV 1/2 : Screening kit for the détection of antibodies to HIV-1 and HIV-2 in Sérum/plasma by enzyme immuno assay.

52. SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR

NEW LAV BLOT I : For the detection of human anti-HIV1 antibodies in serum/plasma. Confirmatory kit.

53. SANOFI DIAGNOSTICS PASTEUR

NEW LAV BLOT II : For the detection of human anti-HIV2 antibodies in serum/plasma.

54. SPIRE B, SIRE J.

Biologie moléculaire du VIH. In Sida 1989. Paris 1989. 19-25

55. SONGOK FM, UBONDO DK et ROTICH MC.

surveillance for HIV-1 subtypes O and M in Kenya. Lancet 1996

56. SISSOKO Z

Etude de la seroprévalence des infections dues au VIH au Mali.

Thèse Méd. 1993; Bamako; Mali.

57. SOUMOUNTERA A.

Infections dues aux virus de l'immunodéficience humaine (HIV) au Mali, bilan de deux années de dépistage par le service de séro-épidémiologie de l'INRSP.

Thèse Pharm. 1991; Bamako; Mali.

58. TAKEHISA J, ZEKENG I et MIURA T.

Phylogenetic analysis of HIV-1/2 in Cameroun based on the pol and env regions ; Evidence of mixt infection. XI International conference on AIDS Vancouver. July 1996.

59. TRIQUES K, DELAPORTE E.

Diversité génétique du VIH. Impact sur le diagnostic moléculaire et variabilité intra-patient 1999.12.108 P.

60. 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.

61. VACOM F.

Sida : voie de transmission et épidémiologie. Cong. Med. 1989 ; 111(12) : 997-1000.

62. WEBER B, BEHRENS N, DOERR HW.

Detection of human immunodeficiency virus type 1 and 2 antibodies by a new automated microparticule immunoassay. Virol Methods, 1997 ; **42** : 137-147.

63. WEBER J, WEISS R.

Le virus du Sida et ses cibles, in le Sida. Montagnier L, Gallo R (eds)
Bibliothèque pour science, Paris 1989 ; 78-87.

64. WILLIAMSON C, ENGELBRECHT S, VAN HARMELEN J.

Distinct HIV-1 subtypes associated with different risk groups in South Africa. XI International conference on AIDS, Vancouver. July 1996

65. WILIAM H, FLOSSIE WS

La génétique du virus du Sida, in le Sida. Luc Montagnier, Gallot R (Eds).
Bibliothèque pour la science Paris 1989, 19-32

66. ZACHAR V, Custin AS, ZACHAROVA V.

Genetic polymorphism on envelope V3 region of HIV type-1 subtype A, C and D from Nairobi and Kenya. AIDS Research Human Retrovirus 1996

67. ZAKARIA S.

Dépistage du VIH au CNTS de Bamako de 1993 à 1999.
Thèse Pharm. 2001; Bamako; Mali.

ANNEXES

FICHE SIGNALÉTIQUE

Nom : TRAORE

Prénom : BOURAMA

Titre de la thèse : Résultats épidémiologiques de l'utilisation de quatre techniques de dépistage du VIH au CNTS de Bamako.

Année : 2002.

Pays d'origine : Mali.

Ville de soutenance : Bamako.

Lieu de dépôt : Bibliothèque de la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie.

Secteur d'intérêt : Transfusion sanguine, Virologie.

Résumé : Du 1^{er} Novembre 2000 au 31 Octobre 2001, nous avons mené une enquête séroépidémiologique de l'infection à VIH chez les donneurs de sang au CNTS de Bamako avec comparaison de quatre techniques de sérodiagnostic du VIH. Cette étude nous a montré que le nombre de sang a augmenté par rapport aux années précédentes et que les hommes donnent plus souvent leur sang que les femmes. Le taux de prévalence du VIH chez les donneurs de sang du CNTS a été de 4,98%. Dans notre étude, nous n'avons pas eu de profil de Western Blot faisant évoquer le VIH1 groupe O.

Parmi les techniques utilisées, c'est l'IMMUNOCOMB II qui s'est révélé le test le plus spécifique par rapport au WESTERN BLOT.

Mots clés : VIH, Donneurs de sang, Comparaison des techniques.

FICHE INDIVIDUELLE D'ENQUETE

N°.....

Date.....

Nom.....

Prénom.....

Age.....

Sexe.....

Profession.....

Adresse.....

Nombre de don de sang.....

Date du dernier don..... ou début de la maladie.....

Motif du don de sang

- 1- Don volontaire et bénévole au CNTS
- 2- Don volontaire et bénévole lors d'une collecte par l'équipe mobile
- 3- Don pour secourir un parent malade
- 4- Don dans le but de connaître sa sérologie VIH, HBs ou autres.

SERMENT DE GALIEN

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

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

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

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

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

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

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