

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

République du Mali
Un Peuple - Un Statut - Une Foi



Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS)

Année Universitaire 2009 - 2010

Thèse N°...../P

TITRE

**Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au
laboratoire du CHU Gabriel Touré.**

THESE

Présentée et soutenue publiquement le 02 / 12 / 2009

devant la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (F.M.P.O.S.)

pour obtenir le grade de Docteur en Pharmacie

(Diplôme d'Etat)

par

TRAORE Mohamed dit Sarmoye

JURY

Président

Pr Elimane MARIKO

Juges

Pr Soukalo DAO

Dr Samba Adama SANGARE

Co- directeur de thèse

Dr Souleymane DIALLO

Directeur de thèse

Pr Flabou BOUGODOGO

FACULTE DE MEDECINE, DE PHARMACIE ET D'ODONTO-STOMATOLOGIE
ANNEE UNIVERSITAIRE 2009 - 2010

ADMINISTRATION

DOYEN : ANATOLE TOUNKARA - PROFESSEUR
 1^{er} ASSESSEUR : DRISSA DIALLO - MAITRE DE CONFERENCES
 2^{eme} ASSESSEUR : SEKOU SIDIBE - MAITRE DE CONFERENCES
 SECRETAIRE PRINCIPAL : YENIMEGUE ALBERT DEMBELE - PROFESSEUR
 AGENT COMPTABLE : MADAME COULIBALY FATOUMATA TALL - CONTROLEUR DES FINANCES

LES PROFESSEURS HONORAIRES

Mr Alou BA	Ophthalmologie
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 Ali Nouhoum DIALLO	Médecine interne
Mr Aly GUINDO	Gastro-Entérologie
Mr Mamadou M. KEITA	Pédiatrie
Mr Siné BAYO	Anatomie-Pathologie-Histoembryologie
Mr Sidi Yaya SIMAGA	Santé Publique
Mr Abdoulaye Ag RHALY	Médecine Interne
Mr Boukassoum HAIDARA	Législation
Mr Boubacar Sidiki CISSE	Toxicologie
Mr Massa SANOGO	Chimie Analytique
Mr Sambou SOUMARE	Chirurgie Générale
Mr Sanoussi KONATE	Santé Publique

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 Abdou Alassane TOURE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Kalilou OUATTARA	Urologie
Mr Amadou DOLO	Gynéco Obstétrique
Mr Alhousseini Ag MOHAMED	O.R.L.
Mme SY Assitan SOW	Gynéco-Obstétrique
Mr Salif DIAKITE	Gynéco-Obstétrique
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie – Réanimation (en détachement)
Mr Djibril SANGARE	Chirurgie Générale, Chef de D.E.R
Mr Abdel Kader TRAORE Dit DIOP	Chirurgie Générale
Mr Gangaly DIALLO	Chirurgie Viscérale

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Abdoulaye DIALLO	Ophthalmologie
Mr. Mamadou TRAORE	Gynéco-Obstétrique
Mr Filifing SISSOKO	Chirurgie Générale
Mr Sékou SIDIBE	Orthopédie: Traumatologie
Mr Abdoulaye DIALLO	Anesthésie - Réanimation
Mr Tiéman COULIBALY	Orthopédie Traumatologie
Mme TRAORE J. THOMAS	Ophthalmologie
Mr Mamadou L. DIOMBANA	Stomatologie
Mme DIALLO Fatimata S. DIABATE	Gynéco-Obstétrique (en détachement)
Mr Nouhoum ONGOIBA	Anatomie & Chirurgie Générale
Mr Sadio YENA	Chirurgie Thoracique
Mr Youssouf COULIBALY	Anesthésie – Réanimation
Mr Zimogo Zié SANOGO	Chirurgie Générale

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Issa. DIARRA	Gynéco-Obstétrique
Mr Samba Karim TIMBO	ORL
Mme TOGOLA Fanta KONIPO	ORL
Mme Diénéba DOUMBIA	Anesthésie/Réanimation
Mr Zanafon OUATTARA	Urologie
Mr Adama SANGARE	Orthopédie - Traumatologie
Mr Saïoussi BAMANI	Ophtalmologie
Mr Doulaye SACKO	Ophtalmologie (en détachement)
Mr Ibrahim ALWATA	Orthopédie - Traumatologie
Mr Lamine TRAORE	Ophtalmologie
Mr Mady MACALOU	Orthopédie/Traumatologie
Mr Aly TEMBELY	Urologie
Mr Niani MOUNKORO	Gynécologie/Obstétrique
Mr Tiemoko D. COULIBALY	Odontologie
Mr Souleymane TOGORA	Odontologie
Mr Mohamed KEITA	ORL
Mr Bouraïma MAIGA	Gynéco/Obstétrique
Mr Youssouf SOW	Chirurgie Générale
Mr Djibo Mahamane DIANGO	Anesthésie-réanimation
Mr Moustapha TOURE	Gynécologie
Mr Mamadou DIARRA	Ophtalmologie
Mr Boubacary GUINDO	ORL
Mr Moussa Abdoulaye OUATTARA	Chirurgie Générale
Mr Birama TOGOLA	Chirurgie Générale
Mr Bréhima COULIBALY	Chirurgie Générale
Mr Adama Konoba KOITA	Chirurgie Générale
Mr Adégné TOGO	Chirurgie Générale
Mr Lassana KANTE	Chirurgie Générale
Mr Mamby KEITA	Chirurgie Pédiatrique
Mr Hamady TRAORE	Odonto-Stomatologie
Mme KEITA Fatoumata SYLLA	Ophtalmologie
Mr Drissa KANIKOMO	Neuro Chirurgie
Mme Kadiatou SINGARE	ORL-Rhino-Laryngologie
Mr Nouhoum DIANI	Anesthésie-Réanimation
Mr Aladji Seydou DEMBELE	Anesthésie-Réanimation
Mr Ibrahima TEGUETE	Gynécologie/Obstétrique
Mr Youssouf TRAORE	Gynécologie/Obstétrique
Mr Lamine Mamadou DIAKITE	Urologie
Mme Fadima Koréissy TALL	Anesthésie Réanimation
Mr Mohamed KEITA	Anesthésie Réanimation
Mr Broulaye Massaoulé SAMAKE	Anesthésie Réanimation
Mr Yacaria COULIBALY	Chirurgie Pédiatrique
Mr Seydou TOGO	Chirurgie Thoracique et Cardio Vasculaire
Mr Tioukany THERA	Gynécologie
Mr Oumar DIALLO	Neurochirurgie
Mr Boubacar BA	Odontostomatologie
Mme Assiatou SIMAGA	Ophtalmologie
Mr Seydou BAKAYOKO	Ophtalmologie
Mr Sidi Mohamed COULIBALY	Ophtalmologie
Mr Japhet Pobanou THERA	Ophtalmologie
Mr Adam GUINDO	Ophtalmologie
Mme Fatimata KONANDJI	Ophtalmologie
Mr Hamidou Baba SACKO	ORL
Mr Siaka SOUMAORO	ORL
Mr Honoré Jean Gabriel BERTHE	Urologie
Mr Drissa TRAORE	Chirurgie Générale
Mr Bakary Tientigui DEMBELE	Chirurgie Générale
Mr Koniba KEITA	Chirurgie Générale
Mr Sidiki KEITA	Chirurgie Générale
Mr Soumaïla KEITA	Chirurgie Générale
Mr Alhassane TRAORE	Chirurgie Générale

D.E.R. DE SCIENCES FONDAMENTALES

1. PROFESSEURS

Mr Daouda DIALLO
Mr Amadou DIALLO
Mr Moussa HARAMA
Mr Ogobara DOUMBO
Mr Yénimégué Albert DEMBELE
Mr Anatole TOUNKARA
Mr Bakary M. CISSE
Mr Abdourahamane S. MAIGA
Mr Adama DIARRA
Mr Mamadou KONE

Chimie Générale & Minérale
Biologie
Chimie Organique
Parasitologie – Mycologie
Chimie Organique
Immunologie
Biochimie
Parasitologie
Physiologie
Physiologie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Amadou TOURE
Mr Flabou BOUGOUDOGO
Mr Amagana DOLO
Mr Mahamadou CISSE
Mr Sékou F.M. TRAORE
Mr Abdoulaye DABO
Mr Ibrahim I. MAIGA
Mr Mahamadou A. THERA
Mr Moussa Issa DIARRA

Histoembryologie
Bactériologie-Virologie
Parasitologie **Chef de D.E.R.**
Biologie
Entomologie Médicale
Malacologie, Biologie Animale
Bactériologie – Virologie
Parasitologie -Mycologie
Biophysique

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Lassana DOUMBIA
Mr Mounirou BABY
Mr Kaourou DOUCOURE
Mr Bouréma KOURIBA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Cheik Bougadari TRAORE
Mr Guimogo DOLO
Mr Mouctar DIALLO
Mr Abdoulaye TOURE
Mr Boubacar TRAORE
Mr Djibril SANGARE
Mr Mahamadou DIAKITE
Mr Bakarou KAMATE
Mr Bakary MAIGA
Mr Bokary Y. SACKO

Chimie Organique
Hématologie
Biologie
Immunologie
Bactériologie-Virologie
Anatomie-Pathologie
Entomologie Moléculaire Médicale
Biologie Parasitologie
Entomologie Moléculaire Médicale
Parasitologie Mycologie
Entomologie Moléculaire Médicale
Immunologie – Génétique
Anatomie Pathologie
Immunologie
Biochimie

4. ASSISTANTS

Mr Mangara M. BAGAYOGO
Mr Mamadou BA
Mr Moussa FANE
Mr Blaise DACKOUCO
Mr Aldiouma GUINDO

Entomologie Moléculaire Médicale
Biologie, Parasitologie Entomologie Médicale
Parasitologie Entomologie
Chimie Analytique
Hématologie

D.E.R. DE MEDECINE ET SPECIALITES MEDICALES

1. PROFESSEURS

Mr Mamadou K. TOURE
Mr Mahamane MAIGA
Mr Baba KOUMARE
Mr Moussa TRAORE
Mr Issa TRAORE
Mr Hamar A. TRAORE
Mr Dapa Aly DIALLO
Mr Moussa Y. MAIGA
Mr Somita KEITA
Mr Boubakar DIALLO
Mr Toumani SIDIBE

Cardiologie
Néphrologie
Psychiatrie, **Chef de DER**
Neurologie
Radiologie
Médecine Inteme
Hématologie
Gastro-entérologie – Hépatologie
Dermato-Léprologie
Cardiologie
Pédiatrie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Bah KEITA
Mr Abdel Kader TRAORE
Mr Siaka SIDIBE
Mr Mamadou DEMBELE
Mr Mamady KANE
Mr Saharé FONGORO
Mr Bakoroba COULIBALY
Mr Bou DIAKITE
Mr Bougouzié SANOGO
Mme SIDIBE Assa TRAORE
Mr Adama D. KEITA
Mr Sounkalo DAO
Mme TRAORE Mariam SYLLA
Mr Daouda K. MINTA

Pneumo-Phtisiologie (en détachement)
Médecine Interne
Radiologie
Médecine Interne
Radiologie
Néphrologie
Psychiatrie
Psychiatrie
Gastro-entérologie
Endocrinologie
Radiologie
Maladies Infectieuses
Pédiatrie
Maladies Infectieuses

3. MAITRES ASSISTANTS

Mme Habibatou DIAWARA
Mr Kassoum SANOGO
Mr Seydou DIAKITE
Mr Arouna TOGORA
Mme KAYA Assétou SOUCKO
Mr Boubacar TOGO
Mr Mahamadou TOURE
Mr Idrissa A. CISSE
Mr Mamadou B. DIARRA
Mr Anselme KONATE
Mr Moussa T. DIARRA
Mr Souleymane DIALLO
Mr Souleymane COULIBALY
Mr Cheick Oumar GUINTO
Mr Mahamadoun GUINDO
Mr Ousmane FAYE
Mr Yacouba TOLOBA
Mme Fatoumata DICKO
Mr Boubacar DIALLO
Mr Youssoufa Mamoudou MAIGA
Mr Modibo SISSOKO
Mr Ilo Bella DIALL
Mr Mahamadou DIALLO
Mr Adama Aguisa DICKO
Mr Abdoul Aziz DIAKITE
Mr Boubacar dit Fassara SISSOKO
Mr Salia COULIBALY
Mr Ichaka MENTA
Mr Souleymane COULIBALY

Dermatologie
Cardiologie
Cardiologie
Psychiatrie
Médecine Interne
Pédiatrie
Radiologie
Dermatologie
Cardiologie
Hépatogastro-entérologie
Hépatogastro-entérologie
Pneumologie
Psychologie
Neurologie
Radiologie
Dermatologie
Pneumo-Phtisiologie
Pédiatrie
Médecine Interne
Neurologie
Psychiatrie
Cardiologie
Radiologie
Dermatologie
Pédiatrie
Pneumologie
Radiologie
Cardiologie
Cardiologie

D.E.R. DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

1. PROFESSEURS

Mr Gaoussou KANOUTE
Mr Ousmane DOUMBIA
Mr Elimane MARIKO

Chimie analytique, Chef de D.E.R.
Pharmacie Chimique
Pharmacologie

2. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Drissa DIALLO
Mr Alou KEITA
Mr Benoît Yaranga KOUMARE
Mr Ababacar I. MAIGA
Mme Rokia SANOGO

Matières Médicales
Galénique
Chimie Analytique
Toxicologie
Pharmacognosie

3. MAITRES ASSISTANTS

Mr Yaya KANE
Mr Saïbou MAIGA
Mr Ousmane KOITA
Mr Yaya COULIBALY
Mr Abdoulaye DJIMDE
Mr Sékou BAH
Loséni BENGALY

Galénique
Législation
Parasitologie Moléculaire
Législation
Microbiologie-Immunologie
Pharmacologie
Pharmacie Hospitalière

D.E.R. DE SANTE PUBLIQUE

1. MAITRES DE CONFERENCES

Mr Moussa A. MAIGA
Mr Jean TESTA
Mr Mamadou Sounçalo TRAORE
Mr Massambou SACKO
Mr Alassane A. DICKO
Mr Seydou DOUMBIA
Mr Samba DIOP

Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique, **Chef de D.E.R.**
Santé Publique
Santé Publique
Epidémiologie
Anthropologie Médicale

2. MAITRES ASSISTANTS

Mr Adama DIAWARA
Mr Hamadoun SANGHO
Mr Hammadoun Aly SANGO
Mr Akory AG IKNANE
Mr Ousmane LY
Mr Cheick Oumar BAGAYOKO
Mme Fanta SANGHO

Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Santé Publique
Informatique Médecine
Santé Communautaire

3. ASSISTANTS

Mr Oumar THIERO
Mr Seydou DIARRA

Biostatistique
Anthropologie Médicale

CHARGES DE COURS & ENSEIGNANTS VACATAIRES

Mr N'Golo DIARRA
Mr Bouba DIARRA
Mr Salikou SANOGO
Mr Boubacar KANTE
Mr Souléyman GUINDO
Mme DEMBELE Sira DIARRA
Mr Modibo DIARRA
Mme MAIGA Fatoumata SOKONA
Mr Mahamadou TRAORE
Mr Lassine SIDIBE
Mr Cheick O. DIAWARA

Botanique
Bactériologie
Physique (**Ministre**)
Galénique
Gestion
Mathématiques
Nutrition
Hygiène du Milieu
Génétique
Chimie Organique
Bibliographie

ENSEIGNANTS EN MISSION

Pr. Doudou BA
Pr. Babacar FAYE
Pr. Mounirou CISS
Pr. Amadou Papa DIOP
Pr. Lamine GAYE
Pr. Pascal BONNABRY

Bromatologie
Pharmacodynamie
Hydrologie
Biochimie
Physiologie
Pharmacie Hospitalière

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail :

-A DIEU le Tout Puissant, le très miséricordieux, de m'avoir donné la chance, la santé, le courage de mener à bien ce travail.

Que sa bénédiction et sa protection soient sur tous.

AMEN !

A son prophète MOHAMET paix et salve à son âme.

AMEN !

Aux fidèles de l'ISLAM.

A tout les personnes vivant avec le VIH/SIDA.

-A mon père El hadji Gaoussou TRAORE dit Bèbè

Tu nous as montré le chemin du travail et du courage, ta rigueur dans l'éducation a toujours guidé nos pas, ta sagesse, tes critiques et ta culture d'une famille unit resterons à jamais dans notre mémoire. Ton amour particulier pour nous m'a illuminé le chemin du savoir.

Puisse ALLAH le Tout Puissant te garde encore longtemps au près de nous pour que tu puisses profiter des fruits de nos efforts.

Trouve à ce modeste travail un début de récompense à tes nombreux sacrifices. Je suis sûr que tes vœux seront exhaussés par le Tout Puissant et que tes conseils ne seront pas vains.

-A mère Djènèba DRAME

Cher mère ce modeste travail est le témoignage de ma promesse faite depuis le début de cette étude pharmaceutique que tu as tant voulu le faire mais que DIEU ne t'a pas donner la chance. S'il plait à DIEU un fils de toi héritera de cette science grâce à tes sacrifices et nombreuses prières.

Mah merci pour ton amour maternel qu'une mère a de mieux pour son enfant. Puisse DIEU te garder auprès de nous pendant afin de longtemps profiter de ces beaux fruits qu'il t'a destinés.

-A ma tante Korotoumou DRAME

Cert la mère qui donne naissance n'est pas la seule à aimer son enfant.

Ma tante les mots me manquent pour essuyer tes larmes. Mais je souhaite que tu trouves dans ce travail de quoi se consoler.

-A ma mère Kadidia YARE voici le fruit de tes bénédictions et de tes conseils. Trouve dans ce travail l'expression de toute ma gratitude. Que DIEU te garde longtemps auprès de nous.

REMERCIEMENTS

Je remercie le bon DIEU de m'avoir donné la force, le courage, la chance et la santé de mener à bien ce travail.

Que sa paix soit sur ses prophètes. Et que l'islam triomphe sur toute la terre.

Paix et salue sur le prophète MOHAMET.

AMEN !

-A mes parents

Je ne cesserai jamais de vous remercier pour tout ce que vous avez fait pour nous.

-A mes frères, sœurs, cousins et cousines

Du plus grand au plus petit, merci pour vos soutiens. Ce travail est également le votre.

-A mes proches qui sont morts.

-A mes logeurs

* Moulaye FOFANA et sa femme Fatoumata TRAORE ma sœur, bien sûr loger un étudiant n'est pas toujours facile, mes excuses et mes remerciements à votre égard. Vous avez tout mon respect et ma considération.

* Mohamed TRAORE et sa femme Fanta DIALLO vous m'aviez donné non seulement une très bonne hospitalité mais aussi la plus belle chose dans la vie d'un homme. Merci pour tout.

-A mes tantes et oncles

Merci pour vos encouragements vos soutiens.

-A mes camarades de promotion de la FMPOS « pharma home »

-A mes camarades du Lycée Fily Dabo Sissoko (LFDS).

-A mes camarades du laboratoire du CHU Gabriel Touré.

Vous avez été très nombreux à m'encourager, me féliciter, me conseiller et me guider partout où je suis passé. Merci pour vos soutiens.

-A mes amis les plus chers

Comme on a l'habitude de le dire « C'est dans les moments difficiles qu'on reconnaît ses vrais amis » moi je vous ai reconnu car vous étiez toujours là pour me soutenir pendant les moments difficiles.

Je vous dis aussi « L'amitié est comme l'écriture sur le sable quand on cesse de la retracer, elle disparaît ».

Sachez qu'en aucun instant je n'ai regretté de votre compagnie. Merci pour votre affection et votre sincère fidélité.

Que DIEU renforce d'avantage ce lien si sacré qui nous unit.

-A mes aines du laboratoire du CHU Gabriel Touré

Vous avez tous contribué à la belle réalisation de ce travail et merci sincèrement pour tout.

-Au personnel du CHU Gabriel Touré et plus particulièrement au personnel du laboratoire. Merci pour votre collaboration, votre contribution et votre esprit d'équipe.

-A tout le corps professoral de la FMPOS

Je vous témoigne toute ma reconnaissance et mes remerciements pour l'enseignement et les encadrements reçus.

A tout mes enseignants depuis le primaire

Vous avez toutes mes considérations et je vous suis parfaitement reconnaissant pour toute la formation que vous m'avez donnée.

-A tout les étudiants de la FMPOS et plus particulièrement a ceux du « sous amphi ».

Merci pour mon séjour, je n'oublierai jamais les nombreux souvenirs des années passés ensemble. Le « sous amphi » est et restera toujours le meilleur.

-A toutes les personnes de bonne volonté de près ou de loin qui ont contribue à la bonne réussite de ce travail.

Merci

HOMMAGES AUX MEMBRES DU JURY

A NOTRE MAÎTRE ET PRESIDENT DU JURY

Professeur, Colonel Elimane MARIKO ;

Professeur titulaire en pharmacologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'OdontoStomatologie (FMPOS) ;

Chargé de missions et chef de la Cellule Sectorielle de Lutte contre le VIH/SIDA au Ministère de la Défense et des Anciens Combattants ;

Nous ne saurons trouver les mots les meilleurs pour exprimer notre admiration et notre profonde gratitude ;

Nous apprécions à sa juste valeur, l'intérêt avec lequel vous avez accepté de présider ce travail.

Votre enseignement clair et efficace fait de vous un Maître exemplaire. Soyez en vivement remercier.

Nous vous exprimons cher Maître, toute notre reconnaissance.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Professeur Sounkalo DAO ;

**Maître de Conférences à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-
Stomatologie (FMPOS) ;**

Président de la Société Malienne de Pathologie infectieuse (SOMAPIT) ;

Membre de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue française (SPILF)

Investigateur Clinique au Centre de Recherche et de la Formation sur la tuberculose /VIH.

Homme aux qualités scientifiques importantes, nous avons été séduits par la simplicité, la clarté et la rigueur de vos enseignements ;

En plus de vos connaissances scientifiques, votre sens social de la vie mérite le respect.

Nous vous exprimons cher Maître, toute notre reconnaissance.

A NOTRE MAÎTRE ET JUGE

Docteur Samba Adama SANGARE

Pharmacien chercheur au laboratoire de bactériologie CVD - Mali (Centre pour le Développement des Vaccins - Mali) du CHU Gabriel Touré ;

Assistant en bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS).

Honorable Maître, votre appui a été d'un grand apport dans l'élaboration de ce document ;

Votre simplicité, votre sérénité, votre disponibilité, et votre esprit communicatif font de vous un Maître admiré de tous ;

Nous apprécions à sa juste valeur, l'intérêt avec lequel vous avez accepté de juger une première thèse qui est celle-ci.

Soyez rassuré, cher Maître de notre profond attachement aux valeurs qui vous sont chères tel que le travail bien fait et le courage;

Veillez trouver ici notre profond respect et nos sincères remerciements.

A NOTRE MAÎTRE ET CO- DIRECTEUR DE THESE

Docteur Souleymane Diallo ;

Pharmacien biologiste, Colonel des Forces Armées du Mali.

Chef du laboratoire d'analyses médicales du CHU Gabriel Touré ;

Maître assistant en bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie (FMPOS).

Honorable Maître, votre appui a été d'un grand apport dans l'élaboration de ce document ;

Votre simplicité, votre sérénité, votre disponibilité, et votre esprit communicatif font de vous un Maître admiré de tous.

Soyez rassuré, cher Maître de notre profond attachement aux valeurs qui vous sont chères tel que le travail bien fait et la lutte contre la corruption ;

Veillez trouver ici notre profond respect et nos sincères remerciements.

A NOTRE MAÎTRE ET DIRECTEUR DE THESE

Professeur Flabou BOUGOUDOGO ;

Maître de conférences agrégé en Bactériologie et Virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS);

Directeur général de l'Institut National de Recherche en Santé Publique ; Responsable des cours de bactériologie et virologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie (FMPOS).

Cher Maître, nous vous sommes infiniment reconnaissant d'avoir accepté de diriger cette thèse;

Vous nous avez toujours montré un grand intérêt pour tout ce qui touche notre formation.

Homme de principe, votre rigueur scientifique fait de vous un maître exemplaire et reconnu de tous ;

Veillez agréer cher Maître l'expression de notre grande admiration et de notre profonde reconnaissance.

Abréviations et sigles

AFSSPS : l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé.

ARV : Antirétroviraux.

AZT : Zidovudine.

CCDV : Centres de Conseils et de Dépistage Volontaire.

CDI : Consommation des Drogues Injectables.

CESAC : Centre d'Ecoute, de Soins d'Animation et de Conseil.

CHU : Centre Hospitalier Universitaire.

EDS : Enquête Démographique et de Santé.

EDTA : Acide Ethylène Diamino Tétra- Acétique.

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay.

EPH : Etablissements publics à caractère Hospitalier.

IMAARV : Initiative Malienne d'Accès aux Antirétroviraux.

ISAARV : Initiative Sénégalaise d'Accès aux médicaments Anti- Rétroviraux.

NASBA: Nucleic Acid System Based assay.

PNLS : Programme National de Lutte contre le Sida.

PTME : Prévention de la Transmission Mère-Enfant.

SAR : Service d'Accueil et de Réanimation.

SAU : Service d'Accueil des Urgences.

TME : Transmission Mère-Enfant.

WB : Western Blot.

PLAN

INTRODUCTION

1. GENERALITES SUR LE VIH

2. METHODOLOGIE

3. RESULTATS

4. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

6. ANNEXES

7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Table des matières

Introduction.....	1
Objectifs.....	2
1. Généralités sur le VIH.....	3
1.1. Historique.....	3
1.2. Définition.....	5
1.2.1. Chez l'adulte.....	5
1.2.2. Chez l'enfant.....	5
1.3. Classification.....	6
1.3.1. Famille.....	6
1.3.2. Genre.....	6
1.4. Caractéristiques virologiques du VIH.....	7
1.4.1. Structure du VIH.....	7
1.4.2. Organisations génomiques et protéines virales.....	7
1.5. Stabilité physico-chimique.....	10
1.6. Cycle de multiplication.....	10
1.7. Transmission.....	11
1.7.1. Voie sexuelle.....	11
1.7.2. Voie parentérale.....	11
1.7.3. Voie périnatale ou verticale.....	11
1.8. Physiopathologie des infections par le VIH.....	11
1.9. Cellules cibles lors de l'infection du VIH et l'évolution des marqueurs.....	12
1.9.1. Cellules cibles.....	12
1.9.2. Cinétique des anticorps.....	12
1.10. Moyens diagnostic sérologique des infections par le VIH.....	13
1.11. Principe de prévention et stratégie de traitement.....	22
1.11.1. La prévention de l'infection par le VIH.....	22
1.11.2. Traitement.....	23
2. Méthodologie.....	27
2.1. Cadre de l'étude.....	27
2.2. Population d'étude.....	28
2.3. Type d'étude.....	28
2.4. Critères d'inclusion et de non inclusion.....	28
2.4.1. Critères d'inclusion.....	28

2.4.2. Critères de non inclusion.....	28
2.5. Aspects éthiques.....	28
2.5.1. Confidentialité.....	28
2.5.2. Consentement éclairé.....	28
2.5.3. Risques liés à l'étude.....	28
2.5.4. Respect des références bibliographiques.....	28
2.6. Echantillonnage.....	28
2.6.1. Méthode et technique d'échantillonnage.....	28
2.6.2. Taille de l'échantillon.....	29
2.6.3. Variables étudiées.....	29
2.7. Conditions de sécurité au laboratoire.....	29
2.8. Optimisation des conditions opératoires.....	29
2.9. Méthodes de laboratoire.....	31
3. Résultats.....	38
4. Commentaires et discussion.....	54
4.1. Résultat de la sérologie VIH par rapport à l'âge.....	54
4.2. Résultat de la sérologie VIH par rapport au Sexe.....	55
4.3. Résultat de la sérologie VIH par rapport à la profession.....	55
4.4. Résultat de la sérologie VIH par rapport au service de provenance.....	56
4.5. Séroprévalence et évolution des sérotypes de VIH.....	56
5. Conclusion et recommandations.....	57
6. Annexes.....	58
6.1. Annexe I.....	58
6.2. Annexe II.....	62
6.3. Annexe III.....	67
6.4. Annexe IV.....	72
6.5. Annexe V.....	75
7. Références	76

Liste des figures

Figure 1 : Structure du VIH.

Figure 2: cycle de réplication du VIH.

Figure 3 : Cinétique d'apparition des anticorps anti-VIH.

Figure 4 : Algorithme pour l'interprétation des tests de Sérologie utilisant un format de 4^{ème} génération.

Figure 5 : Représentation schématique de la stratégie I.

Figure 6 : Représentation schématique de la stratégie II.

Figure 7: Représentation schématique de la stratégie III.

Figure 8: Algorithme adopté à partir de 2001.

Figure 9: Algorithme utilisé dans notre étude.

Figure 10: Bac de développement et peigne.

Figure 11: Répartition des patients ayant effectué le test de sérologie VIH par années au laboratoire du CHU Gabriel Touré.

Figure 12: Répartition patients par tranches d'âges.

Figure 13: Répartition des patients par sexe.

Figure 14: Répartition des patients par statut sérologique.

Figure 15: Répartition des patients par Sérotypes du VIH.

Figure 16: Répartition des patients selon les statuts par rapport aux années.

Figure 17: Kit du test Détermine HIV-1/2.

Figure 18: Interprétation des résultats.

Figure 20: Pipette de 10 µl prévue pour la distribution d'échantillon.

Figure 21: Kit du test d'ImmunoComb II HIV -1/2.

Figure 22: Validation des résultats.

Figure 23: Résultats du test IMMUNOCOMB II HIV1 & 2.

Figure 24: Kit du test Génie II HIV-/HIV-2.

Figure 25: Validation et interprétation.

Liste des tableaux

Tableau I : Indications des stratégies alternatives.

Tableau II: Répartition des patients selon les services référant.

Tableau III: Répartition des patients selon le statut Sérologique par rapport aux tranches d'âges.

Tableau IV: Répartition des patients selon le statut Sérologique par rapport au sexe.

Tableau V: Répartition des patients selon le Sérotypes du VIH par rapport au sexe.

Tableau VI: Répartition des patients selon les Sérotypes du VIH par rapport aux années.

Tableau VII: Répartition des patients selon les tranches d'âges par rapport à l'année.

Tableau VIII: Répartition des patients selon la profession.

Tableau IX: Répartition des patients selon le statut sérologique par rapport à la profession.

Tableau X: Répartition des patients selon le statut sérologique par rapport à la provenance.

Tableau XI: Répartition des patients selon les Sérotypes du VIH par rapport à la provenance.

Tableau XII : Chronogramme des activités pour l'élaboration de la thèse.

FICHE SIGNALETIQUE

Nom: TRAORE

Prénom: Mohamed dit Sarmoye

Email : msarmoye@yahoo.fr

Tél : 79029936/ 66633015.

Titre de la thèse: Diagnostic sérologique de l'infection à VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

Année : 2009-2010

Ville de soutenance : Bamako

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

Secteur d'intérêt: Virologie, Médecine.

FACTS

Name: TRAORE

First name: Mohamed dit Sarmoye

Email: msarmoye@yahoo.fr

Phone: 79029936/ 66633015

Title of thesis: Serological diagnosis of HIV infection in Laboratory of CHU Gabriel Touré

Year: 2009-2010

City of defens: Bamako

Place of deposit: Library of the Medical Faculty of Pharmacy and Odonto-stomatology.

Area of interest: Virology, Medicine

INTRODUCTION

La pandémie du VIH et du SIDA demeure toujours après deux décennies de lutte, un problème majeur de santé publique dans le monde. Ses conséquences humaines, sociales et économiques pèsent lourdement sur les pays en développement et particulièrement en Afrique. [1] Le VIH et le SIDA continuent de progresser de façon significative à travers le monde sans distinction de sexe, d'âge et ceci malgré des efforts soutenus dans la sensibilisation à travers des explications scientifiques claires sur le mode de transmission et également les moyens de prévention. [1] Selon les derniers chiffres publiés aujourd'hui par l'ONU SIDA/OMS dans le point sur l'épidémie mondiale de SIDA, on estime à 39,5 millions le nombre de personnes vivant avec le VIH. Il y a eu 4,3 millions de nouvelles infections en 2006, dont 2,8 millions (65%) en Afrique subsaharienne, et d'importantes augmentations en Europe orientale et Asie centrale, où les données indiquent que les taux d'infection se sont élevés de plus de 50% depuis 2004. En 2006, 2,9 millions de personnes sont mortes de maladies liées au SIDA. Ce nombre de décès par le SIDA dépassera sans aucun doute dans quelques années les 55 millions si des efforts massifs de prévention, de traitement et de prise en charge ne sont pas déployés. [2] Selon les résultats d'EDSM – III le taux de l'infection au Mali était de 1,7 % en 2001. [3] On a observé une baisse significative à 1,3 % en 2006 dans la population générale. [4]

Le premier cas de SIDA au Mali a été décrit en 1986 dans le service de gastro-entérologie de l'hôpital Gabriel Touré par l'équipe du professeur A. GUINDO. [5] Depuis cette période les autorités du pays ont mis en place divers mécanismes de lutte contre le VIH et SIDA à travers la création du Programme National de Lutte contre le SIDA (PNLS) et le Haut Conseil National de Lutte contre le SIDA.

De nombreuses études sur le VIH ont été faites à l'échelle nationale (Enquête Démographique et de Santé au Mali) soit locale dans les formations sanitaires. Cependant des interrogations persistent quant à la caractérisation des cas diagnostiqués et le profil du sérotype des patients dépistage au laboratoire.

Le Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré état l'un des onze (11) établissements publics à caractère Hospitalier a quatre missions principales à savoir :

- * assurer le diagnostic, le traitement des malades, des blessés et des femmes enceintes ;
- * assurer la prise en charge des urgences et des cas référés ;
- * assurer la formation initiale et continue des professionnels de la santé et des étudiants ;
- * conduire les travaux de recherche dans le domaine médical.

C'est pour cette raison que la présente étude conserve toute sa place dans le renforcement de la connaissance sur le diagnostic sérologique de l'infection dans une structure hospitalière comme le CHU Gabriel Touré.

OBJECTIF GENERAL :

Etudier le diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré du 1^{er} janvier 2006 au 31 décembre 2008.

OBJECTIFS SPECIFIQUES :

- * Décrire les techniques de diagnostic sérologique du VIH ;
- * Déterminer la fréquence de séropositivité du VIH des patients adultes de l'hôpital et des volontaires dépistés au laboratoire du CHU Gabriel Touré de 2006 à 2008 ;
- * Déterminer la fréquence du VIH-1, VIH-2 et de la co- infection VIH-1+VIH-2 ;
- * Déterminer le profil socio- démographique des patients infectés par le VIH ;

1. GENERALITES SUR LE VIH

1.1. Historique

Los Angeles en 1980, le Dr Joël Weismann remarque que la plupart de ses patients sont atteints depuis quelques mois d'un même syndrome accompagné de poussées de fièvre, d'amaigrissement, de diarrhée chronique et de muguets oral et anal. Dans l'impossibilité d'établir un diagnostic précis, il envoie ses malades dont l'état s'aggrave dans le service du Dr Michel Gottlieb au centre hospitalier de l'université de Californie. Les analyses de sang révèlent une disparition des globules blancs et on établit qu'il s'agit d'une maladie qui s'attaque aux défenses immunitaires. L'un après l'autre, les malades développent la pneumocystose et décèdent malgré la chimiothérapie.

En mai 1981 après l'apparition de nouveaux cas, le Dr Gottlieb alerte le CDC à qui il avait déjà rapporté des cas similaires en provenance de San Francisco et de New York. Le 5 juin, la première annonce officielle de la maladie est faite et le 3 juillet, le « New York Times » rend publique l'information. A la fin de cette année, les services sanitaires des USA, indiquent avoir recensé 159 cas, tous ayant eu des rapports homosexuels. [6]

Pour désigner la nouvelle maladie, le terme savant de GRID (Gay Related Immune Deficiency) sera d'usage dans les milieux scientifiques jusqu'à l'été 1982, date à laquelle les sigles officiels AIDS et SIDA feront leur apparition pour se répandre par la suite. La découverte en 1981 des signes de la maladie chez un homme hétérosexuel et une femme tous deux toxicomanes, puis l'infection d'hémophiles américains vers la fin 1982 après transfusion sanguine apportèrent la preuve qu'il s'agissait d'une infection virale se transmettant par contact sexuel et par le sang. Ceci avait suffi pour mettre en branle de nombreuses équipes scientifiques qui se lancèrent à la poursuite du nouveau virus. On accusa au départ les virus à ADN du groupe herpès, en particulier le Cytomégalovirus et le virus Epstein Barr qui avaient été retrouvés chez de nombreux patients atteints du SIDA. Mais, aucune différence n'ayant pu être établie entre les isolats et les souches classiques, ces virus furent identifiés non comme la cause du déficit immunitaire, mais plutôt comme des agents opportunistes. [7] Les équipes américaines des docteurs Robert Gallo du NIH de Bethesda aux USA et Myron Essex qui avaient mis en évidence les premiers rétrovirus humains HTLV (Humain T-cell Leukemia Virus) 1 et 2, s'appuyant sur les enquêtes séro-épidémiologique montrant la présence d'anticorps anti-HIV 1 chez certains malades et frappés par le fait que le HTLV-1 avait un tropisme préférentiel pour les lymphocytes T du système immunitaire, postulèrent que ce virus ou un très proche variant était l'agent causal du SIDA. [7] En France, les biologistes de l'Institut Pasteur : Luc Montagnier, Françoise Barré Sinoussi et Jean Claude Cherman se lancèrent à la recherche d'un type nouveau de rétrovirus à partir de la culture de cellules extraites de ganglion d'une personne atteinte du SIDA. Ils isolèrent un virus qu'ils nommèrent LAV (Lymphadenopathy Associated Virus). La découverte Française est publiée le 20 mai 1983 ; les chercheurs poursuivirent leurs études, caractérisèrent le LAV et établirent son rôle dans le SIDA et les

lymphadénopathies. [7] Quatorze mois après la découverte du LAV précisément le 24 avril 1984, le Dr Robert Gallo annonce l'isolement et la caractérisation d'un rétrovirus très proche du LAV qu'il baptise HTLV-3.

Quelques mois après Jay Lewis à San Francisco fait à son tour l'annonce de la découverte d'un virus très proche du LAV qu'il nomme ARV (Aids-Related-Virus). Dans la foulée de nombreux isolats viraux seront tenus pour responsables du SIDA jusqu'à la caractérisation par clonage et séquençage de différents isolats dont ceux du LAV, du HTLV-3 et du ARV. Ces travaux mirent en évidence les éléments suivants :

Le LAV est différent des virus HTLV-1 et HTLV-2 ;

Le LAV et le HTLV-3 sont identiques ;

Le LAV a des variations locales qui ne modifient pas cependant son organisation génétique et ses propriétés biologiques.

L'identité HTLV-3, LAV va entraîner une polémique franco-américaine au sujet de la paternité de la découverte de l'agent causal du SIDA et au sujet de sa dénomination. On fit usage des acronymes LAV / HTLV-3 (recommandé par l'OMS) et HTLV-3 / LAV (adopté par le gouvernement américain et les revues scientifiques anglophones) jusqu'en 1986 date à laquelle une commission de nomenclature virologique introduisit le sigle international HIV (Human Immunodeficiency Virus) ou VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine). En Mars 1987, un accord politico scientifique accordait la paternité de la découverte du VIH aux biologistes Français et Américains avec pour conséquence le partage entre eux des royautés découlant de cette découverte. Cet accord eut lieu quelques mois après la découverte en 1986 par les chercheurs Français du CNRS de l'INSERM et de l'Institut Pasteur, du VIH-2. [8]

Au Mali, après l'identification du premier cas de SIDA en 1985 à l'Hôpital Gabriel Touré, un plan à court terme de lutte contre le SIDA 1987- 88 a été mis en œuvre, puis un premier plan à moyen terme (PMT1) 1989- 93, suivi d'un deuxième plan à moyen terme (PMT2) de 1994- 98. Le Plan Stratégique National de lutte contre le VIH et SIDA pour la période 2001-2005 a été adopté par le Conseil des Ministres du 30 Novembre 2000, dans un contexte encore marqué par bien d'autres défis. En effet, même si les tendances macro-économiques sont à la croissance, des défis majeurs tels que la lutte contre la pauvreté et l'appauvrissement continu des populations, l'accès à l'eau potable, à la santé et à l'éducation sont plus que jamais présents. Un Programme National de Lutte Contre le SIDA (PNLS) est en place depuis la création du premier plan à court terme jusqu'à nos jours. [9] Les premières thérapies antirétrovirales ont eu lieu au Mali en 1997 au Centre d'Ecoute de Soins d'Animation et de Conseil (CESAC) pour les personnes vivant avec le VIH/SIDA (PV VIH). [10] En 2001, la disponibilité des ARV à prix subventionné a été instituée au Mali avec l'initiative Malienne d'Accès aux ARV (IMAARV). Depuis 2003 la gratuité des ARV est effective pour tout patient inclus dans l'IMAARV. [11]

1.2. Définition

Définition du sida en Afrique :

Le terme de SIDA fut l'objet de nombreuses confusions et contestations ; enfin la définition a été donnée arbitrairement car elle l'a été quand l'agent pathogène était encore mal connu et à des fins de surveillance épidémiologique. En effet, c'est grâce aux progrès de la biologie, notamment en 1983 et en 1985 respectivement date de la mise en évidence du virus responsable et date du développement de la sérologie qu'on a pu établir la définition du SIDA. En 1985 l'OMS a essayé de donner une définition du SIDA en Afrique au cours de sa réunion qui s'est tenue du 22 au 25 octobre à Bangui, appelée définition de Bangui. [12] Selon cette définition un malade a le SIDA s'il présente au moins 2 signes majeurs et un signe mineur chez les adultes. Un enfant serait malade de SIDA s'il a au moins 2 signes majeurs et 2 signes mineurs et cela est valable dans les deux cas en dehors de toute autre cause d'immunodéficience tels le cancer, la malnutrition etc.

1.2.1. Chez l'adulte

*** Signes majeurs :**

Perte de poids supérieure à 10%

Diarrhée chronique supérieure à 1 mois

Fièvre prolongée supérieure à 1 mois

*** Signes mineurs :**

Toux supérieure à 1 mois

Dermatites prurigineuses généralisées

Zona récidivant

Candidose oro-pharyngée

Herpès virose chronique

Lymphoadénopathie généralisée

Fatigue permanente

Sueurs nocturnes.

1.2.2. Chez l'enfant

*** Signes majeurs :**

Perte de poids supérieure à 10%

Diarrhée chronique supérieure à 1 mois

Fièvre prolongée ou intermittente supérieure à 1 mois

* Signes mineurs :

Toux persistante

Dermatites prurigineuses généralisées

Candidose oro-pharyngée

Infections banales récidivantes (otites, pharyngites),

Infection à VIH confirmée chez sa mère

Lymphodénopathie généralisée. [12]

1.3. Classification

1.3.1. Famille

Le virus de l'immunodéficience humaine appartient aux rétrovirus. Le terme rétrovirus désigne le nom générique des virus appartenant à la famille des Retroviridae. Ils ont en communes certaines caractéristiques. Leur matériel génétique est constitué d'ARN qui, sous l'action d'une enzyme (la transcriptase inverse) donnera un ADN double brin, complètementaire de l'ARN viral, dans la cellule infectée par le rétrovirus. L'ADN néoformé possède à chaque extrémité une même séquence répétitive de taille variable dite LTR (Long Terminal Repeat) qui peut s'intégrer de façon stable dans l'ADN de la cellule et devenir un provirus. [7] Ces virus sont répandus parmi les diverses espèces animales. Cette famille de retroviridae recouvre toutes les particules virales possédant la transcriptase inverse. [13]

1.3.2. Genre

Le VIH appartient au genre Lentivirus groupe de virus à l'origine de maladies à évolution lente. [14] Actuellement, la famille des rétrovirus qui recouvre en fait toute particule possédant une transcriptase inverse, est divisée en trois sous groupes selon des paramètres phylogéniques : Oncovirus, Lentivirus, Spumavirus. Nous nous intéresserons particulièrement aux Lentivirus groupe auquel appartient le VIH. [14] Les Lentivirus sont des virus lytiques qui provoquent des maladies à évolution lente (pneumonies, désordres neurologiques). Ils sont caractérisés par l'absence de pouvoir immortalisant ou transformant. Les Lentivirus sont responsables de la destruction cellulaire et de la mort de la cellule infectée. Ils peuvent aboutir à des maladies le plus souvent chroniques.

Ce groupe comprend :

* le virus Visna-Maedi responsable de la leuco-encéphalomyélite du mouton

* les virus VIH-1 et VIH-2 responsables de l'immunodéficience humaine. [15]

1.4. Caractéristiques virologiques du VIH

1.4.1. Structure du VIH

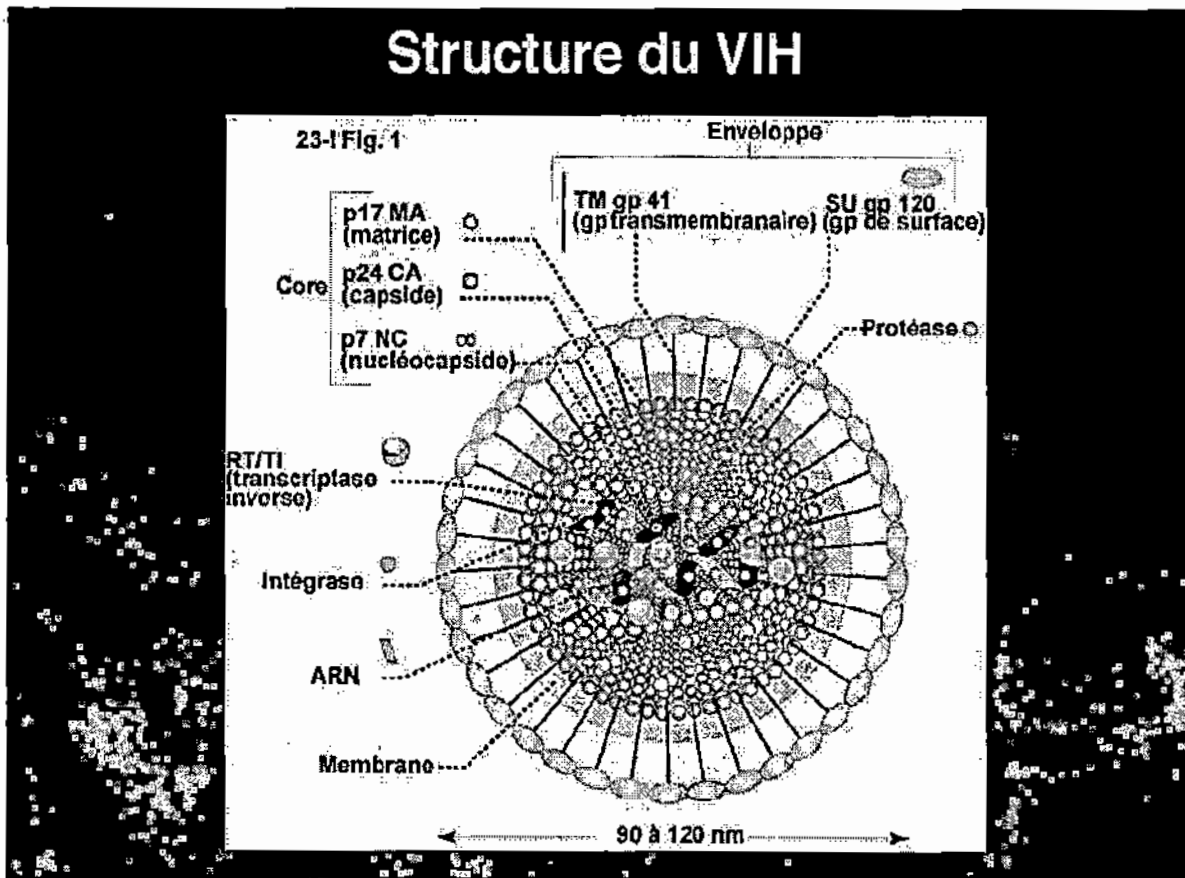


Figure 1 : Structure du VIH. [16]

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

[16]

1.4.2. Organisations génomiques et protéines virales

L'ARN viral est condensé en cylindre avec deux protéines associées et une enzyme importante appelée "ADN polymérase ARN dépendante" ou transcriptase inverse. Le noyau viral est entouré d'une coquille de forme conique appelée p24, qui est la protéine centrale majeure et est identique pour le VIH-1 et VIH-2. Cet ensemble constitue la capside qui est recouverte par deux enveloppes : la coquille protéique ou p17 et la bicouche lipidique traversée par des protéines membranaires (gp 41 attachées à la matrice p17 et au gp120) qui font saillie à la surface de la particule virale. Ce sont ces saillies et ces protéines d'enveloppe qui

différencient le VIH-1 et VIH-2. Les protéines correspondantes du VIH-2 sont les gp110/130 et gp36. Comme tous les rétrovirus, les VIH-1 et VIH-2 sont produits par bourgeonnement à la surface des cellules infectées. Mais la morphologie de la particule mature est unique. [17 18 19 20]

1.4.2.1. Matériel génétique

Les VIH présentent la structure classique des génomes des rétrovirus.

* Les gènes de structure :

- Gène gag ou gène de l'antigène de groupe ; il code pour les protéines de la nucléocapside ou core viral ;
- Gène pol ou polymérase code pour la transcriptase inverse, la protéase et l'endonucléase;
- Gène env ou gène de l'enveloppe, code pour les protéines d'enveloppe.

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

* La séquence LTR (Long Terminal Repeat) ou longue répétition terminale, possède des régions non codantes ; contient les éléments promoteurs qui contrôlent l'intensité de l'expression des gènes du virus et l'intégration aux gènes de la cellule hôte. [21]

1.4.2.2. Génome viral

Il est constitué d'au moins 3 gènes :

- « gag » code pour le nucléocapside
- « pol » pour la transcriptase reverse
- « env » pour les protéines du virion.

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

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

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

L'organisation génétique de VIH-1, VIH-2 et SIV (Simian Immunodeficiency Virus) est similaire. Mais chez le VIH-1 et SIV le gène « vpu » est remplacé par « vpx ».

Sur la base des distances génétiques on a fait une classification du VIH-1 en trois groupes M, O et N.

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

Ainsi chez le VIH-1 les protéines données par le « gag » sont : p25, p18 et p13.

Le « pol » donne les protéines p51 - p28 (la transcriptase inverse), p34 (l'endonucléase ou l'intégrase), p12 (l'aspartyl protéase).

Le gène « env » donne les glycoprotéines, externe (gp110/120) et transmembranaire (gp41).

Quant au VIH-2 ses protéines internes sont légèrement modifiées en poids : p26, p16, p12 aussi la protéine externe est la gp105 et la transmembranaire est gp36. Les variantes peuvent poser des difficultés lors du sérodiagnostic d'une infection à VIH. [22]

1.4.2.3. Variabilité génétique des VIH

L'importante hétérogénéité des VIH est la résultante à la fois d'une rapide réplication virale chez une personne infectée et d'un taux élevé d'erreurs dans la substitution nucléotidique lors de l'étape de la transcription inverse. [23] On a pu estimer que le taux est d'environ une erreur pour 100 nucléotides et qu'en moyenne 50% des virus sont renouvelés toutes les 60 heures. [24 25].

L'organisation génétique des VIH-1, VIH-2 et du SIV est similaire. Sur la base des distances génétiques entre les VIH-1 retrouvées chez les patients, une classification en trois groupes distincts appelés M (major), O (outlier) et N (new) a été établie. [26 27]

Le groupe M regroupe jusqu'à présent, au moins 10 sous types de VIH-1 désignés de A à J.

Au niveau mondial ce sont les infections par le sous types C qui sont majoritaires.

Des phénomènes de recombinaison génétique chez les sujets co-infectés par des sous types distincts de VIH-1 sont également à l'origine de nouveaux virus recombinants.

Les VIH-1 du groupe O identifiés au Cameroun et au Gabon sont les plus rares. Il n'est de même pour les infections par le VIH-1 du groupe N, également identifié au Cameroun.

La variabilité génétique du VIH-2 est moins importante que chez le VIH-1, jusqu'à présent 7 sous types ont été identifiés (A à G) ; seuls les deux premiers ont été convenablement caractérisés. Chacun des sous-types a une distribution géographique particulière. [23] La structure antigénique du VIH-2 montre par rapport au VIH-1 des différences au niveau des glycoprotéines d'enveloppe, des protéines du core et de la polymérase. Cependant les homologies entre les protéines du core (p25, p18 et p55, p40 pour le VIH-1 et p26, p16 et peut-être p55 pour le VIH-2) sont suffisantes pour qu'il existe des réactions croisées avec des réponses positives inconstantes par ELISA. [28] En revanche, il n'a pas été trouvé de réactions croisées entre les glycoprotéines d'enveloppe (gp110/120 et gp41 pour le VIH-1; gp130/140 et gp105 pour le VIH-2). Le génome du VIH-2 est sensiblement plus long que celui du VIH-1 (9600 protéines pour le VIH-2, contre 9200 pour le VIH-1 en ce qui concerne l'ARN). [18]

Ces variations sont prédominantes dans certaines régions du génome viral telles que le gène env. C'est le cas du domaine V3 de l'enveloppe du VIH-1 qui possède d'importantes fonctions biologiques et immunologiques. [18] En l'absence de traitement antirétroviral, le potentiel évolutif de l'infection par le VIH-2 est plus lent que celui du VIH-1, probablement en raison d'une réplication moins importante. De même le risque de transmission du VIH-2 est plus faible que celui du VIH-1. Cette diversité génétique peut poser des problèmes diagnostiques et thérapeutiques à l'origine de défauts de prise en charge, cela peut se produire en

particulier pour les infections par le VIH-2 et les infections par le VIH-1 groupe O, du fait de la nécessité de techniques spécifiques de la charge virale et de résistance naturelle à certains ARV. [29]

1.5. Stabilité physico-chimique

Comme tout virus enveloppé, le VIH est sensible aux solvants des lipides et aux détergents (1 % triton x 100, 0,5 % désoxycholate de sodium). Il est sensible à la chaleur puisqu'il est inactivé par chauffage à 56° C pendant 30 minutes. Le VIH est également inactivé en 5 minutes par l'hypochlorite de sodium à 0,2 %, l'éthanol à 70 % et le glutaraldéhyde à 0,2 %. [30]

1.6. Cycle de multiplication

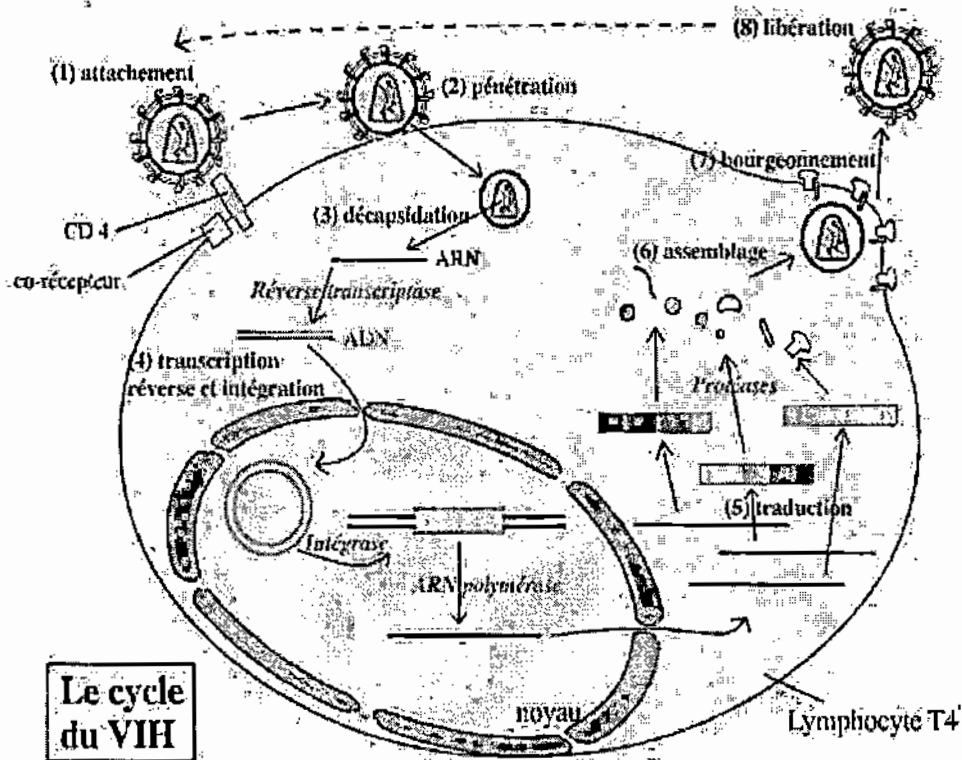


Figure 2: cycle de répllication du VIH. [31]

Le virus se fixe à la surface d'une cellule via les récepteurs CXCR-4, CCR-5, fusionne avec la membrane cellulaire et déverse son contenu dans la cellule. L'enzyme virale nommée transcriptase inverse recopie l'ARN du virus en ADN double brin. Ce dernier est incorporé dans l'ADN cellulaire grâce à une enzyme appelé intégrasse. La machinerie de la cellule produit des protéines et de l'ARN viraux à partir de l'ADN intégré, ou provirus. Une troisième enzyme, la protéase, découpe les protéines virales ainsi synthétisées, leur

permettant de s'associer à l'ARN pour former de nouvelles particules virales qui bourgeonnent vers l'extérieur de la cellule et infectent de nouvelles cellules. [32]

1.7. Transmission

La prédominance d'un mode de transmission est influencée par des facteurs géographiques et socio-économiques.

1.7.1. Voie sexuelle

* Le mode hétérosexuel (homme femme)

Dans le monde entier ce mode devient plus important que les seringues

En Afrique il est de loin le plus important, la transmission hétérosexuelle se fait par la présence du virus dans le sperme, les sécrétions vaginales, dans les salives.

Actuellement les femmes sont les plus touchées.

* Le mode homosexuel (homme homme)

Il est plus risquant que le mode hétérosexuel car à ce niveau de l'intestin il n'y a pas de chaîne ganglionnaire qui peut empêcher la propagation du virus.

1.7.2. Voie parentérale

* Transmission sanguine

Le sang peut transmettre en Afrique beaucoup de maladies (hépatite, syphilis etc.)

Il faut transfuser du sang sécurisé

* Consommation des drogues injectables (CDI) du fait de l'utilisation en commun.

* Accidents dus à des piqûres par des aiguilles infectées

1.7.3. Voie périnatale ou verticale

* In utero au cours du travail et de l'accouchement

* post-partum durant l'allaitement. [2]

1.8. Physiopathologie de l'infection à VIH

La découverte du VIH et l'étude de ses propriétés biologiques ont permis de mettre en exergue sa physiopathologie. Cela a débouché sur la mise au point de nouvelles stratégies thérapeutiques visant à traiter l'infection par le VIH en inhibant l'interaction virus-récepteur. Les VIH ont un tropisme préférentiel pour les lymphocytes T CD4+. La molécule CD4, récepteur de haute affinité pour le VIH est une protéine membranaire exprimée en forte quantité à la surface des lymphocytes « T » auxiliaires qui sont responsables de l'initiation de la réponse T auxiliaire et de l'amplification des diverses fonctions du système immunitaire en réaction aux infections. Les cellules constituent des réservoirs de virus dans l'organisme ; mais c'est essentiellement dans les lymphocytes T CD4+ que le VIH se multiplie en grande quantité. Si la molécule CD4 fonctionne comme un récepteur de haute affinité pour la glycoprotéine (gp 120) du VIH-1, des récepteurs accessoires sont nécessaires à la pénétration du virus dans la cellule hôte. Les récepteurs CCR-5 et CXCR-4

identifiés en 1996 utilisés par le VIH, sont des récepteurs de chimiokines ou chémo-attractants. Ils coopèrent avec les CD4 pour permettre l'entrée du virus dans la cellule. Cette coopération serait plus lente pour le VIH-2, d'où sa longue latente par rapport au VIH-1. Les virus à tropisme macrophagique utilisent le récepteur de β -chémoquine CCR-5, par contre les virus à tropisme T dépendent du récepteur α -chémoquine CXCR-4 ou fusine. Mais 90% des souches virales ont en commun le CCR-5 comme récepteur et peuvent infecter à la fois les lymphocytes T CD4+ et les macrophages. La variabilité génétique des co-récepteurs détermine une résistance d'origine génétique à l'entrée du virus, en particulier la mutation delta32 ($\Delta 32$) qui est présentée dans la population caucasienne essentiellement selon un gradient Nord-sud (fréquence augmentant du Sud vers le Nord) alors qu'aucun variant de CCR-5 limitant la capacité d'entrée du virus n'a pu être mis en évidence en Afrique. [33]

1.9. Cellules cibles lors de l'infection du VIH et l'évolution des marqueurs

1.9.1. Cellules cibles

Le VIH doit infecter une cellule hôte afin de se répliquer. Pour cela, des protéines constitutives de son enveloppe doivent interagir avec des molécules de surface cellulaires appelées récepteurs et corécepteurs : le principal étant le récepteur CD4. Ainsi, les cellules cibles du VIH sont celles qui présentent à leur surface la molécule CD4 : les lymphocytes T CD4+ ou T helper, les monocytes/macrophages et autres cellules de la même origine que les monocytes et les macrophages, telles que les cellules folliculaires dendritiques, présentes dans les centres germinatifs des ganglions et les cellules de Langerhans. [34]

1.9.2. Cinétique des anticorps

Une bonne connaissance de la cinétique des anticorps et de l'antigène p24 est indispensable à l'interprétation des tests de dépistage du VIH. La figure ci dessous résume les différentes situations. Après la contamination, le virus est détectable sous sa forme d'acide ribonucléique (ARN) dès le 10-12^e jour et sous sa forme d'antigène p24 représentant juste une fraction du virus, vers le 12-14^e jour. Les premiers anticorps sont détectables vers le 21^e jour. Cette cinétique peut varier en fonction de chaque patient et aussi de la souche infectante. La positivité des tests de dépistage dépend donc de l'apparition des anticorps. Actuellement, les tests de dépistage utilisés en Occident sont le plus souvent capables de détecter, en plus des anticorps, simultanément, la fraction "antigène p24". L'utilisation de ces tests raccourcit donc la période de "silence sérologique" lors de la primo-infection. Une fois produits par la réponse immune, les anticorps anti-VIH persisteront toute la vie du patient. [34]

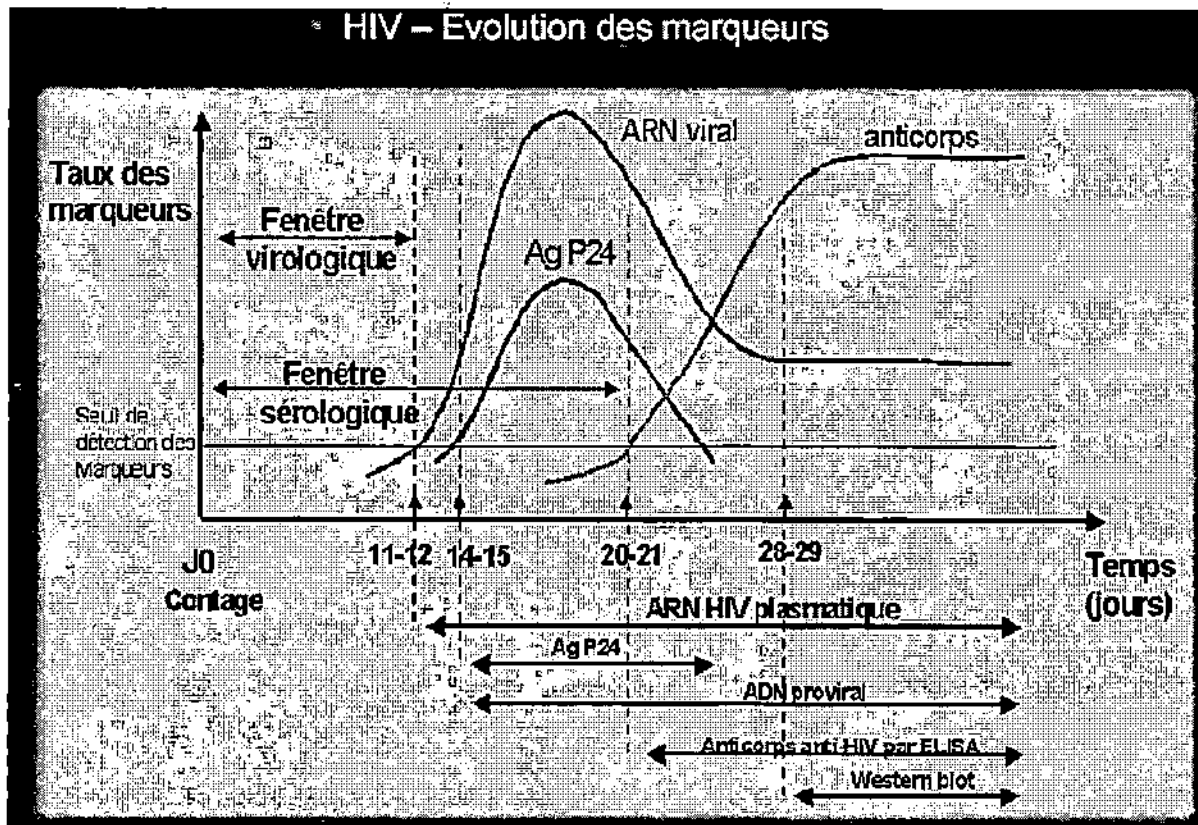


Figure 3 : Cinétique d'apparition des anticorps anti-VIH. [34]

1.10. Les moyens de diagnostic sérologique des infections par le VIH

1.10.1. Dépistage et confirmation

1.10.1.1. Tests de dépistage

Le diagnostic virologique de l'infection à VIH est avant tout un diagnostic sérologique basé sur la recherche d'anticorps anti-VIH par méthode immuno-enzymatique (ELISA) ou autre méthode immunologique de sensibilité équivalente. Ceci est dû à la présence constante des anticorps anti-VIH détectables dès les premières semaines qui suivent la contamination, et à la praticabilité du dépistage sérologique. La législation oblige à pratiquer en biologie médicale deux tests de dépistage différents pour chaque sérum testé afin de pallier d'éventuelles carences soit de réactif soit de manipulation. Les réactifs de dépistage utilisés sont essentiellement mixtes, c'est-à-dire capables de détecter les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 [35]. Le diagnostic des infections à VIH repose chez l'adulte sur la détection des anticorps. Le développement des techniques de biologie moléculaire ne permet pas pour l'heure de remplacer les techniques sérologiques qui restent partout dans le monde les techniques de références pour le dépistage et la confirmation des infections à VIH de l'adulte. Seul le diagnostic précoce dans les premiers mois de vie chez l'enfant né de mère

séropositive nécessite la mise en évidence du virus, de ses composants ou de son génome. [34] La diversité des VIH complique le diagnostic sérologique.

Il existe deux types d'infection, par VIH-1 et VIH-2, qui ont une prise en charge spécifique. Le diagnostic de différenciation entre les deux types est fondamental. Ces virus proviennent de passages accidentels de virus de singes (SIV) dans l'espèce humaine.

* Le VIH-1 est divisé en 3 groupes, M, N, et O. Le groupe M (pour Majeur) est responsable de la pandémie actuelle, les autres groupes étant rares. Le groupe Majeur est subdivisé en une dizaine de sous-types (A à K) et souches recombinantes. Le sous-type B est le plus répandu en Occident, dans les populations homosexuelles et toxicomanes.

En Afrique centrale, tous les sous-types sont représentés. Le sous types A et la forme recombinante entre les sous-types A et G, dite CRF02, sont responsables d'un grand nombre d'infection en Afrique de l'Ouest. Les sous types C et D sont majoritaires en Afrique de l'Est et en Afrique du Sud. Le virus du groupe O (pour Outlier), peu fréquents, sont trouvés presque exclusivement en Afrique centrale (Cameroun, Gabon, Guinée-équatoriale).

* Pour le VIH-2, plusieurs sous-types ont été décrits. Seuls les sous-types A (Cap-Vert, Guinée-Bissau, Guinée, Sénégal) et les sous-types B (Côte d'Ivoire, Mali et le Burkina-Faso) ont une diffusion épidémique.

Les tests de dépistage, basés sur des antigènes du VIH-1 de sous-type B d'Occident et du VIH-2 de sous type A peuvent présenter une sensibilité moindre pour la reconnaissance des autres sous-types, particulièrement lors de la primo-infection ou d'infection par des variants très « distants », comme le VIH-1 du groupe O. [34]

Il existe désormais de très nombreux tests disponibles pour la détection des anticorps anti-VIH. Ils reposent sur des concepts différents (tests indirects, tests sandwich, tests compétition,...), des supports différents (microplaques, microparticules, immunofiltres,...), une technologie différente (technologie microplaque classique, automates, tests unitaires,...). A côté des tests ELISA, des tests d'agglutination (particules de gélatine sensibilisées) sont également disponibles. [35]

Principe des tests de dépistage

Le dépistage des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 s'effectue le plus souvent par des tests dits ELISA (Enzyme- Linked Immunosorbent Assay) ou par des tests rapides utilisant comme antigènes des lysats viraux ou des protéines recombinantes ou synthétiques. Ces protéines correspondent aux épitopes immunodominants des 2 virus VIH-1 du sous-type B (souche LAI, MN.) et VIH2 du sous-type A (souche ROD). Ces tests mixtes sont donc capables de dépister les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2.

Plusieurs formats de tests sont disponibles :

Les tests ELISA :

Les tests EIA indirect : la fixation des anticorps du patient sur les antigènes du kit est révélée par une anti-globuline humaine anti-IgG marquée par une enzyme ce sont des tests robustes, peu sensibles aux variations

des épitopes des variants VIH surtout si les antigènes sont du lysat viral. Mais ils manquent de sensibilité lors de la primo-infection car ils sont incapables de détecter les iso types d'immunoglobulines non G. Leur spécificité est médiocre, les immunoglobulines non spécifiques pouvant se fixer sur le support solide et être révélées par l'anti-globuline marquée.

* **les tests EIA "sandwich"** : la révélation de la réaction antigène du kit anticorps anti-VIH du patient se fait non plus par une anti-globuline mais par un antigène marqué, en fixant sur les sites anticorps restés libres. Ce sont les tests les plus sensibles pour la détection des anticorps anti-VIH du sous-type B lors de la séroconversion. La spécificité est également excellente. Ils sont les plus utilisés dans le cadre du dépistage des dons du sang. Ils peuvent être pris en défaut lors d'infections par des variants majeurs comme les VIH-O et manquent de sensibilité lors des séroconversions par les variants non-B.

* **les tests EIA par immunocapture** : les immunoglobulines du patient se lient par leur extrémité Fc à des antiglobulines anti-Fc de la phase solide. La révélation de liaison se fait par des antigènes marqués, se fixant sur les sites Fab des anticorps restés libres. Ils permettent de détecter des immunoglobulines même en cas de forte dilution dans des milieux comme l'urine ou la salive. Cependant ils sont légèrement moins sensibles que les tests de troisième génération lors des séroconversions mais leur spécificité est bonne.

* **les tests EIA par compétition** : utilisent la différence d'affinité pour un antigène entre les anticorps anti-VIH du patient et un anticorps anti-VIH marqué par une enzyme. Les tests par compétition commercialisés utilisent uniquement des antigènes VIH-1 du groupe M. Ces tests sont hautement spécifiques. En cas de forte réactivité, l'infection VIH-1 groupe M est certaine. Les infections par VIH-2 et VIH-O sont non ou mal détectées et cette spécificité peut être utilisée pour différencier le type de souche infectante.

Les tests rapides : ce sont le plus souvent des tests par filtration du sérum sur une membrane ou un support recouvert d'antigènes recombinants VIH-1 et VIH-2. Ils ne nécessitent aucun équipement et sont réalisées à moins de 30 minutes. La simplicité d'emploi leur assure une large diffusion dans les pays en voie de développement. D'autres tests de réalisation simples sont les tests par agglutination de particules sensibilisées aux antigènes VIH. Ils sont généralement sensibles et de réalisation simple mais l'interprétation peut être parfois difficile. De réalisation unitaire et rapide, ils sont faciles d'exécution. Pour l'ensemble de ces tests, l'absence de résultats quantifiés et enregistrés sur support papier sont des obstacles à la traçabilité des manipulations. [35]

ELISA sandwich (A) : La microplaque est recouverte d'un antigène connu spécifique (Ag), ici de l'antigène VIH. Le sérum du patient est déposé ; les anticorps anti-VIH présents se fixeront sur l'Ag. Un autre antigène spécifique VIH, marqué par une enzyme E (Ag-E = conjugué) est ensuite ajouté pour « prendre en sandwich » les anticorps fixés. Le complexe est ensuite révélé par une réaction enzymatique colorée, à l'aide d'un substrat de l'enzyme E.

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

ELISA indirect (B) : L'unique différence avec le test sandwich est l'utilisation comme conjugué d'un anticorps anti-Ig humaine marqué par une enzyme E (anti-Ig-E), et non plus d'un antigène spécifique VIH marqué. [34]

*** Les tests rapides disponibles au laboratoire :**

Exemples :

Les tests rapides non discriminants avec une sensibilité élevée

- Détermine HIV-1/2, - Cypress Diagnostics, - Swifit, - Clearview Complete HIV -1/2, -Hexagon HIV, - Hema. Strip HIV, - Vikea

Les tests rapides discriminants avec une spécificité élevée

- ImmunoComb II HIV -1/2, - Génie II HIV-/HIV-2

*** Evolution des tests rapides**

Détermine HIV-1/2

Actuellement c'est un test immunologique qualitatif rapide in vitro pour la détection des anticorps humains du VIH-1 et VIH-2, de plus il est capable de détecter toute les sous types connus du VIH.

ImmunoComb II HIV-1/2

Ce test a un niveau excellent, et présente beaucoup d'avantages:

- La détection de la séroconversion
- La détection de l'antigène P24
- Le signal de séparation pour l'antigène P24 et anticorps du VIH
- Permet de différencier l'anticorps VIH-1 et VIH-2
- La détection de tous les types et sous types du VIH 1
- En plus de la détection des anticorps VIH-1/2, cet excellent Kit de 4ème génération est capable de détecter le VIH-1 antigène P24, ceci à une période très précoce de l'infection entre le 7-10 jours.

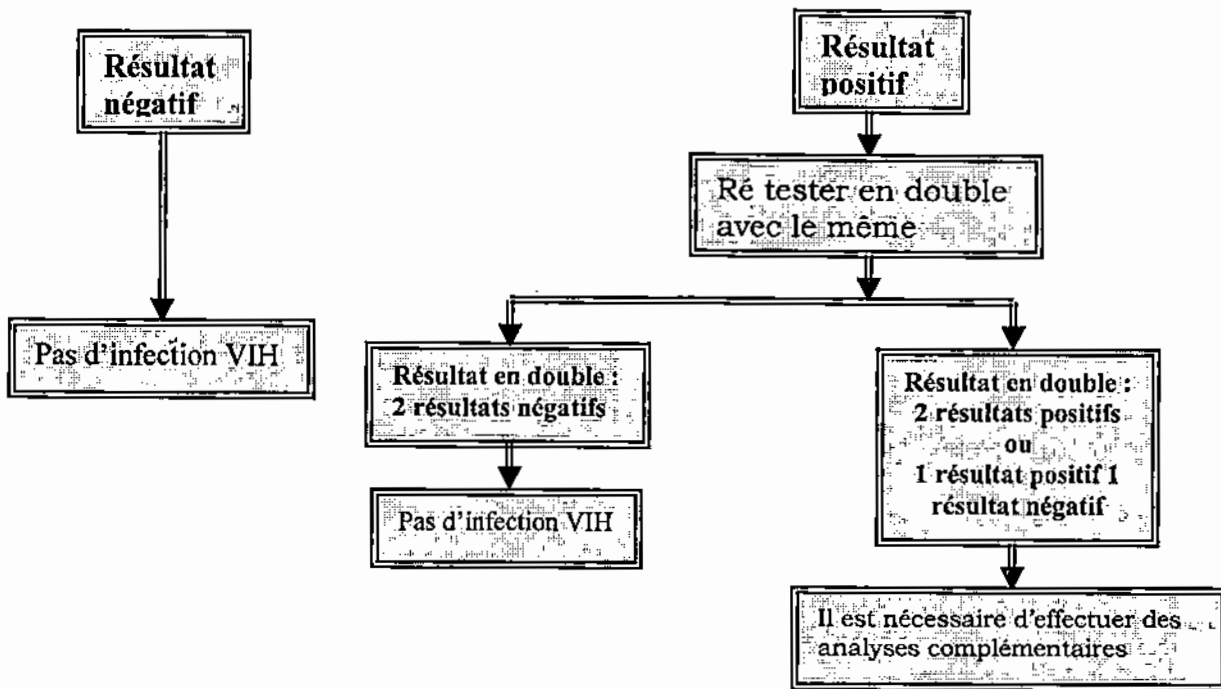


Figure 4 : Algorithme pour l'interprétation des tests de Sérologie utilisant un format de 4^{ème} génération. [35].

1.10.2. Tests de confirmation :

La technique de Western Blot (WB) est une méthode de référence mais son interprétation peut être délicate. Le recours au WB pour une confirmation VIH n'est pas systématique dans tous les pays, y compris dans les pays industrialisés. Elle est parfois informative permettant d'évoquer une séroconversion récente ou une infection par des variantes. Le plus souvent en cas d'infection à VIH, le WB sera pleinement réactif et donnera peu d'information complémentaire. Inversement, en cas de non infection, des réactivités non spécifiques sont fréquentes et d'interprétation difficile. Aussi des alternatives au WB sont nécessaires pour éviter un recours systématique à cet examen coûteux. Le WB est une technique de transfert sur la nitrocellulose, après migration électrophorétique en gel de polyacrylamide, de protéines d'un lysat viral VIH-1 ou VIH-2. Sur la bandelette de WB. Différentes protéines constitutives des virus seront reconnues par des anticorps spécifiques anti-VIH-1 ou VIH-2.

Les immunoblots utilisant des protéines de synthèse : ces tests de commercialisation récente et d'un coût aussi élevé que celui du WB proposent différentes protéines recombinantes ou peptidiques sous forme de strip sur bandelette ou de spot sur support plastique. Ces tests ne sont qu'une présentation sur un format différent des antigènes de synthèse utilisés lors des examens de dépistage et n'apportent aucune information complémentaire. [35] Malgré cette diversité d'outils sérologiques, un certain nombre de points communs

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

subsistent. En premier lieu, la nature des antigènes à utiliser est réduite. Dès 1984, il a été démontré que tout sujet séropositif développe obligatoirement des anticorps anti-enveloppe du VIH tout particulièrement dirigés contre un épitope séquentiel immuno dominant de la GPTM (épitope par définition également présent au niveau de la polyprotéine gp160). Ainsi des premiers tests développés utilisant du virus complet purifié dissocié, les technologies ont évolué pour intégrer dans les tests de dépistage des antigènes d'enveloppe recombinants ou synthétiques contenant cet épitope immuno dominant.

1.10.3. Stratégie du dépistage

Recommandation de l'OMS concernant les stratégies de dépistage

Le choix d'une stratégie repose sur :

- * L'objectif du dépistage.
- * La sensibilité et la spécificité des tests.
- * La prévalence du VIH dans la population testée.

Tableau I : Indications des stratégies alternatives. [34]

Objectifs	Prévalences	Stratégies
Sécurité Transfusionnel		I
Surveillance épidémiologique	> 10	I
	< 10	II
Diagnostic quand symptômes VIH	> 30	I
	< 30	II
Diagnostic quand asymptomatique		III

Stratégie I :

Les échantillons sont testés par ELISA ou par une méthode simple /rapide. En cas de réaction positive, le sérum est considéré comme positif pour les anticorps anti-VIH. S'il n'y a pas de réaction, le sérum est considéré comme négatif. Aux fins de la sécurité transfusionnelle, il convient de choisir le test le plus sensible. Si le résultat est positif, le don de sang doit être éliminé selon les mesures de précaution universelles. Pour diagnostiquer et rendre un résultat à un donneur ou à un patient il faudrait le plus souvent utiliser les stratégies II ou III.

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

- Surveillance des dons du sang

Diagnostic pour patient symptomatique (signes cliniques évocateurs) et prévalence >30%.

= Un seul test de dépistage

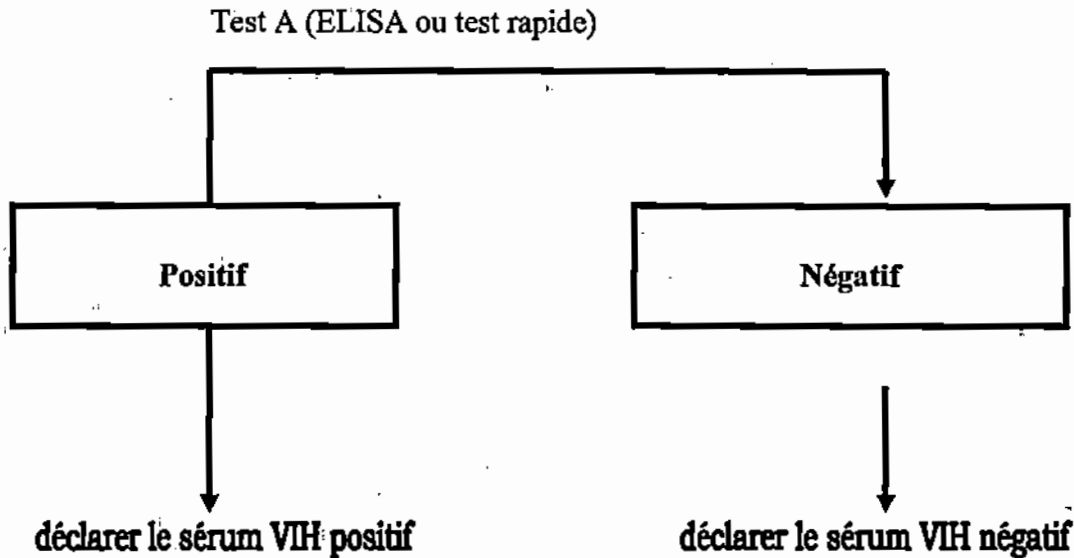


Figure 5 : Représentation schématique de la stratégie I. [35]

Stratégie II :

Tous les échantillons de sérum/plasma sont d'abord soumis à un ELISA ou à un test simple/rapide. Un sérum qui réagit au premier test (test A) est retesté avec un deuxième test (test B) ELISA ou un test simple/rapide, basé sur une préparation antigénique différente et/ou un principe différent (par exemple, méthode indirecte et méthode par compétition).

- * Un sérum qui réagit avec les 2 tests A et B est considéré comme positif pour les anticorps anti-VIH.
- * Un sérum qui ne réagit pas à la première épreuve (test A) est considéré comme négatif.
- * Tout sérum qui réagit à la première épreuve (test A positif) mais pas à la deuxième (test B négatif) doit être retesté par ces mêmes trousses. Si les résultats concordent après répétition (les 2 tests A et B sont positifs ou les deux tests A et B sont négatifs) le sérum est considéré soit positif, soit négatif. Si les résultats des 2 épreuves A et B demeurent discordants, le sérum est considéré comme indéterminé.

- Surveillance épidémiologique si la prévalence est < 10%

- * Diagnostic pour patient symptomatique (signe clinique évocateurs d'infection VIH) et prévalence < 30%

* Diagnostic pour patient asymptomatique et prévalence = Application séquentielle de deux tests de dépistage

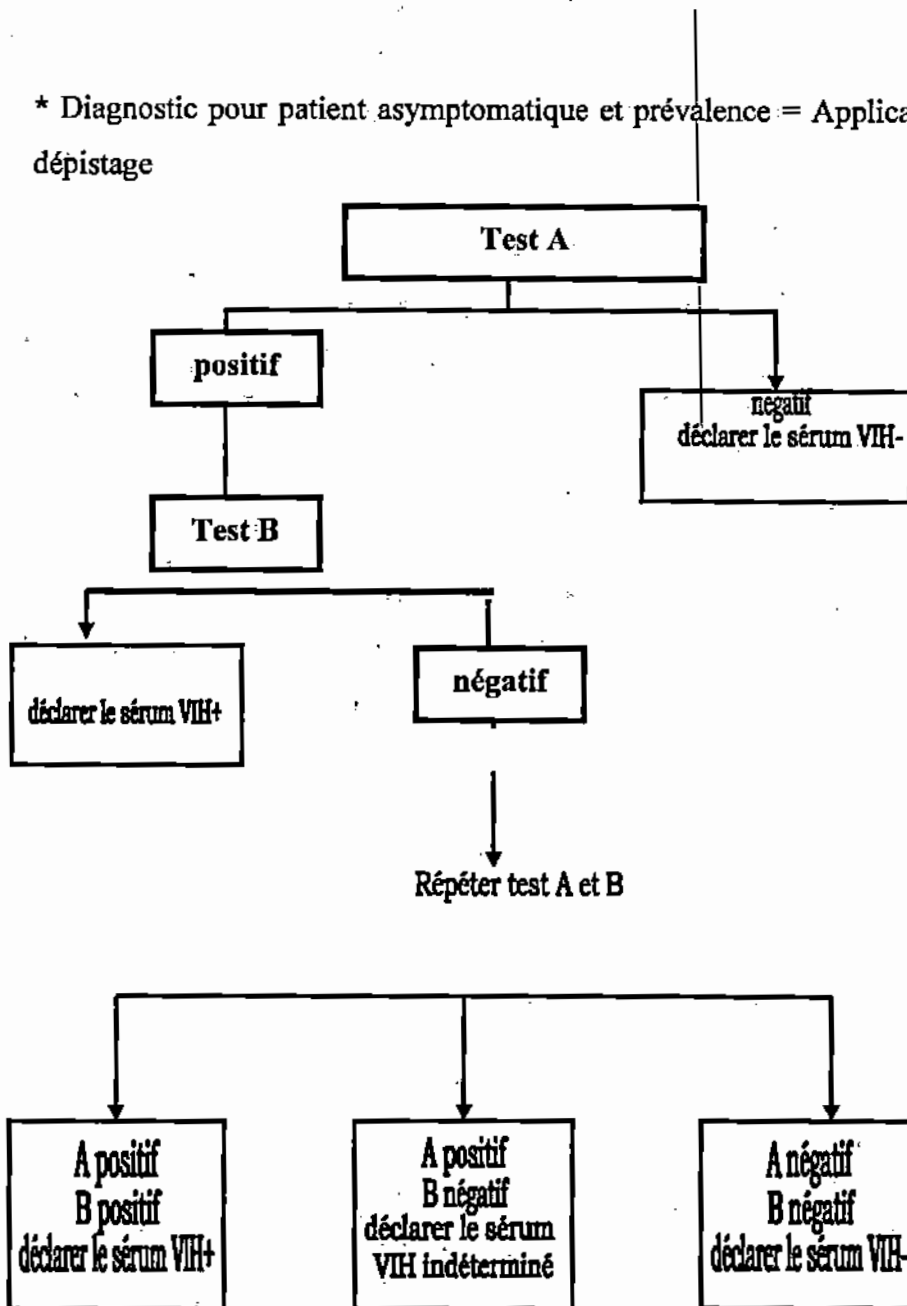


Figure 6 : Représentation schématique de la stratégie II. [35]

Stratégie III :

Lorsqu'il s'agit de tester des populations où la prévalence du VIH est peu élevée, même en utilisant un test dont la spécificité est élevée, la valeur prédictive positive sera faible. En conséquence, un test supplémentaire s'impose : c'est la stratégie III. Comme avec la stratégie II, tous les sérums sont d'abord testés par ELISA ou un test simple/rapide (test A), et un sérum trouvé positif au premier test est retesté avec un test différent (test B). Un sérum qui ne réagit pas au premier test est considéré comme négatif pour les anticorps anti-VIH. Un

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

sérum qui réagit au premier test mais ne réagit pas au deuxième doit être retesté au moyen de ces 2 épreuves. Cependant, la stratégie III fait appel à un troisième test (test C) si le sérum réagit au deuxième test ou lors de la répétition de la première épreuve. Les 3 tests employés dans cette stratégie doivent être fondés sur des préparations antigéniques différentes et/ou reposer sur des principes différents. Un sérum dont le résultat demeure discordant à la deuxième épreuve, ou qui réagit au premier et au second test mais ne réagit pas au troisième est considéré comme indéterminé. Un sérum qui réagit au premier test, mais ne réagit ni au deuxième ni au troisième test est considéré comme douteux quand il s'agit de personnes ayant été exposées au risque d'infection par le VIH au cours des 3 derniers mois et négatif quand il s'agit de personnes n'ayant pas été exposées à ce risque.

- diagnostic pour patient asymptomatique et prévalence >10%

= Application séquentielle de trois tests de dépistage

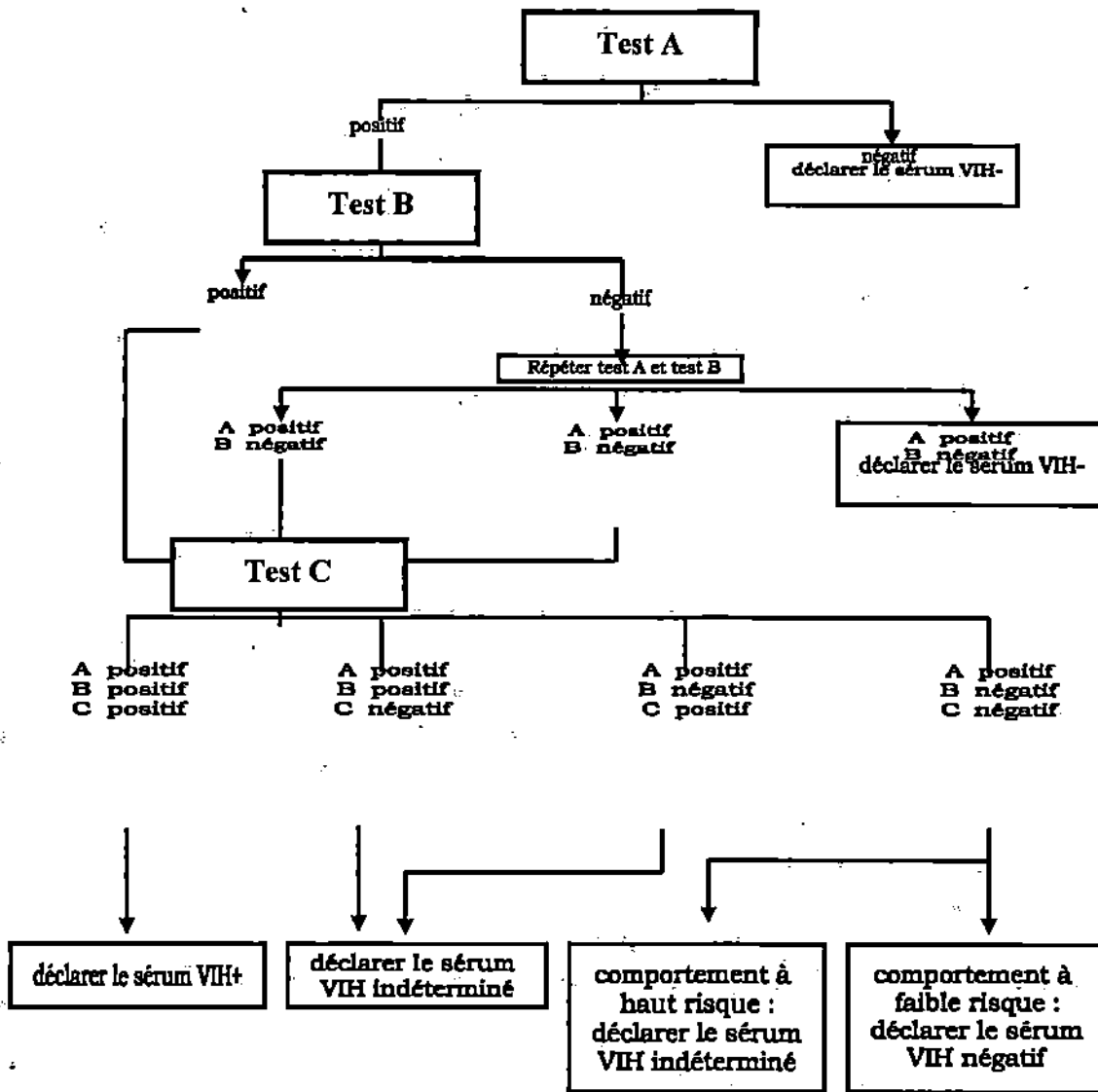


Figure 7: Représentation schématique de la stratégie III. [35]

Etant donné la précocité d'apparition des anticorps anti-p24, certains fabricants de réactifs ont choisi d'inclure cet antigène de capsid dans leurs tests. Quel que soit le format du test de détection des anticorps anti-VIH, ne sont disponibles pour le dépistage que les réactifs ayant obtenu l'autorisation de mise sur le marché par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSPS) et satisfaisant aux critères stricts de sensibilité et de spécificité exigés lors des expertises d'enregistrement et de réactionvigilance régulièrement organisées.

Etant donné les implications pour le patient d'une séropositivité HIV, ainsi que l'existence de réactions faussement positives par ELISA, il est absolument obligatoire de pratiquer un test de confirmation avant de délivrer un résultat positif. Le western blot (ou immuno transfert) est actuellement le test de confirmation de choix. Cette technique, qui consiste très schématiquement en un test ELISA sur bandelette, permet de visualiser précisément la présence d'anticorps anti-protéines structurales du VIH. Il est ainsi possible de mettre en évidence les anticorps dirigés contre les produits des trois grands gènes, gag, pol et env. Les protéines gag (ou protéines internes, dites de core) les plus intéressantes pour le western blot sont le précurseur p55 et les protéines matures p24 et p17. Les protéines pol, correspondant aux enzymes virales, sont représentées principalement par les antigènes p66 et p32. Les protéines env (ou protéines d'enveloppe) sont les antigènes les plus importants pour le diagnostic ; ce sont les protéines gp 160 (précurseur), gp 120 (GPSU) et gp41 (GPTM). Les immunoblots peuvent utiliser soit les protéines virales issues du virus purifié et dissocié (lysat viral), soit des antigènes recombinants. Le test étant réalisé dans des conditions satisfaisantes, il reste à interpréter correctement les résultats. Dans la grande majorité des cas, cette interprétation ne pose pas de problème. L'Organisation Mondiale de la Santé recommande la présence au minimum d'anticorps dirigés contre les produits de deux gènes incluant obligatoirement le gène env (anti-env + pol ou anti-env + gag), ou éventuellement la présence d'anticorps dirigés contre seulement deux protéines d'enveloppe, pour affirmer la séropositivité. Cependant, il existe des difficultés qui obligent le biologiste à une grande prudence dès que le résultat observé n'est pas celui d'une franche positivité. [30]

1.11. Principe de prévention et stratégie de traitement

1.11.1. La prévention de l'infection par le VIH

La lutte contre l'infection par le VIH est désormais une des priorités de la santé publique à travers le monde. L'information et l'éducation sont aujourd'hui les seules armes disponibles et susceptibles de limiter la propagation du VIH dont l'infection est incurable et sans vaccin. [38]

1.11.1.1. La prévention de la transmission par le sang

Elle est assurée par la réalisation systématique de la sérologie chez les donneurs de sang ou d'organes et des produits dérivés du sang.

L'effort doit porter sur :

- * La nécessité de la réduction du nombre de transmission,
- * La promotion du matériel à usage unique ou d'une stérilisation adaptée qui doit être fait dans les circonstances qui le réclament (tatouage, excision, circoncision, sacrifice, toxicomanie, etc.)
- * La mise en place de mesures de précautions universelles vis-à-vis du risque d'accident d'exposition (contamination professionnelle).

1.11.1.2. La prévention de la transmission sexuelle

Elle est basée sur :

- * L'accès et l'utilisation correcte du préservatif lors de chaque rapport sexuel.
- * L'information visant à modifier les comportements sexuels. Le message prioritaire est celui de la fidélité mutuelle des partenaires, si ces derniers ne le sont pas infectés au début de la relation.

1.11.1.3. La prévention de la transmission mère-enfant (PTME)

Elle est la plus délicate. Cependant, deux stratégies peuvent être adoptées pour réduire cette transmission.

- * La prévention primaire de la transmission du virus de la mère à l'enfant, qui consiste à prendre des mesures pour protéger les femmes en âge de procréer, d'une infection par le VIH,
- * L'utilisation de médicaments antirétroviraux et des méthodes alternatives d'alimentation des nourrissons. Ces dernières constituent cependant un problème complexe. Une seule forme de traitement avait fait preuve de son efficacité dans la réduction du risque de la TME. Cette étude est connue sous le code ACTG076 qui a démontré que la Zidovidine (AZT) administrée par voie orale à partir du 4ème mois de la grossesse, par voie intraveineuse pendant le travail puis durant six semaines au nourrisson non nourri au sein, réduit de 2/3 le risque de la TME. [39] Actuellement d'autres molécules telles la Névirapine ou le 3TC sont utilisées.

1.11.1.4. La perspective de vaccination

La meilleure manière de lutte contre la pandémie du VIH/SIDA serait de disposer d'un vaccin préventif sans danger, efficace et abordable. Les recherches dans ce domaine ont déjà avancé mais les principaux problèmes techniques sont : l'impossibilité d'utiliser les formules classiques des vaccins (vaccins vivants car trop dangereux, vaccins tués car trop difficiles à produire et apparemment peu efficace), l'absence de modèle animal, ce sont surtout les obstacles biologiques qui sont les plus redoutés.

1.11.2. Traitement

Au début de l'infection, lorsqu'on ne disposait que d'une seule famille d'ARV incapable d'anéantir suffisamment la réplication du VIH, l'existence des personnes vivant avec le VIH (PVVIH) se déroulait presque de la même manière suivant le même cours immuable : destruction progressive du système immunitaire, mise en route d'une prophylaxie pour éviter les infections opportunistes, arrêt précoce des activités, émaciation, enchaînement de périodes de mieux être et de dégradation ponctuant le déclin inexorable vers le déficit immunitaire total et finalement la mort. Mais suite à l'apparition de nouvelles

familles d'ARV administrées en association depuis 1996 dans les pays riches, la vie des PV VIH s'est beaucoup améliorée.

Bien qu'ils ne guérissent pas, ces traitements ont le mérite d'avoir réduit la mortalité et la morbidité, prolongé la survie, amélioré la qualité de vie, revitalisé les communautés et fait du SIDA une maladie chronique avec laquelle on peut vivre et non un fléau. [40]

Au Mali, sous l'impulsion de l'IMAARV, qui s'est sommée à la gratuité des ARV, les plus hautes autorités de notre pays tentent d'infléchir l'avancée du SIDA. Le traitement ARV est très complexe et nécessite la prise en compte de plusieurs facteurs ; notamment cliniques, biologiques et psychosociaux. Ces facteurs sont spécifiques pour chaque patient et une décision de mise sous traitement doit s'accompagner d'une information aussi complète que possible du patient sur les ARV. [41] Le choix du traitement doit tenir compte de son efficacité, du nombre de prises et du nombre d'unités par prise, des effets secondaires, des interactions et du type de VIH. [27]

Le traitement vise à :

Réduire la morbidité et la mortalité liées au VIH ;

Préserver et/ou restaurer la fonction immunitaire ;

Réduire de façon nette la survenue d'infections opportunistes ;

Réduire la charge virale au niveau le plus bas possible, le plus longtemps possible ;

Prévenir l'apparition des variants génétiques.

Les antirétroviraux (ARV) :

Les antirétroviraux constituent un groupe de médicaments anti infectieux antiviraux actifs sur les virus du syndrome de l'immunodéficience acquise (VIH 1 et VIH 2). Il s'agit de médicaments essentiellement virustatiques qui agissent par inhibition enzymatique. [36] La zidovudine (AZT), premier anti rétroviral à avoir été mis sur le marché est connue depuis 1964 (étudiée pour ses propriétés anticancéreuses). Son activité anti rétroviral (sur le virus du Friend fut démontré en 1975), celle contre le VIH a été démontré au National Cancer Institutes (USA) puis son développement clinique subventionné conduit dans un temps record à une autorisation de mise sur le marché en 1987. A cette même date Food and Drug Administration à l'USA a homologué l'AZT. Les années suivantes, d'autres nouveaux médicaments de la même famille ont été introduits (Didanosine, Stavudine, Abacavir, Lamivudine). Les principaux problèmes rencontrés avec tous ces produits, y compris l'AZT sont leur activité limitée, leur toxicité et leur intérêt diminuant avec les temps à cause de l'apparition de résistances. En 1996 une autre famille d'ARV fut disponible, les inhibiteurs de la protéase qui feront naître de nouveaux espoir par la trithérapie. [36] Les ARV actuellement disponibles agissent aux niveaux deux enzymes nécessaires à la réplication du VIH et d'entrée du virus dans la cellule :

* Les inhibiteurs de la reverse transcriptase.

* Les inhibiteurs de la protéase.

* Les inhibiteurs de la fusion et d'entrée.

* Les inhibiteurs de l'intégrase. [37]

1.11.2.1. Molécules antirétrovirales :

Les ARV actuellement disponibles agissent au niveau de deux enzymes nécessaires à la réplication du VIH :

* Inhibition de la transcriptase inverse (TI), enzyme permettant la synthèse d'ADN complémentaire à partir de l'ARN viral et précède son intégration dans le génome de la cellule hôte ;

* Inhibition de la protéase (IP), enzyme nécessaire au clivage des précurseurs polypeptidiques viraux pour la production des protéines virales. [42 41 43]

1.11.2.1.1. Inhibiteurs Nucléotidiques de la Transcriptase Inverse (INTI)

Première classe d'ARV mis sur le marché, les INTI dont le développement a débuté dès 1985 avec la mise en évidence de l'activité inhibitrice de la TI des dérivés didésoxynucléosidiques in vitro, continuent d'être la pierre angulaire des combinaisons ARV. Les INTI sont les dérivés des nucléosides naturels. Ils sont considérés comme des prodrogues dans la mesure où ils subissent une triphosphorylation intracellulaire conduisant au dérivé actif de la TI et cela par compétition avec les nucléosides naturels. La diversité actuelle des INTI permet d'adapter les traitements ARV selon les effets secondaires chez un patient donné.

Les principaux INTI sont : - Zidovudine, - Didanosine, - Zalcitabine, - Stavudine, - Lamivudine, - Abacavir, - Tenofovir, - Emtricitabin. [42 41 43]

1.11.2.1.2. Inhibiteurs Non Nucléotidiques de la Transcriptase Inverse (INNTI)

Les INNTI constituent une famille d'ARV structurellement et chimiquement différente des analogues nucléosidiques. Ce sont des inhibiteurs puissants et très sélectifs de la TI du VIH, ils sont inactifs sur le VIH-2. A la différence des INTI, les INNTI inhibent la TI de façon non compétitive en se fixant directement sur le site catalytique de l'enzyme. Pour être actifs, ils ne nécessitent pas de modifications chimiques, en particulier pas d'étapes de phosphorylation ; ils sont quasi exclusivement métabolisés dans le foie.

Les principaux INNTI sont : - Névirapine, - Efavirenz, [42 41 44] - Etravirine

1.11.2.1.3. Inhibiteurs de Protéase (IP).

L'avènement de cette nouvelle classe d'ARV a constitué un événement majeur dès 1996 dans le développement de nouvelles stratégies antirétrovirales. Les inhibiteurs de protéase sont in vitro tous actifs sur le VIH-1 et VIH-2 à des concentrations nano molaires. Contrairement aux INTI, les IP sont directement actifs sans nécessité de passer par des étapes de phosphorylation intracellulaire.

Les principaux IP sont : - Saquinavir, - Ritonavir, - Amprénavir, - Lopinavir+Ritonavir, - Atazanavir. [42 41 43] - Darunavir

1.11.2.2. Nouvelles molécules

Parmi les nouvelles voies thérapeutiques, est conduite depuis plusieurs années la recherche d'autres sites d'action antirétrovirale (Inhibiteurs de l'intégrase, inhibiteur de l'entrée du VIH dans la cellule, etc.) et d'autres molécules à l'intérieur des familles existantes afin de contourner le problème des résistances croisées. [45 42 41 43]. Les inhibiteurs de fusion et d'entrée agissent au premier stade de la réplication du virus en empêchant la fusion entre le virus et la cellule par inhibition compétitive. [46]

1.11.2.2.1. Inhibiteurs de fusion et d'entrée

Les inhibiteurs de fusion interviennent au moment de la pénétration et bloquent la protéine gp41 l'empêchant de se lier à la membrane cytoplasmique. Plusieurs produits sont à l'étude et seul l'Enfuvirtide a reçu une autorisation de mise sur le marché américain en 2003. Son mode d'administration est injectable par voie sous-cutanée.

L'inhibiteur de fusion et d'entrée : - Enfuvirtide. [47]

1.11.2.2.2. Inhibiteurs de corécepteurs :

Les corécepteurs les plus connus sont dénommés CCR5 et CXCR4. CCR5 est présent sur les macrophages, les cellules ganglionnaires, les astrocytes cérébraux et aussi les lymphocytes. CXCR4 est présent sur les lymphocytes. [49]

- Maraviroc. [48]

1.11.2.2.3. Anti- intégrases:

- Raltegravir, - Elvitegravir. [48]

2. METHODOLOGIE

2.1. Cadre de l'étude

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire du CHU Gabriel Touré situé à cheval entre les communes II et III au centre commercial de Bamako et bâti sur une superficie de 3,1 hectares. En 1959, l'ancien Dispensaire Central de Bamako a été érigé en hôpital. Il sera baptisé «Hôpital Gabriel Touré» en hommage au sacrifice d'un jeune Malien (Ex- Soudan Français) stagiaire en médecine mort lors d'une épidémie de peste, maladie qu'il contracta au cours de son stage en 1934. L'Hôpital Gabriel Touré a été érigé en Etablissement Public à caractère Administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion. C'est l'un des onze (11) Etablissements Publics à caractère Hospitalier (EPH) institués par la loi n° 94-009 du 22 mars 1994 modifiée par la loi n°02-048 du 12 juillet 2002 portant création du Centre Hospitalier Universitaire (CHU). Le laboratoire actuel est l'ancienne pharmacie de l'hôpital réaménagée en laboratoire.

Il comprend :

- * deux grandes salles de travail pour l'hématologie et la biochimie,
- * une salle de prélèvement et de parasitologie,
- * une salle de stérilisation,
- * une salle de garde avec toilette,
- * un bureau de chef de service,
- * trois salles aménagées récemment pour les activités de bactériologie et équipées en matériels de bactériologie » (3 automates d'hémoculture BACTEC® 9050, 2 hôtes, des congélateurs des réfrigérateurs, des micro-ordinateurs avec une communication sur Internet.

Les activités sont regroupées par section, chaque section est dirigée par un interne :

- * section de biochimie équipée d'un Spectrophotomètre,
- * section d'immuno- hématologie équipée d'un Counter ABX micros 60,
- * section de parasitologie équipée de Microscopes,
- * section de bactériologie pour la recherche,
- * section pour les taux de CD4 équipée d'un BD FACS Count™, etc.

Le personnel comprend :

- * un pharmacien biologiste,
- * une dizaine d'internes en pharmacie,
- * des techniciens de laboratoire repartis entre les différentes sections du laboratoire,
- * un personnel de surface.

Les activités de recherche bactériologique sont supervisées par un professeur de bactériologie virologie. L'équipe technique de bactériologie est appuyée par une technicienne supérieure de l'Institut national de

Recherche en Santé Publique (INRSP) et comprend en outre de pharmaciens biologistes, deux techniciens supérieurs et des internes en pharmacie.

2.2. Population d'étude

Notre population d'étude était constituée par les patients adultes référés au laboratoire pour un dépistage du VIH, soit parce qu'ils sont malades (hospitalisés ou non) soit parce qu'ils ont décidé volontairement de connaître leur statut sérologique.

2.3. Type d'étude

Il s'agissait d'une étude d'observation, transversale et descriptive pour le diagnostic sérologique de l'infection à VIH chez les personnes adultes malades hospitalisées et les volontaires référées au laboratoire du CHU Gabriel Touré.

2.4. Critères d'inclusion et de non inclusion

2.4.1. Critères d'inclusion

Sont inclus dans notre étude tous les patients de 18 ans et plus venant au laboratoire pour un dépistage du VIH, en interne (hospitalisés) ou en externe et tous volontaires, du CHU Gabriel Touré.

2.4.2. Critères de non inclusion

N'était pas inclus dans notre étude tout patient qui malgré un counseling ne souhaiterait pas faire le test et tout patient de moins 18 ans.

2.5. Aspects éthiques

2.5.1. Confidentialité

Les noms des patients ne figurant pas dans l'étude, l'anonymat a été respecté.

2.5.2. Consentement éclairé

Un consentement éclairé a été obtenu après explication aux patients des bénéfices et des contraintes liés au dépistage, dans sa langue usuelle.

2.5.3. Risques liés à l'étude : Les malades ont été informés des risques qu'ils courent en faisant le dépistage tels que la douleur aux points de piqûre et les possibles infections du site de prélèvement.

2.5.4. Respect des références bibliographiques

Les textes des références bibliographiques n'ont pas fait l'objet de modifications. La propriété intellectuelle des auteurs de nos références bibliographiques a été respectée.

2.6. Echantillonnage

2.6.1. Méthode et techniques d'échantillonnage

L'échantillonnage utilisé dans cette étude était exhaustif. Il concernait l'ensemble des patients de 18 ans et plus référés au laboratoire pour un test VIH dans le cadre d'un bilan systématique ou pour une confirmation de diagnostic d'une immunodéficience à VIH ou pour un dépistage volontaire pendant la période d'étude.

2.6.2. Taille de l'échantillon

Durant la période d'étude allant du 1^{er} janvier 2006 au 31 décembre 2008, l'effectif des personnes dépistées au laboratoire a été de 10105 patients qui ont constitué notre échantillon.

2.6.3. Variables étudiées

Les variables sélectionnées pour atteindre les objectifs fixés ont été les suivants :

Age, sexe, service de référence, profession, statut sérologique et type de virus diagnostiqué,

2.7. Conditions de sécurité au laboratoire

- port de gant et blouse,
- lavage des mains après élimination des gants,
- eau de javel pour effluents (sérum – lavage),
- pas de contact des substrats avec la peau,
- nettoyage des paillasses à l'eau de javel puis à alcool à 70°,
- utilisation de 2 sortes de poubelles :
 - * une pour cartons d'emballage, papiers...
 - * une pour déchets contaminés pour incinération,
- élimination des pipettes après une nuit en eau de javel (containers spéciaux),
- lavage des mains avant de quitter le labo,
- toute plaie doit être protégée (pansement),
- blessures avec sang :
 - * nettoyage à l'eau de javel et au savon,
 - * rinçage,
 - * désinfection avec l'alcool à 70° pendant 3 minutes ou eau de Javel diluée au 1/10,
- projection dans les yeux (laver abondamment à l'eau ou au sérum physiologique),
- déclaration des accidents de travail sur le registre et suivi sérologique (faire une sérologie dès l'accident puis contrôler à 3 semaines et à 3 mois),
- la mise à la disposition de médicaments anti- rétroviraux pour le personnel de l'hôpital en cas de risque important doit être réfléchi en fonction des disponibilités.

2.8. Optimisation des conditions opératoires

- Avant l'utilisation du kit :
 - * laisser équilibrer les réactifs d'un KIT 10 pendant 30 minutes à la température ambiante (se conformer aux recommandations du fabricant),
 - * vérifier que le kit n'a pas atteint la date de péremption,
 - * ne jamais mélanger les réactifs de lots différents.
- Pendant l'utilisation du kit :

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

- * respecter les dilutions et temps d'incubation,
- * vérifier le volume de « dispense » et l'utilisation correcte des micropipettes. (Vérifier le calibrage de ces pipettes),
- * s'assurer que la verrerie a bien été rincée à l'eau distillée avant utilisation puis séchée.

2.9. Méthode de laboratoire

Stratégie nationale de dépistage

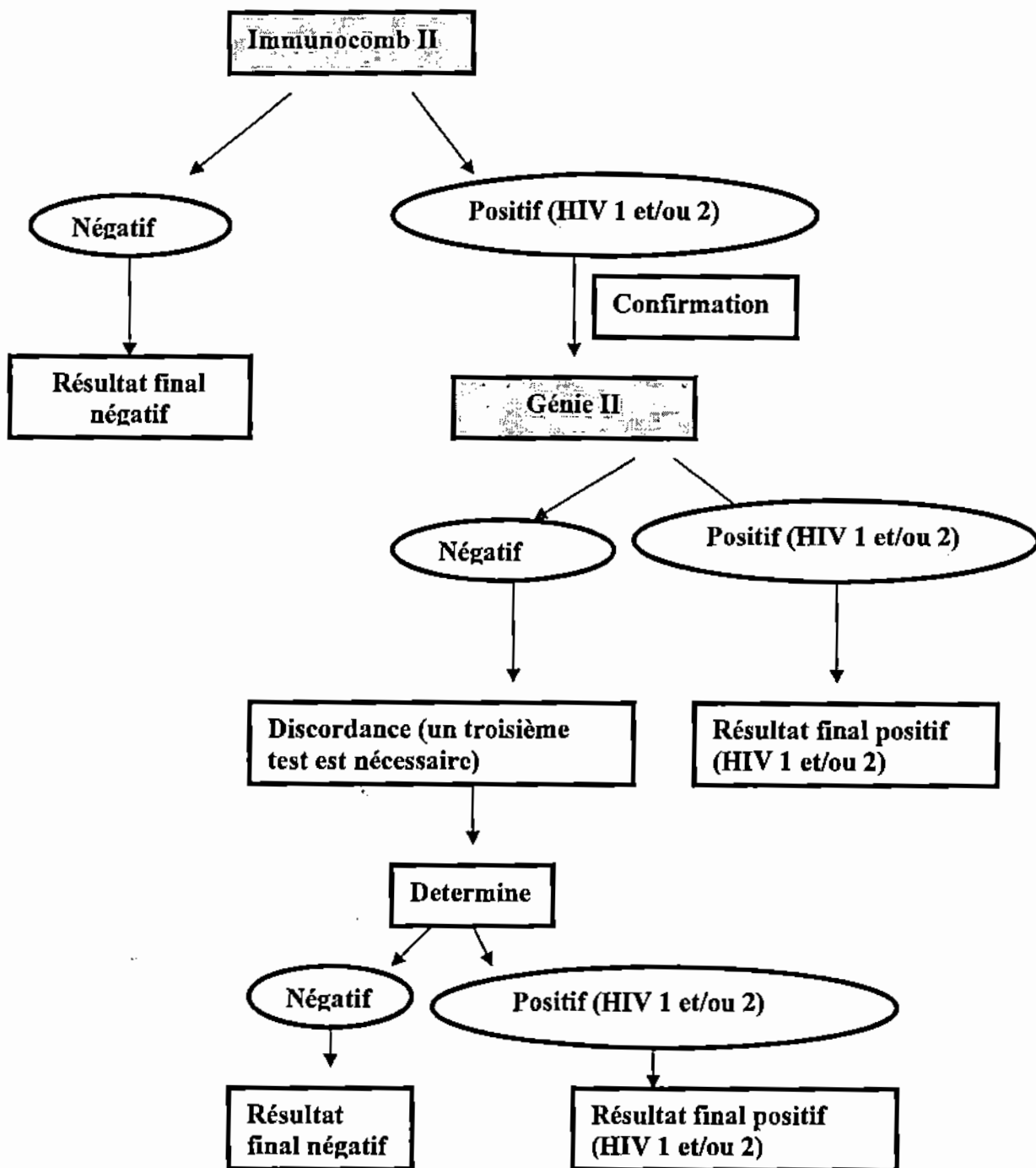


Figure 8: Algorithme adopté à partir de 2001. [61]

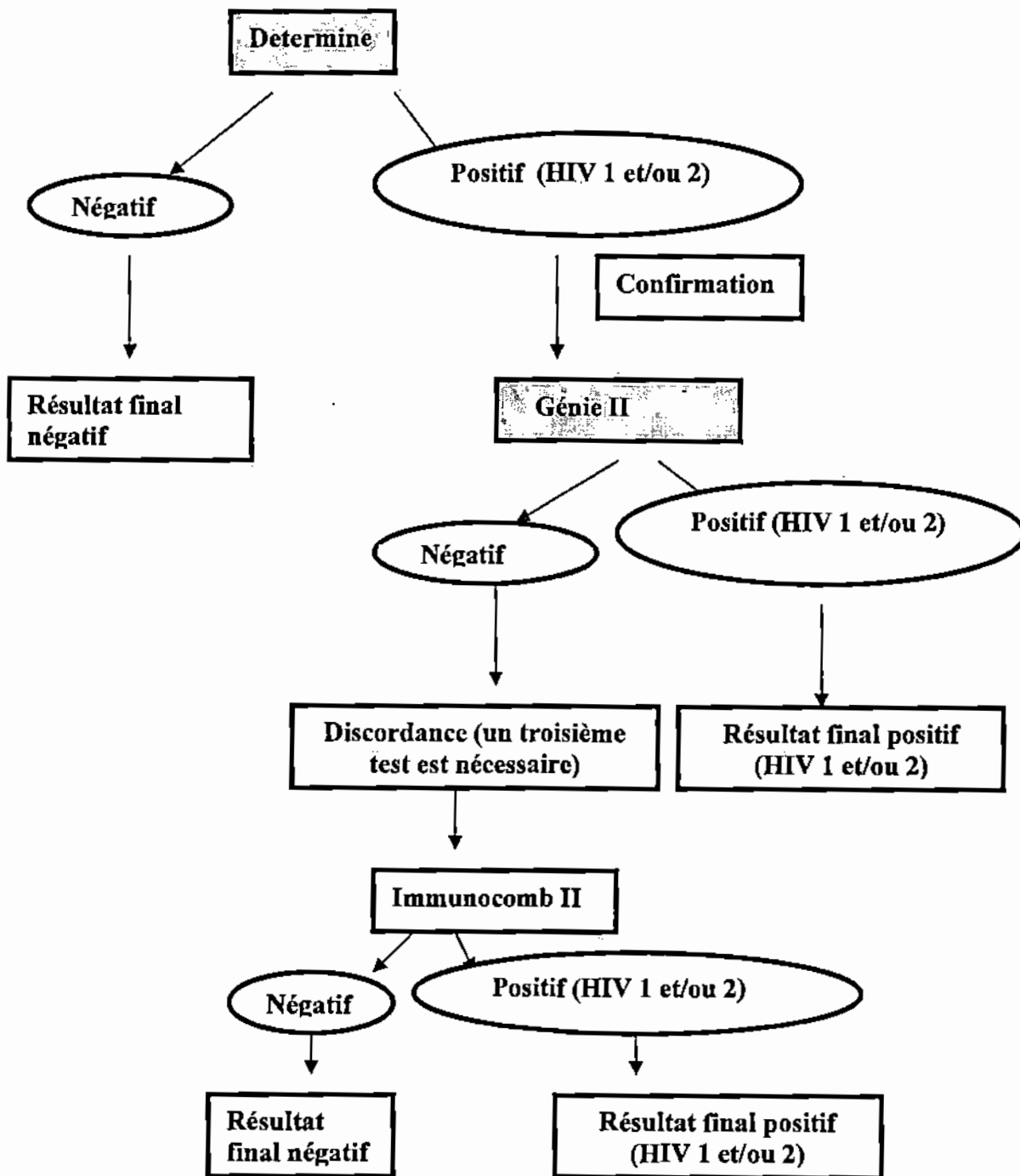


Figure 9: Algorithme utilisé durant notre étude.

Dans notre nous avons utilisé quatre tests:

2.9.1. Sérodiagnostic de HIV par le Détermine HIV-1/2

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

Principe du test

Détermine HIV-1/2 est un test Immuno chromatographique pour la détection qualitative des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2. L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon et l'échantillon migre jusqu'à la zone de dépôt du conjugué, il se reconstitue et se mélange avec le conjugué colloïde de sélénium antigène. Ce mélange continue à migrer sur la phase solide jusqu'aux antigènes recombinants immobilisés et aux peptides synthétiques au niveau de la fenêtre patient. Si les anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont présents dans l'échantillon, ils se lient à l'antigène du conjugué antigène colloïde de sélénium et à l'antigène de la fenêtre/patient en formant une ligne rouge au niveau de la fenêtre patient. Si les anticorps anti-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont absents, le conjugué antigène colloïde de sélénium traverse la fenêtre/patient sans former de ligne rouge. Une barre de contrôle de la procédure est inclus dans ce système de test afin d'assurer la validité du test.

2.9.2. Sérodiagnostic du VIH par Cypress Diagnostic

Test rapide HIV-1/2

Trousse de test de dépistage qualitatif pour détecter les anticorps anti-VIH-1/2 dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. A usage professionnel uniquement.

Principe du test

Le dosage HIV-1/2 de Cypress utilise une association unique d'un cocktail d'antigènes recombinants qui est conjuguée sur des particules colorantes d'or colloïdal, et d'antigènes recombinants complémentaires pour VIH-1/2, qui sont fixés à la phase solide de la membrane. Parce que les antigènes sont recombinants, ils ne sont pas infectieux. L'essai détectera également des anticorps des sous- types O. L'échantillon est appliqué au puits SAMPLE (S) et additionné d'un tampon migrateur. Ce dernier facilite la migration latérale des produits libérés, tout en favorisant la fixation des anticorps et de l'antigène. S'ils sont présents, les anticorps se fixent à la protéine fixant l'anticorps conjugué à l'or. Dans un échantillon positif, le complexe immunitaire conjugué au colorant migre sur la membrane de nitrocellulose et est capturé par les antigènes immobilisés dans la zone TEST (T), en produisant une ligne rouge. En l'absence d'anticorps anti-VIH-1/2, on n'observe pas de ligne rouge dans la zone TEST. L'échantillon continue de migrer par la membrane et produit une ligne rouge dans la zone CONTRÔLE (C), ce qui atteste que l'essai a été réalisé correctement.

Composants de la trousse :

Chaque trousse contient les éléments nécessaires à la réalisation de 40 tests :

Dispositifs de test- 40 ;

Tampon- 2 flacons ;

Pipettes- 40 ;

Lancettes stériles à usage unique (uniquement pour le prélèvement d'échantillons de sang par piqûre aux doigts) – 40.

Matériel supplémentaire requis :

Minuterie ;

Compressees stériles imbibées d'alcool (uniquement pour le prélèvement d'échantillons de sang par piqûre au doigt).

Limites de la méthode

Cette méthode VIH-1/2 et les consignes relatives à l'interprétation des résultats doivent être suivies très scrupuleusement. Il s'agit d'un test de dépistage destiné à détecter les anticorps contre le VIH-1/2 dans le sérum, le plasma ou le sang total humain. Il ne faut valider aucun résultat du test d'autres liquides organiques ou de pools sériques ou plasmatiques.

Bien que le test soit bien précis pour la détection des anticorps contre les antigènes VIH-1/2, une incidence faible de résultats erronés peut se produire

Les résultats positifs doivent être confirmés par un immunotransfert du type Western ou une procédure alternative et il faut procéder à l'évaluation clinique de l'état du patient avant de poser un diagnostic final.

Le test rapide ne doit pas être utilisé seul pour poser le diagnostic d'une contamination par le VIH-1/2, même en présence d'anticorps anti-VIH-1/2. Un résultat négatif à n'importe quel moment n'exclut pas la possibilité d'une infection par le VIH-1/2. Si des résultats négatifs ou incertains sont obtenus et l'infection par le VIH est suspectée, l'essai devrait être répété deux semaines plus tard sur un échantillon de sérum frais.

Performances

Sensibilité : La sensibilité relative du test VIH- 1/2 de Cypress et un système d'EIA vendu dans le commerce pour la détection de l'anti-VIH-1/2 dans les sérums ont été comparés en testant des dilutions sérielles d'échantillons de sérum positifs d'anticorps VIH-1/2 de Cypress présente une sensibilité comparable au système d'EIA vendu dans le commerce et est largement supérieur à plusieurs essais à format rapide comparatifs.

Spécificité : La spécificité a été déterminée en interne en utilisant des séries d'échantillons de champ caractérisés de sérums et de sang total (VIH-1 et VIH-2) positifs et négatifs. [51]

2.9.3. Sérodiagnostic du VIH par l'Immunocomb II

Principe du test

La trousse IMMUNOCOMB II HIV-1 & 2 Bi Spot est un test Immuno enzymatique indirect en phase solide (EIA). La phase solide est un peigne de 12 dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface en trois points
Spots de réaction :

Spot supérieur – anticorps de chèvre anti-immunoglobulines humaines (Contrôle interne).

Spot médian - peptides synthétiques VIH-2

Spot inférieur - peptides synthétiques VIH-1.

Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et pré- distribués dans le bac de développement. Le bac de développement est divisé en 6 compartiments (A à F) de 12 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 débute par la distribution des échantillons de sérum ou de plasma dans les puits du compartiment A du bac de développement. Le peigne est alors introduit dans le compartiment A. Les anticorps anti-VIH éventuellement 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 capturées au niveau du spot supérieur par les anticorps anti-Ig humain (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 les compartiments C et D, les immunoglobulines humaines de classe fixées sur les dents du peigne sont recounees par des anticorps de chèvres anti-humaines conjugués à la phosphatase alcaline. Après une nouvelle étape de lavage dans le compartiment E, la phosphatase alcaline réagit dans le compartiment F avec un composé chromo-génique. Cette dernière réaction entraîne la visualisation des résultats sous forme de spots gris-bleu à la surface des dents du peigne.

Bacs de développement :

La trousse comprend trois bacs de développement recouverts par un film d'aluminium. Chaque bac de développement contient tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test. Un bac de développement est constitué de 6 compartiments (A à F) de 12 puits chacun.

Chaque compartiment contient les réactifs suivants :

Compartiment A : diluant d'échantillons

Compartiment B : solution de lavage

Compartiment C : anticorps de chèvre anti-humaine conjugué
à la phosphatase alcaline

Compartiment D : anticorps de chèvre anti-humaines conjugué à la phosphatase alcaline

Compartiment E : solution de lavage

Compartiment F : substrat chromo-génique contenant du 5-bromo-4-chloro-3-indolyl phosphate (BCIP) et nitro-bleu-tétrazolium (NBT)

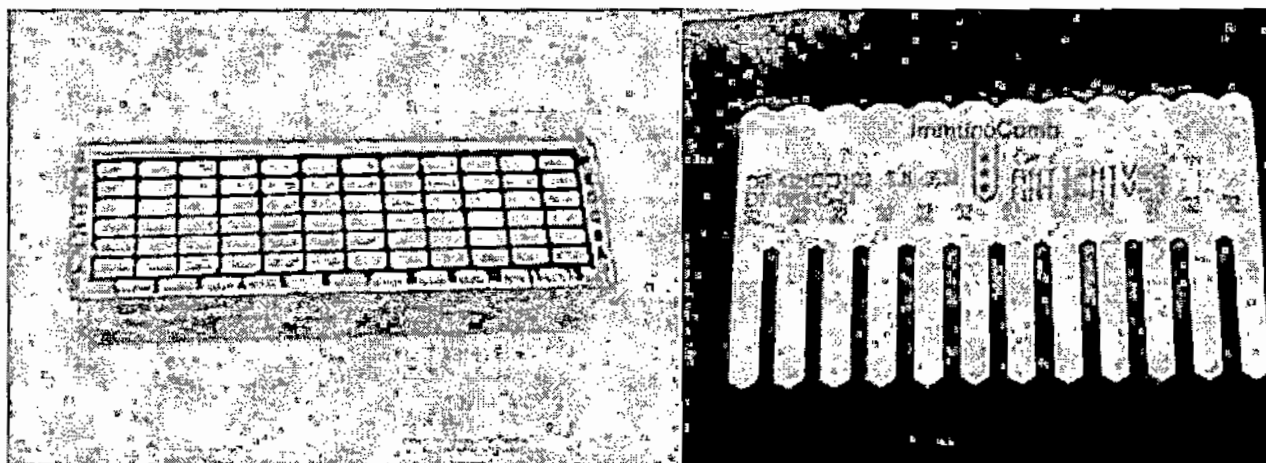


Figure 10 : Bac de développement et peignes.

Source : Photographies. Dr Samba Adama SANGARE laboratoire CVD CHU Gabriel Touré.

Sécurité et précautions d'emploi :

Cette trousse est réservée au diagnostic in vitro seulement.

- * Bien qu'inactivé, le contrôle positif doit être considéré comme potentiellement infectieux.
- * Tous les autres produits d'origine humaine entrant dans la composition des contrôles ont été testés et trouvés négatifs pour l'antigène de surface du virus de l'hépatite B (AgHBs) et pour les sérologies de l'hépatite C et du VIH. Néanmoins, aucune méthode de dépistage ne pouvant garantir l'absence totale de contamination virale, tout contrôle ou échantillon humain doit être considéré comme potentiellement infectieux et être manipulé comme tel.
- * Se protéger avec des gants et une blouse de laboratoire. Suivre les consignes de sécurité de travail au laboratoire pour la manipulation de sérum ou de plasma humains.
- * Ne pas pipeter à la bouche.
- * Tout échantillon testé, peigne utilisé, bacs de développement ou tout autre matériel utilisé lors de l'utilisation de la trousse, doit être traité et éliminé en tant que déchets à risque biologique.
- * Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents.

* Ne pas utiliser la trousse au delà de sa date de péremption.

Conservation de la trousse :

Conserver la trousse dans sa boîte originale entre 2° et 8 °C. Dans ces conditions, la trousse demeure stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Ne pas congeler la trousse.

2.9.4. Sérodiagnostic du VIH par le Génie II

Principe du test

Le test Génie II HIV-1/2 est un test immuno enzymatique de double reconnaissance, basé sur la détection spécifique des anticorps anti-HIV-1 et anti-HIV-2 par des antigènes. Le test utilise l'immuno-chromatographie et l'immuno-concentration en combinaison. Le support de réaction est constitué de deux puits : le puits A, de forme circulaire, pour le dépôt de l'échantillon, et le puit B, plus grand et elliptique, qui est le puits de réaction. La membrane du puits B est sensibilisée en deux Spots de réaction séparés par les antigènes dérivés du VIH-1 et du VIH-2 et en un troisième Spot de contrôle interne permettant le suivi du bon déroulement du test. Le test débute par le dépôt dans le Puits Echantillon A de l'échantillon dilué. Les anticorps anti-VIH contenus dans l'échantillon se fixent spécifiquement aux antigènes VIH biotinylés et migrent le long de la membrane chromatographique. Au niveau du Puits de Réaction B, les complexes antigènes anticorps se lient aux antigènes VIH immobilisés au cours d'une étape de double reconnaissance ; le complexe résultant réagit avec un conjugué streptavidine-phosphatase alcaline. L'addition d'un substrat chromogénique permet la visualisation des résultats sous la forme d'un spot gris-bleu. Enfin l'addition d'une solution d'arrêt termine la réaction. L'apparition de 2 ou 3 spots gris-bleu dans le puits de réaction B indique la présence d'anticorps anti-VIH. Dans le cas d'un résultat négatif, seul le spot de contrôle interne sera visible.

Sécurité et précautions d'emploi :

Cette trousse est réservée au diagnostic in vitro seulement. Manipuler les contrôles positifs et négatifs, bien qu'ayant été inactivés, comme potentiellement infectieux. Du fait qu'aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage. Se protéger avec des gants à usage unique et une blouse de laboratoire. Suivre les consignes de sécurité de travail en laboratoire pour la manipulation des sérums ou plasmas humains. Ne pas pipeter à la bouche. Tout échantillon testé, microtube, pipette jetable, tout support de réaction ou tout autre matériel utilisé lors de l'utilisation de la trousse doit être traité et éliminé en tant que déchets à risque biologique. Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents. Ne pas toucher l'embout des compte-gouttes. Ne pas utiliser la trousse au delà de la date de péremption.

Conservation de la trousse :

Conserver la trousse entre 2° et 8° C Mais ne pas congeler.

3. RESULTATS

Présentation des résultats de notre étude.

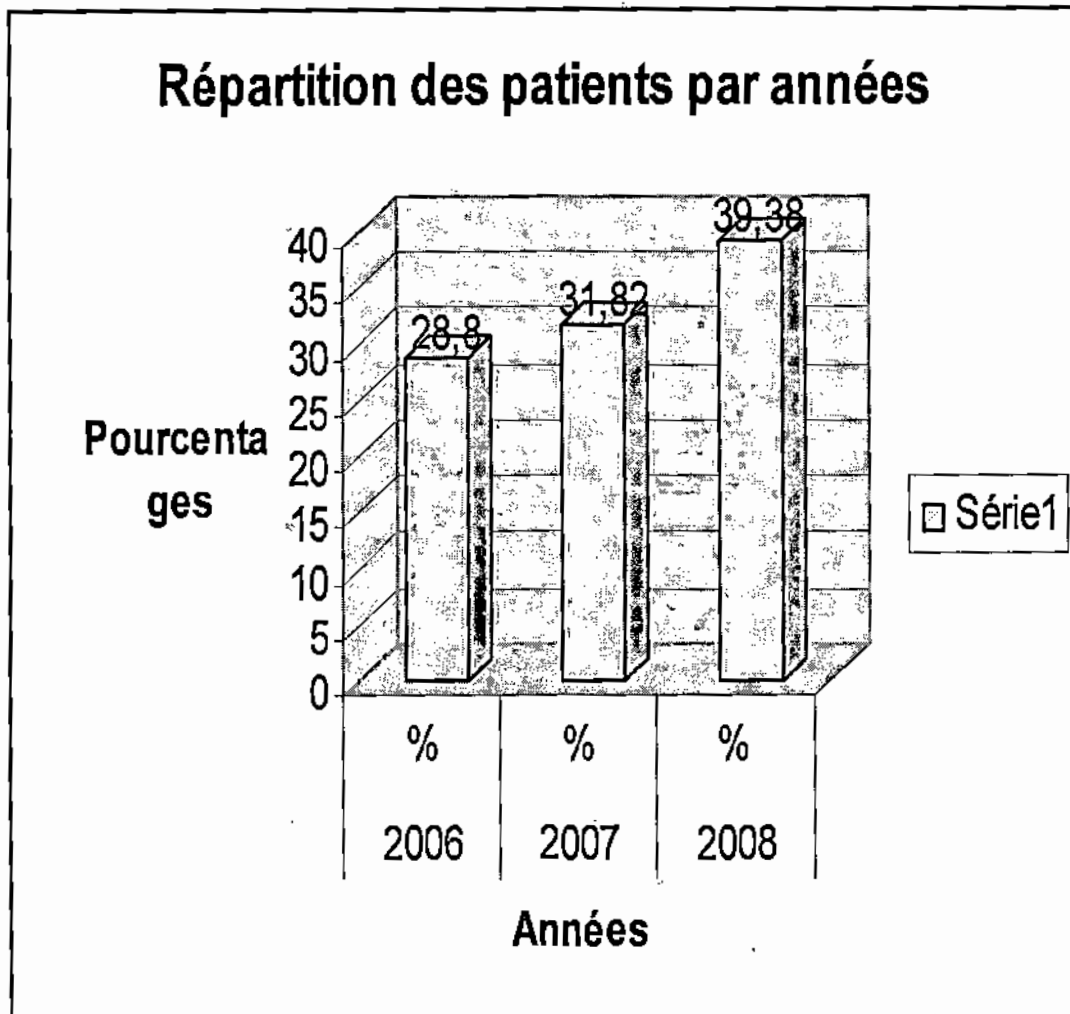


Figure 11: Répartition des patients ayant effectué le test de sérologie VIH par années au laboratoire du CHU Gabriel Touré.

Nous constatons que le taux de dépistage a augmenté.

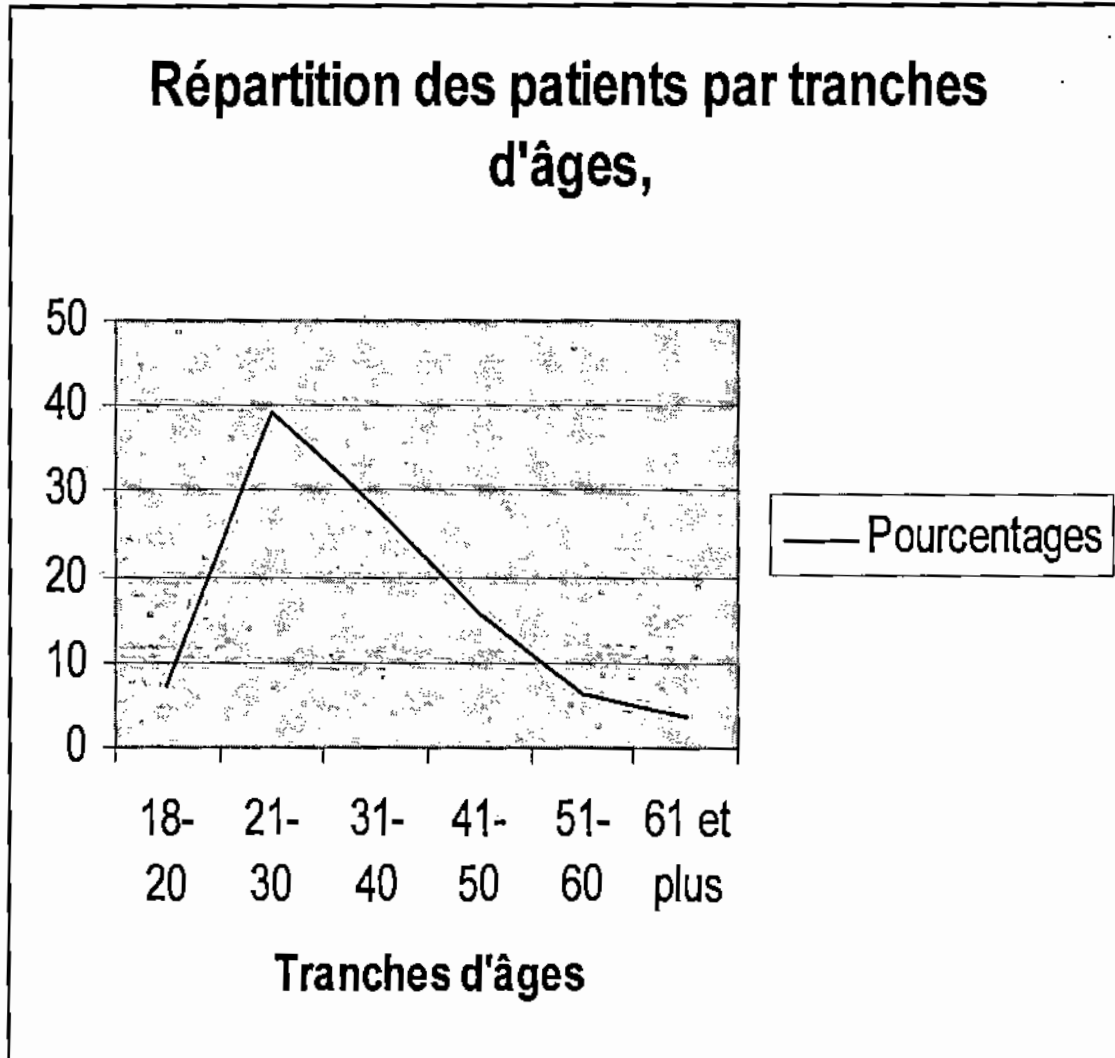


Figure 12: Répartition patients par tranches d'âges.

Les jeunes de 21-30 ans ont été les plus représentés avec 39,30% (n = 3980 cas) dans notre échantillon.

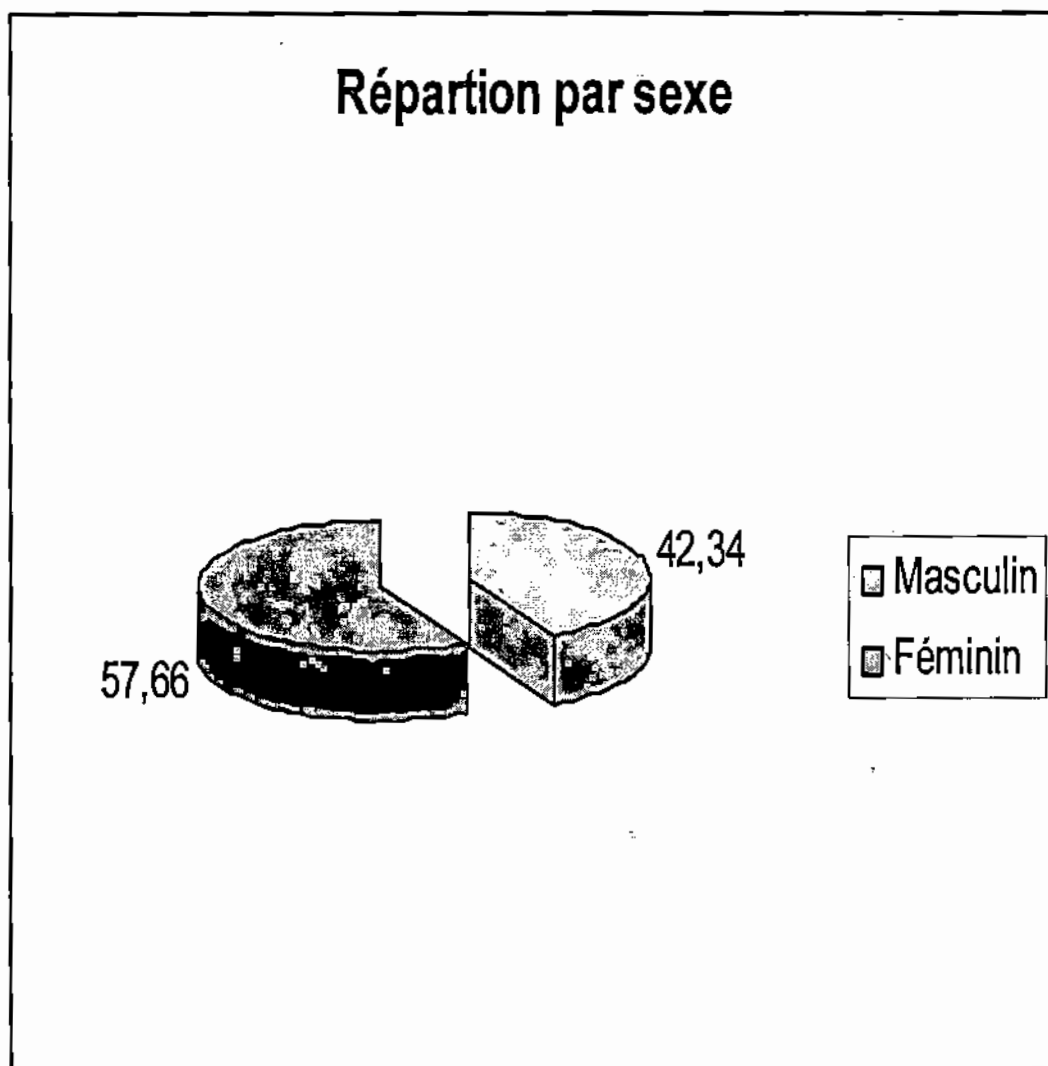


Figure 13: Répartition des patients par sexe.

Le sexe ratio était de 1,36 en faveur du sexe féminin.

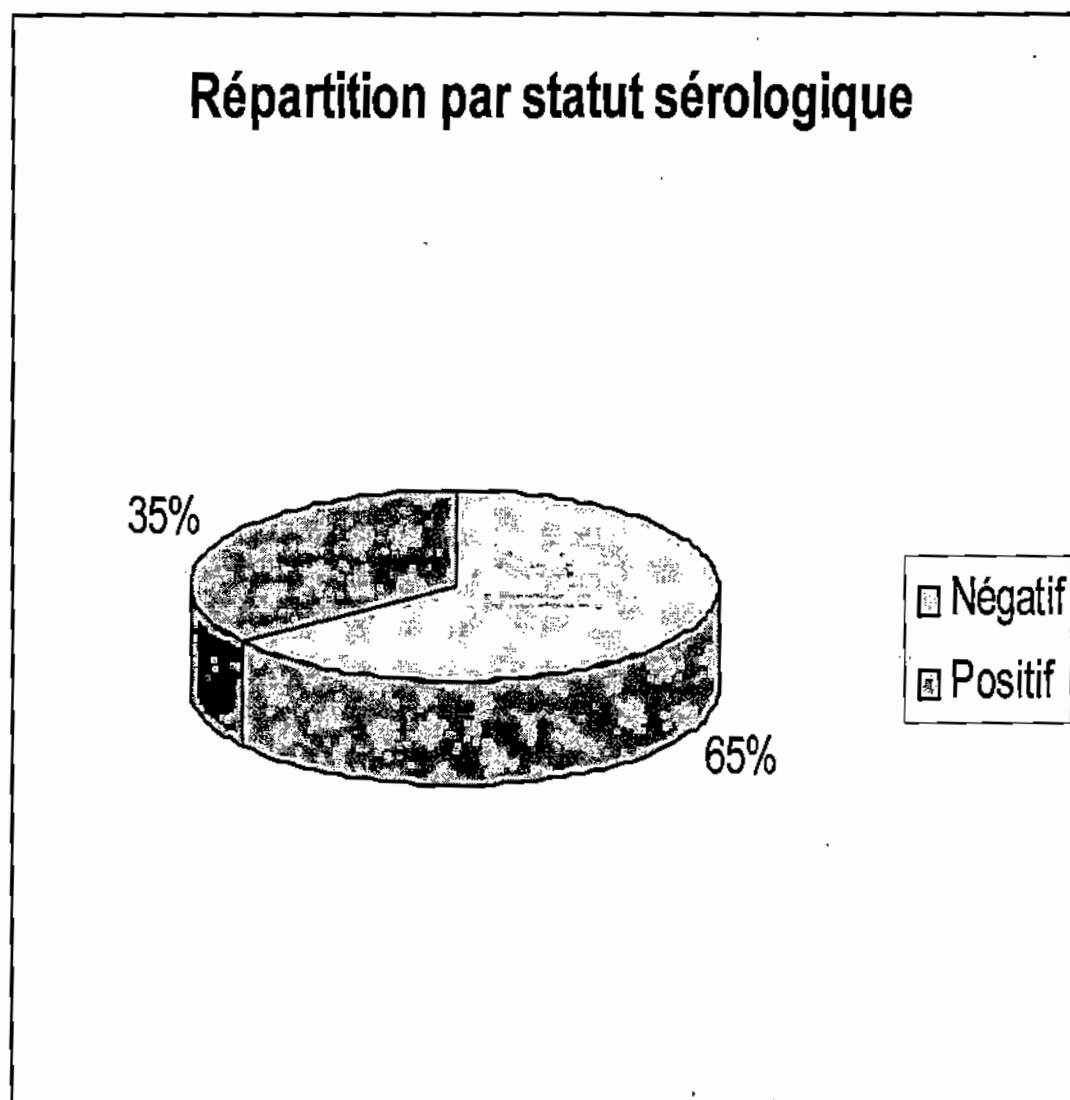


Figure 14: Répartition des patients par statut sérologique.

Parmi les patients dépistés, il y a eu 6534 cas négatifs soit 64,66% et 0 cas de discordance.

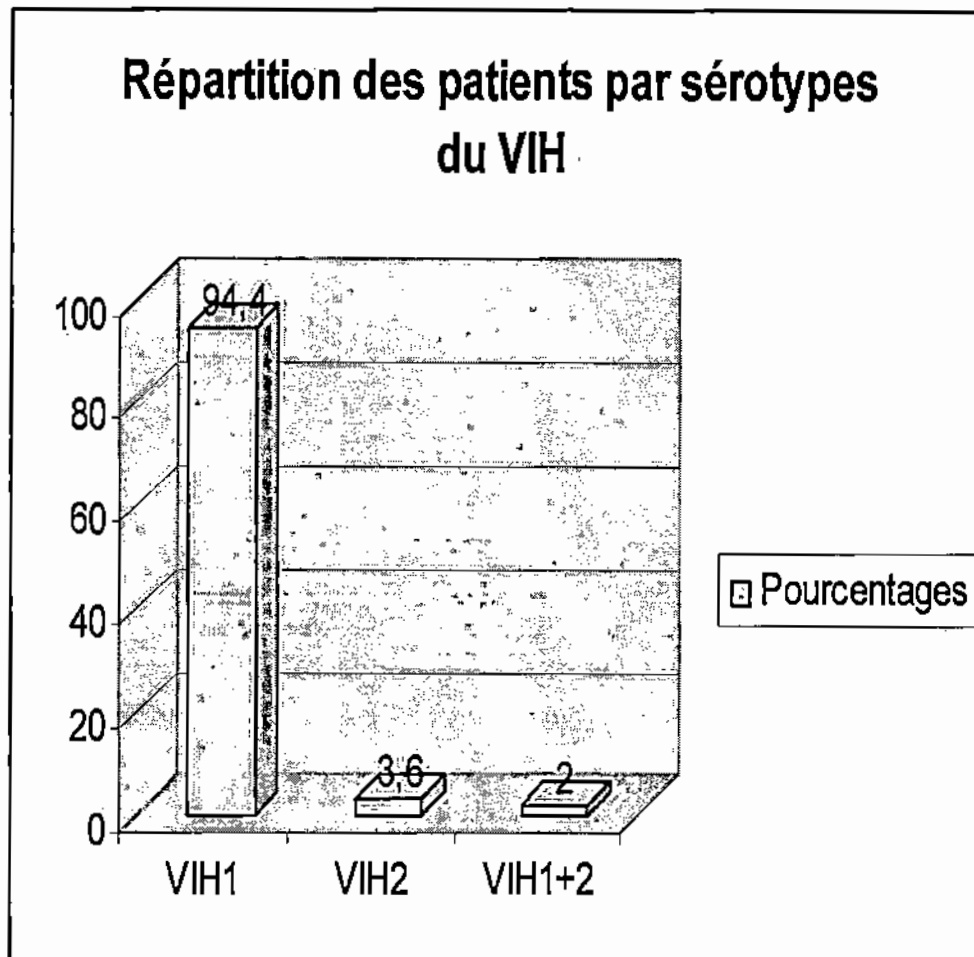


Figure 15: Répartition des patients par Sérotypes du VIH.

Chez les patients dépistés séropositifs, le type VIH-1 a prédominé avec 94,40% de l'échantillon (n = 3372 cas).

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

Tableau II : Répartition des patients selon les services référant.

Services	Effectifs n	Pourcentages %
Externes	4619	45,71
Gastrologie	2131	21,10
Médecine	1727	17,10
Gynécologie	356	3,52
Cardiologie	211	2,10
SAU	361	3,57
Chirurgie	201	2,00
SAR	97	0,97
Pédiatrie	102	1,01
ORL	199	1,20
Neurologie	56	0,55
Urologie	45	0,45
Total	10105	100

La grande partie des patients référés au laboratoire a été faite par les prestataires des différents services du CHU Gabriel Touré.

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

Tableau III: Répartition des patients selon le statut Sérologique par rapport aux tranches d'âges.

Tranches d'âges	Statuts	
	Négatif	Positif
	%	%
18-20	8,83	4,70
21-30	42,85	34,58
31-40	23,14	35,12
41-50	14,00	18,15
51-60	7,04	5,70
61 et plus	4,13	1,80
Total	100	100

Les tranches d'âges de 21 à 30 et 31 à 40 ans, ont contenu le plus grand nombre de cas de séropositivité au VIH.

Tableau IV: Répartition des patients selon le statut Sérologique par rapport au sexe.

Sexes	Statuts	
	Négatif	Positif
	%	%
Masculin	46,24	37,92
Féminin	53,76	<u>62,08</u>
Total	100	100

Le taux le plus élevé de positivité aux VIH s'observait chez les femmes soit 62,08%.

Tableau V: Répartition des patients selon le Sérotypes du VIH par rapport au sexe.

Sexes	VIH1 %	VIH2 %	VIH1+2 %
Masculin	37,80	41,41	36,62
Féminin	62,20	58,59	63,38
Total	100	100	100

Quelque soit le type du VIH, le sexe féminin était le plus touché.

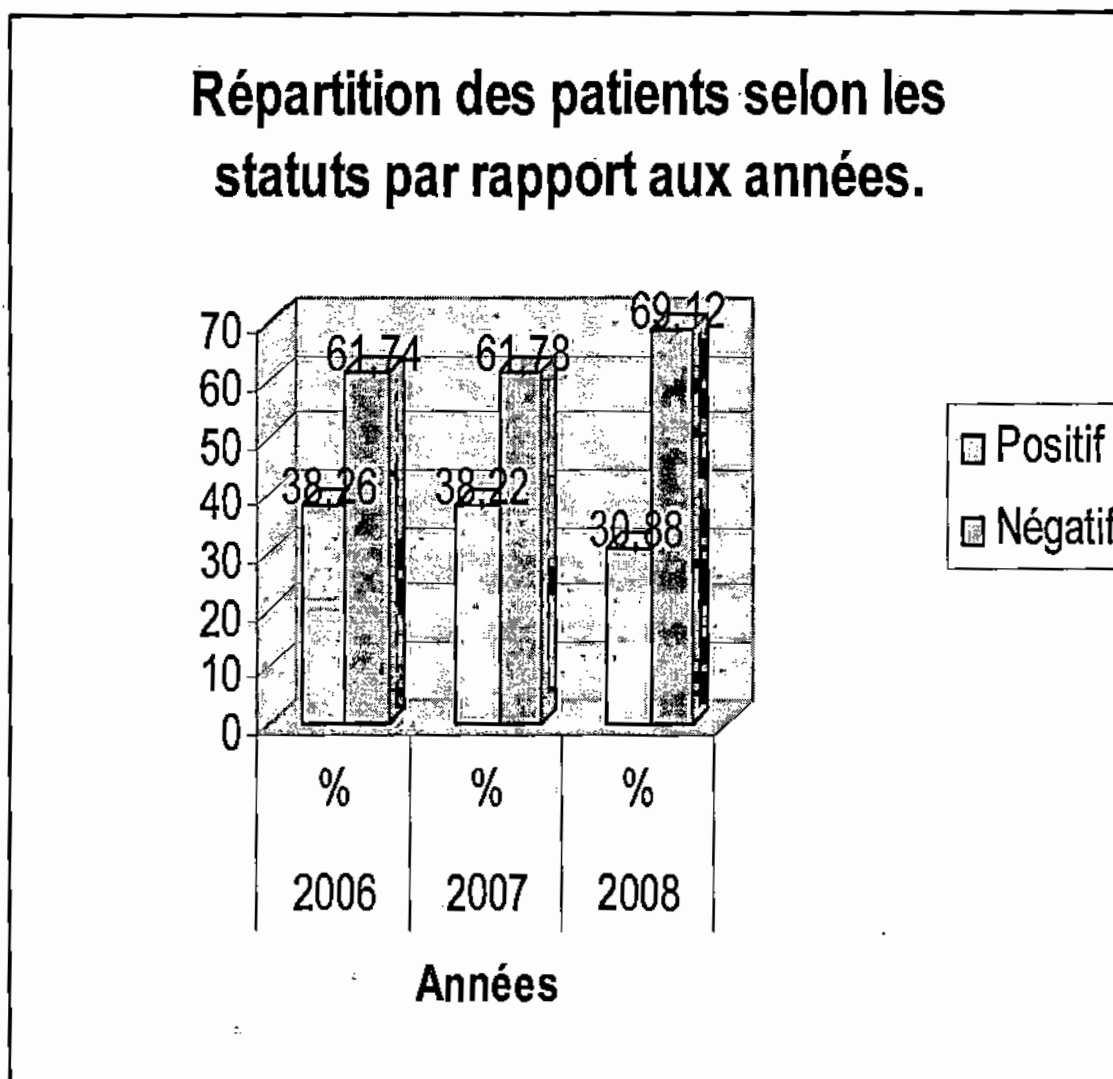


Figure 16: Répartition des patients selon les statuts par rapport aux années.

Dans notre étude nous avons pu constater que la séroprévalence a légèrement diminué de 2006 à 2008.

Tableau VI: Répartition des patients selon les Sérotypes du VIH par rapport aux années.

Années Sérotypes	2006	2007	2008
	%	%	%
VIH1	<u>94,25</u>	<u>94,87</u>	<u>94,14</u>
VIH2	3,60	3,42	3,74
VIH1+2	2,15	1,71	2,12
Total	100	100	100

Quelque soit les années l'ordre de pourcentage des sérotypes n'a pas changé.

Tableau VII: Répartition des patients selon les tranches d'âges par rapport à l'année.

Années Tranches d'âges	2006	2007	2008
	%	%	%
18-20	7,01	6,90	7,89
21-30	<u>39,53</u>	<u>39,92</u>	<u>41,86</u>
31-40	28,74	29,04	26,41
41-50	16,16	15,40	15,55
51-60	5,53	5,70	7,21
61- plus	3,03	3,05	4,10
total	100	100	100

Le taux de dépistage était le plus important dans la tranche d'âge de 21 à 30 ans quelques soient les années dans notre étude.

Tableau VIII: Répartition des patients selon la profession.

Professions	Effectifs	Pourcentages
	n	%
Ménagères	<u>3123</u>	<u>30,91</u>
Commerçants	1004	9,94
Cultivateurs	1789	17,70
Fonctionnaires	569	5,63
Etudiant/Elèves	<u>1996</u>	<u>19,75</u>
Artisans	256	2,53
Autres	1368	13,54
Total	10105	100

Autres groupes professionnels ont été : les sans emploi, les transitaires, informaticiens, hommes de média, les ouvriers, tailleurs, mécaniciens etc.

Les ménagères et les élevés/étudiants ont représenté un peu plus de la moitié de la population dépistée au cours de la période d'étude.

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

Tableau IX: Répartition des patients selon le statut sérologique par rapport à la profession.

Professions / Statuts	Discordants	Résultats Négatifs		Résultats Positifs	
	n / %	n	%	n	%
Ménagères	0	1625	<u>24,87</u>	1498	<u>42,00</u>
Commerçants	0	548	8,39	456	12,77
Cultivateurs	0	1290	19,74	499	13,97
Fonctionnaires	0	456	6,98	113	3,16
Etudiants/Elèves	0	1779	27,23	217	6,08
Artisans	0	133	2,04	123	3,44
Autres	0	705	10,80	663	18,57
Total	0	6534	100	3571	100

Autres groupes professionnels ont été : les sans emploi, les transitaires, informaticiens, hommes de média, les ouvriers, tailleurs, mécaniciens etc.

Les ménagères étaient les plus touchés par le VIH dans notre échantillon.

Dans notre échantillon la séropositivité était beaucoup plus élevée chez les patients référés par les prestataires de la gastro-entérologie au sein du CHU Gabriel Touré.

Services de Provenance	Résultats	
	Positifs	Négatifs
	n	%
Externes	1471	41,20
Gastrologie	1006	28,17
Medecine	420	11,76
Gynécologie	129	3,61
Cardiologie	91	2,55
SAU	178	4,98
Chirurgie	75	2,10
SAR	36	1,01
Pédiatrie	72	2,02
ORL	73	2,04
Neurologie	10	0,28
Urologie	09	0,25
Total	3571	100
		6534
		100

Tableau X: Répartition des patients selon le statut sérologique par rapport à la provenance.

Tableau XI: Répartition des patients selon les Sérotypes du VIH par rapport à la provenance.

Résultats Services de Provenance	VIH1		VIH2		VIH1+2	
	n	%	n	%	n	%
Externes	1421	42,14	33	25,78	17	23,94
Gastrologie	967	28,68	26	20,31	13	18,31
Médecine	388	11,50	21	16,41	11	15,50
Gynécologie	108	3,20	13	10,16	8	11,26
Cardiologie	81	2,40	7	5,47	3	4,22
SAU	169	5,01	4	3,13	5	7,04
Chirurgie	65	1,93	6	4,69	4	5,63
SAR	32	0,95	3	2,34	1	1,41
Pédiatrie	64	1,90	5	3,90	3	4,22
ORL	63	1,87	7	5,47	3	4,22
Neurologie	86	0,24	1	0,78	2	2,82
Urologie	8	0,18	2	1,56	1	1,41
Total	3372	100	128	100	71	100

4. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

La présente étude qui a porté sur le diagnostic sérologique de l'infection à VIH chez les patients de 18 ans et plus testés au laboratoire du CHU Gabriel Touré a concerné 10105 patients reçus de janvier 2006 à décembre 2008. L'objectif de cette étude descriptive a été atteint, car la séroprévalence et sa caractérisation par type de VIH, le profil socio démographique des patients infectés ont été déterminés et les problèmes affectant les activités de dépistage du VIH ont été identifiés au cours de la période indiquée, ceci à travers le respect rigoureux de la méthodologie adoptée. Cette étude sur le diagnostic sérologique de l'infection à VIH a été faite sur la base d'un traitement manuel, de saisies sur Word, de données enregistrées dans le logiciel Excel et les variables comme l'âge, le sexe et la profession ont été croisés avec le statut sérologique des patients dépistés dans Epi info 2000 pour pouvoir atteindre nos objectifs.

Les résultats de cette étude qui a porté sur 10105 patients reçus durant la période indiquée permettent d'avoir une image relativement claire du dépistage au laboratoire du CHU Gabriel Touré. Notre étude ne saura être extrapolée à la population générale de Bamako pour un certain nombre de raisons qui sont :

1. Taille de l'échantillon n'est pas représentative de l'ensemble du District de Bamako ;
2. Le laboratoire du CHU Gabriel Touré n'est pas le seul centre de dépistage du District de Bamako ;
3. Le Laboratoire reçoit des malades hospitalisés, des malades venant des autres structures de santé de la ville et des volontaires.

L'étude sur le diagnostic sérologique de l'infection à VIH est une action continue basée non seulement sur le dépistage volontaire mais aussi sur le dépistage dans le cadre du bilan de santé lors des consultations médicales. [5, 53] Ceci est d'autant plus important que la qualité de vie et le nombre d'années de vie gagnées pour la personne contaminée est meilleur. Sur le plan de la santé publique, la connaissance du statut sérologique a un impact positif sur les comportements à risques et réduit les frais médicaux grâce à une prise en charge plus précoce. [54] Cette étude permet d'avoir une description plus précise et détaillée de la situation du VIH dans les formations sanitaires. Sur un échantillon total de 10105 personnes dépistées, il a été enregistré 3571 cas de positivité aux tests VIH, soit une séroprévalence 35,34 %.

4.1. Résultat de la sérologie VIH par rapport à l'âge

Dans notre étude les âges extrêmes étaient de 18 ans et de 85 ans, la tranche d'âge de 21-30 ans a été la plus représentée avec 39,30 % (n = 3980 cas), mais c'est la tranche d'âge 31-40 ans qui était la plus touchée par l'infection à VIH avec 35,12 % (n = 1254 cas) suivi de 21-30 ans avec 34,58% (n = 1235 cas). Ces résultats ne sauraient surprendre dans la mesure où ces tranches représentent la population la plus active sexuellement et aussi sujette aux migrations.

Ce résultat concorde avec ceux de KONE, SISSOKO et SOUREYA qui ont trouvé respectivement des tranches d'âges majoritaires de 32-39 ans, 20-34 ans, 30-34 ans. [61] Au Gabon le PNLs a déclaré à L'ONU SIDA que les tranches d'âges les plus atteintes étaient les 24-29 ans chez les femmes et les 30-34 chez les

hommes. [55] Ce même constat a été fait en 2006, selon une étude sur le dispositif de dépistage dans les hôpitaux en France où les personnes dépistées positives appartenaient principalement à la classe d'âge 30-39 ans (40 %), avec une forte proportion chez les 20-29 ans (35 %). [56] SANOGO rapportait dans son enquête sero-épidémiologique sur l'infection par les VIH au CESAC que la tranche d'âge la plus touchée était celle de 15-35 ans. [27] La séroprévalence du VIH élevée de plus en plus chez les sujets jeunes serait due principalement à une précocité des rapports sexuels non protégés.

4.2. Résultat de la sérologie VIH par rapport au sexe

Dans notre étude, plus de la moitié 57,66 % (n = 5826 cas) étaient de sexe féminin contre 42,34 % (n = 4279 cas) de sexe masculin de même que le nombre de femmes séropositives 62,08% est supérieur à celui des hommes 37,92%. Cette prédominance féminine a été rapportée par certains auteurs dans beaucoup de pays à travers le monde : en Afrique, en Asie du Sud et du Sud-est, en Amérique latine et les Caraïbes où près de 50 % des adultes porteurs sont des femmes. [57] L'EDSM III estimait déjà que les femmes étaient les plus touchées dans la population soit 2% des séropositifs contre 1,7% pour les hommes. [58] Cependant d'autres auteurs ont trouvé une prédominance de séropositivité masculine. L'observation de cette évolution de 2001 à 2004 par ces mêmes auteurs montre une diminution du nombre de sexe masculin avec une stabilité chez les femmes. [56] Toutes ces études corroborent avec la tendance globale mondiale de « féminisation » de l'infection par le VIH. Cette incidence élevée du SIDA sur les femmes peut s'expliquer par la sexualité précoce, la fréquence élevée des IST susceptibles de favoriser la transmission du SIDA, la situation sociale des femmes. Dans notre étude le taux séropositif au VIH était classiquement plus élevé avec une différence de 16,13% par rapport aux négatifs dans la tranche d'âge de 35 à 45 ans. Ceci peut s'expliquer par le fait que ces patients dans la majorité écrasante sont des adultes socialement et économiquement plus actifs, les amenant souvent à prendre plus de risques sur le plan sexuel. Les résultats de notre étude étaient conformes à ceux de BALKISSA, SANOGO, OUEDRAOGO qui ont trouvé respectivement dans leurs études une prédominance féminine de 64,30%, 58,80%, 17,60% contre 35,70%, 41,20%, 14,50% d'homme. [61]

4.3. Résultat de la sérologie VIH par rapport à la profession

Les ménagères et les cultivateurs avec respectivement 30,91% et 17,70% étaient les plus représentés. Ces observations sont proches de celles de SARIA, qui a trouvé 32,9% pour les ménagères à l'Hôpital du Point G. [59] Dans la cohorte de l'ISAARV au Sénégal, 44% des patients étaient sans activité rémunérée (les femmes au foyer notamment) [60] donc conforme à nos résultats. Ce taux élevé s'expliquerait par le fait que ces femmes, sans aucune activité professionnelle, deviennent vulnérables et adoptent des comportements à risque de l'infection par le VIH. Les cultivateurs ont représenté 17,70 % de l'effectif total des positifs. Ils sont pour la plus part des sans emplois fixes ou venus de la population mal ou non informée de la pandémie du siècle. Autrement dit ceux ci s'expliquent en partie par leur faible niveau d'instruction, ce qui les rend rigide et hostile face aux campagnes de sensibilisation. D'autres parts, particulièrement chez les ménagères les

phénomènes de lévirat et de sororat encore existant dans certaines communautés et la polygamie qui les exposent au VIH. Chez les sujets exerçant une activité informelle, l'attrait du gain facile qui les pousse à adopter des comportements sexuels à risque.

SOGOBA, SANOGO et KAMISSOKO ont trouvé respectivement 33,30%, 40,90%, 32,00% chez les ménagères et 16,00%, 17,50%, 24,00%, chez les sujets exerçant une activité informelle. [61]

4.4. Résultat de la sérologie VIH par rapport au service de provenance

La majorité des patients infectés provenait pour la plupart du CHU Gabriel Touré. Soit 45,29%. Ceci s'explique par le fait que cette structure sanitaire de 3^{ème} niveau est située dans le centre ville, de plus elle est composée de plusieurs services spécialisés qui ont de l'affluence concernant les consultations et demandes de plusieurs analyses médicales y compris celle du VIH. Des centres de référence, cliniques et autres provenaient (45,71%) des patients infectés. Ceci s'explique par le fait que ces structures sanitaires de 2^{ème} niveau sont situées dans les différentes communes du district de Bamako et dont leur accès est assez facile pour les patients qui s'y consultent.

4.5. Séroprévalence et évolution des sérotypes du VIH

Durant notre étude nous avons observé une légère diminution du nombre de patients infectés par le VIH avec un taux moins élevé en 2008 où 3980 patients ont été dépistés dont 1229 positifs, soit 30,88% avec 94,14% cas de VIH-1. Ceci explique l'activité croissante de sensibilisation et de mobilisation aux lendemains de l'adoption de l'IMAARV (Initiative Malienne d'Accès aux Antiretroviraux).

Ce résultat concorde avec celui de BALKISSA qui a trouvé une prédominance du VIH-1 avec 89,10%, le VIH-2 était à 3,10% et VIH-1+2 était à 2,70%. [61] Au Sénégal, la cohorte de l'ISAARV sur 170 patients éligibles rapporte 93,30% de porteurs du VIH-1 ; 4,40% du VIH-2 et 2,20% de la co- infection VIH-1 et VIH-2. [61] Par contre la première enquête effectuée dans le pays par PICHARD et collègues avait trouvé plutôt une prédominance du VIH-2. [61] Le fait que le VIH-1 ait pu supplanter le VIH-2 serait dû d'une part à sa virulence et d'autre part à son taux faible de transmission verticale du VIH-2 et aussi à sa faible transmissibilité lorsque le porteur est asymptomatique [61].

Le sexe féminin était le plus touché par les deux types de VIH et la co- infection VIH-1+2.

Le sérotype 1 était plus prédominant par rapport au sérotype 2 et la co- infection chez les ménagères qui étaient les plus infectées par le VIH de même dans la tranche d'âge la plus touchée. L'évolution des deux sérotypes et la co- infection VIH-1+2 était non constante durant notre étude. Cependant le sérotype 1 restait largement le plus prévalent pendant la période d'étude suivi par le sérotype 2 et la co- infection la plus faible.

Remarque: durant notre étude nous n'avons pas enregistré des cas de discordances des tests utilisés.

5. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

5.1. Conclusion

* La présente étude, portant sur le diagnostic sérologique de l'infection à VIH a été mise en œuvre par une combinaison de tests rapides chez les patients dépistés au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré.

Les tests de dépistage que nous avons utilisés au cours de notre étude étaient: le DETERMINE HIV-1/2, le CYPRESS DIAGNOSTICS, l'IMMUNOCOMB II, et le GENIE II. Ainsi, la séroprévalence du VIH chez ces patients a été un peu élevée par rapport à la population dépistée.

* Le VIH-1 a prédominé chez les patients révélés infectés par le virus de l'immuno-déficience humaine par rapport au VIH-2 et à la co- infection VIH-1+VIH-2.

* Le sexe ratio était en faveur des femmes

* La répartition socio démographique des cas a révélé une prédominance chez les ménagères, les cultivateurs et commerçants.

* Le dépistage reste une activité essentielle dans le processus de prise en charge des cas ; ceci impose une résolution permanente des problèmes (technique et organisationnel) qui entravent le bon déroulement et la qualité du dépistage au laboratoire du CHU Gabriel Touré.

5.2. Recommandations

Au terme de cette étude nous pouvons formuler les recommandations suivantes

Envers les autorités sanitaires :

- * Faire le control de qualité externe au laboratoire.
- * Améliorer la sensibilisation au niveau de la population générale.

Envers la population

- * Croire en l'existence du SIDA.
- * Soutenir les personnes vivant avec le VIH.
- * S'informer toujours sur la pandémie du SIDA.

6. ANNEXES

6.1. ANNEXE I HOPITAL GABRIEL TOURE

MODE OPERATOIRE NORMALISE

No :

TITRE : Test de dépistage du VIH par déterminé HIV-1/2

Rédigé le : Par : Visa :

Vérifié le : Par : Visa :

Approuvé le : Par : Visa :

Modifié le : Par : Visa :

Vérifié le : Par : Visa :

Approuvé le : Par : Visa :

Diffusé le : Par : Visa :

Objet de la modification :

Archivé le : Par

Sérodiagnostic de HIV par le Détermine HIV-1/2

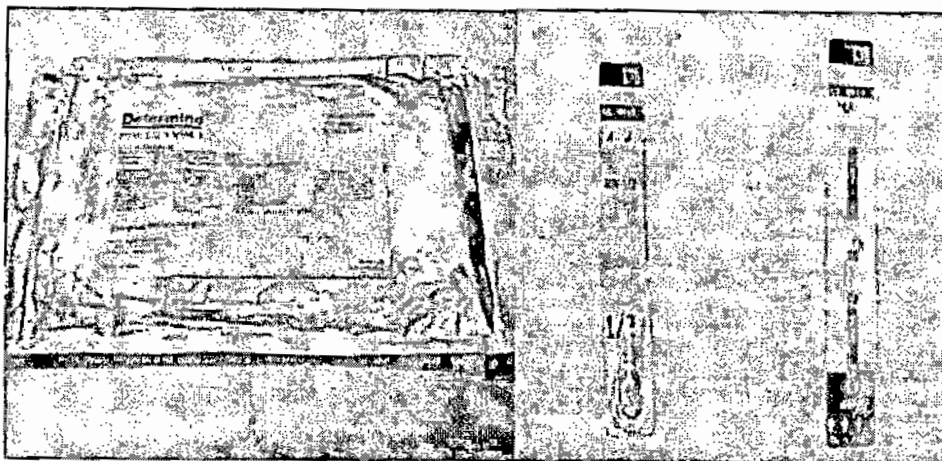


Figure 17: Kit du test Détermine HIV-1/2.

Source : Photographies. Dr Samba Adama SANGARE laboratoire CVD CHU Gabriel Touré.

Prélèvement des échantillons

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

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

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

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

Prélèvement de sang total sur le bout du doigt

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

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

Si l'on utilise les tubes capillaires contenant de l'EDTA, les remplir de sang jusqu'à un niveau situé entre les deux traits.

Conservation des échantillons

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

Procédure d'analyse

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

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

- Enlever la protection plastique de chaque test.
- Pour les échantillons de sérum ou de plasma :

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

a. Distribuer 50µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : flèche).

b. Attendre au moins 15 minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.

- Pour les échantillons de sang total (ponction veineuse) :

a. Distribuer 50µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole flèche).

b. Attendre une minute, puis distribuer une goutte de tampon de fixation sur la zone de dépôt de l'échantillon.

c. Attendre au moins 15 minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.

- Pour les échantillons de sang total (bout de doigt) :

a. Distribuer 50µl d'échantillon (avec un tube capillaire contenant de l'EDTA) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : flèche).

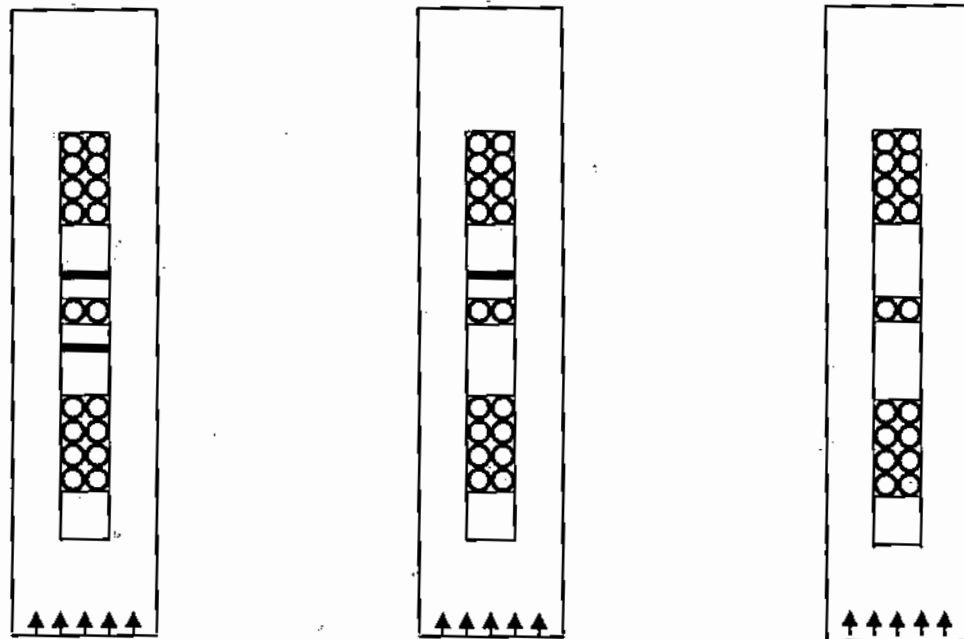
b. Attendre que le sang soit absorbé par la zone de dépôt, puis distribuer une goutte de tampon de fixation sur la zone de dépôt de l'échantillon.

c. Attendre 15minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.

Contrôle de qualité

Un contrôle de la procédure annoté "Control" est inclus dans ce système afin d'assurer la validité du test. Si la barre de contrôle ne vire pas au rouge à la fin du test, le résultat du test n'est pas valide et l'échantillon doit être ré analysé.

Interprétation des résultats



**A) Présence
d'Anticorps Anti-
VIH-1 et/ou 2**

**B) Absence
d'Anticorps Anti-
VIH-1 et/ou 2**

**C) Résultats
invalides**

Figure 18: Interprétation des résultats.

Positif (deux barres)

Les barres rouges apparaissent dans la fenêtre/contrôle (annotée « control »), et la fenêtre/patient (annotée « patient ») sur la bandelette. Toute couleur rouge visible dans la fenêtre/patient doit être interprétée comme un résultat positif.

Négatif (une barre)

Une barre rouge apparaît dans la fenêtre/contrôle, la barre rouge de la fenêtre/patient n'apparaissant pas sur la bandelette.

Non valide (pas de barre)

Si la barre rouge n'apparaît pas dans la fenêtre/contrôle de la bandelette et même si une barre rouge apparaît dans la fenêtre/patient de la bandelette, le résultat n'est pas valide et ce test doit être recommencé. Si le problème persiste, Contacter votre service Client Abotte.

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

Si un résultat non valide venait à se répéter ou pour tout support technique, Contacter votre service client Abbott. [50]

6.2. ANNEXE II

HOPITAL GABRIEL TOURE

MODE OPERATOIRE NORMALISE

No :

TITRE : Test de dépistage du VIH par Cypress diagnostic test rapide HIV1/2:

Rédigé le :	Par :	Visa :
Vérifié le :	Par :	Visa :
Approuvé le :	Par :	Visa :
Modifié le :	Par :	Visa :
Vérifié le :	Par :	Visa :
Approuvé le :	Par :	Visa :
Diffusé le :	Par :	Visa :
Objet de la modification :		
Archivé le :	Par :	

Sérodiagnostic du VIH par Cypress Diagnostic

Conservation et stabilité :

Les dispositifs de test VIH-1/2 et les dispositifs de test de tampon doivent être conservés à la température ambiante entre 8 et - 28°C. Ne pas congeler les trousse de test et ne pas les exposer aux températures extrêmes.

Précautions :

Le test est uniquement à usage diagnostic in vitro. Il est réservé à l'usage professionnel. Il faut traiter tous les échantillons conformément aux recommandations applicables à n'importe quel échantillon de sérum ou de sang humain potentiellement infectieux. IL faut porter des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et une protection oculaire lorsque vous manipulez les échantillons. Ne pas manger, ne pas boire ou fumer dans la zone où les échantillons et les réactifs de la trousse sont manipulés. Il faut éviter tout contact entre les mains et les yeux ou la bouche pendant le prélèvement et le test des échantillons. Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents de trousse de test. Après avoir effectué le dosage, Il faut éliminer soigneusement tous les échantillons, dispositifs de test et anses à échantillon après les avoir autoclaves ou les avoir traités par une solution d'eau de Javel à 1 %. Il faudra les traiter comme des déchets bio- dangereux. Il ne faut pas utiliser les tests au-delà de la date de péremption figurant sur la pochette en feuille.

Prélèvement des échantillons :

Le test rapide HIV-1/2 de Cypress est réalisé sur du sang total, du sérum ou du plasma.

Sang total :

Recueillir le sang total veineux dans les tubes contenant les anticoagulants généralement utilisés (l'EDTA, l'héparine ou du citrate de sodium).

Pour le prélèvement du sang au bout du doigt, il faut piquer le doigt et essuyer la première goutte. Recueillir l'échantillon à partir de la deuxième goutte avec l'anse à échantillon à usage unique joint. Il ne faut pas presser le doigt trop fort. Il faut suivre les instructions de la méthode de test. Le sang capillaire peut également être recueilli au bout du lobe de l'oreille. Les échantillons de sang total doivent être entreposés au réfrigérateur (2 - 8°C) ou sur glace avant de les tester. Il est recommandé de tester les échantillons de sang total dans un délai de 24 heures après le prélèvement de l'échantillon.

Sérum : on utilise le sérum provenant du sang total recueilli dans des conditions aseptiques par veinoponction dans un tube propre sans anticoagulant.

Plasma : on utilise le sérum provenant du sang total recueilli dans des conditions aseptiques par veinoponction dans un tube propre contenant un anticoagulant.

Les résultats des échantillons de sérum et plasma des patients sont optimaux lorsqu'ils sont testés immédiatement après leur prélèvement. Les échantillons qui ne sont pas destinés à être testés immédiatement doivent être entreposés au réfrigérateur entre 2 et 8°C immédiatement après leur prélèvement et ils peuvent être utilisés pendant 3 jours au maximum. S'il n'est pas possible de les tester dans les 3 jours, les échantillons doivent être congelés (0 - 20°C au minimum).

Remarque : Si les échantillons doivent être expédiés, il faut les emballer conformément aux règlements relatifs au transport d'agents potentiellement infectieux.

Méthode de test :

Si l'échantillon à tester et/ou le dispositif de test a été conservé au réfrigérateur, retirer de celui-ci et le laisser atteindre la température ambiante avant de le tester. Les échantillons congelés doivent être décongelés verticalement dans un support avant de les tester. Il faut éviter de congeler et de décongeler les échantillons de manière répétée. Si des produits rouges d'hémolyse sont présents (habituellement dans la partie plus inférieure du tube), il faut insérer soigneusement une pipette juste au-dessous de la surface du liquide et essayer de recueillir un échantillon non coloré clair pour l'essai.

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

1. Retirer le nombre voulu de dispositifs de tests VIH-1/2 de leurs enveloppes en déchirant celle-ci et les placer sur une surface plane (il n'est pas nécessaire d'enlever le dessicatif).
2. Marquer le dispositif de test avec le nom du patient ou un numéro d'identification.
3. Ajouter 10 μ l d'échantillons des patients (sérum, plasma ou sang total) au puits SAMPLE (S) du dispositif. Une pipette de 10 μ l est prévue (voir illustration)



Figure 19: Pipette de 10 μ l prévue pour la distribution d'échantillon.

4. Retourner le flacon de tampon migrateur et le maintenir verticalement (pas sous un angle) au-dessus du puits à échantillon. Ajoutez 3 gouttes de tampon, lentement, goutte à goutte, dans le puits SAMPLE (S).
 5. Lire les résultats du test 15 minutes après l'addition du tampon migrateur. Certains résultats positifs peuvent apparaître en moins de 10 minutes, mais il faut que 15 minutes s'écoulent avant de pouvoir annoncer un résultat négatif. Lire les résultats dans un endroit bien éclairé.
- Remarque :** Si la membrane n'est pas dégagée du colloïde rose/violet ou le sang est encore présent, on peut ajouter encore une ou deux gouttes de diluant au puits SAMPLE.

Interprétation des résultats

Négatif :

Une seule ligne de couleur rouge dans la zone CONTRÔLE (C), sans ligne de couleur dans la zone TEST (T) indique un résultat négatif. Un résultat négatif après 15 minutes dénote l'absence d'anticorps anti-VIH 1/2 décelables dans l'échantillon du patient, ce résultat n'excluant pas une contamination par le VIH.

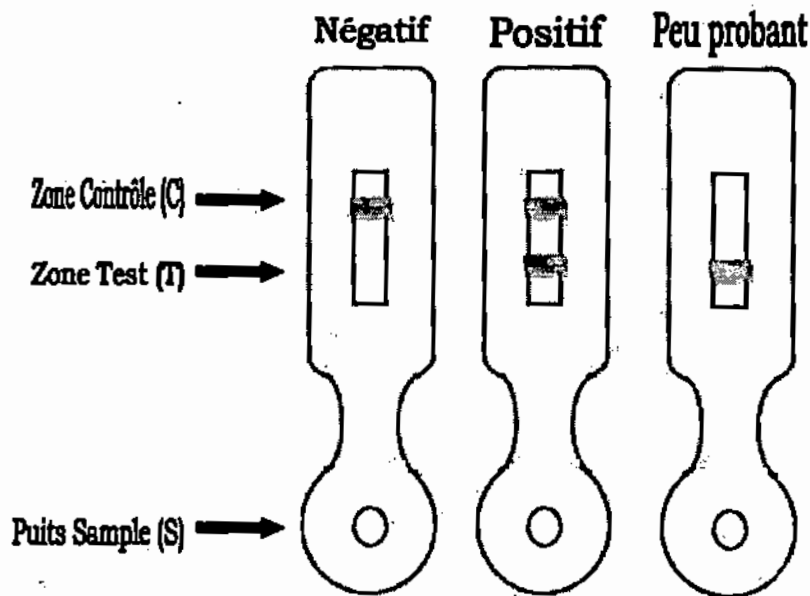


Figure 20: Interprétation des résultats.

Positif :

Deux lignes de couleur rouge, une dans la zone TEST (T) et une dans la zone CONTRÔLE (C) indiquent un résultat positif. Il se peut que la ligne dans la zone TEST (T) présente un aspect différent de celle dans la zone CONTRÔLE (C). L'intensité de la ligne dans la zone TEST (T) varie d'à peine visible à très foncée selon la concentration des anticorps spécifiques.

Remarque : Même une ligne très faible dans la zone TEST doit être considérée comme positive. Un résultat positif doit être confirmé par une immunotransfusion de type Western ou par une procédure alternative.

Peu probant :

Une ligne de couleur rouge doit toujours apparaître dans la zone CONTRÔLE, que la ligne dans la zone TEST apparaisse ou non. Si aucune ligne rouge n'est visible dans la zone

CONTRÔLE, le test est peu probant et il est alors recommandé de le recommencer avec un nouveau dispositif.

Contrôle de qualité :

Une ligne de couleur rouge doit toujours apparaître dans la zone CONTRÔLE si le test a été réalisé correctement et si le dispositif fonctionne convenablement.

Les bonnes pratiques de laboratoire recommandent l'utilisation de matériels de contrôle avec les échantillons testés pour garantir le bon fonctionnement de la trousse de test. Il faut utiliser à cet effet un contrôle positif et négatif connu. Tous les contrôles doivent être manipulés comme les échantillons des patients.

6.3. ANNEXE III

HOPITAL GABRIEL TOURE

MODE OPERATOIRE NORMALISE

No :

TITRE : Test de dépistage du VIH par Immunocomb II:

Rédigé le :	Par :	Visa :
Vérifié le :	Par :	Visa :
Approuvé le :	Par :	Visa :
Modifié le :	Par :	Visa :
Vérifié le :	Par :	Visa :
Approuvé le :	Par :	Visa :
Diffusé le :	Par :	Visa :
Objet de la modification :		
Archivé le :	Par :	

Sérodiagnostic du VIH par l'Immunocomb II

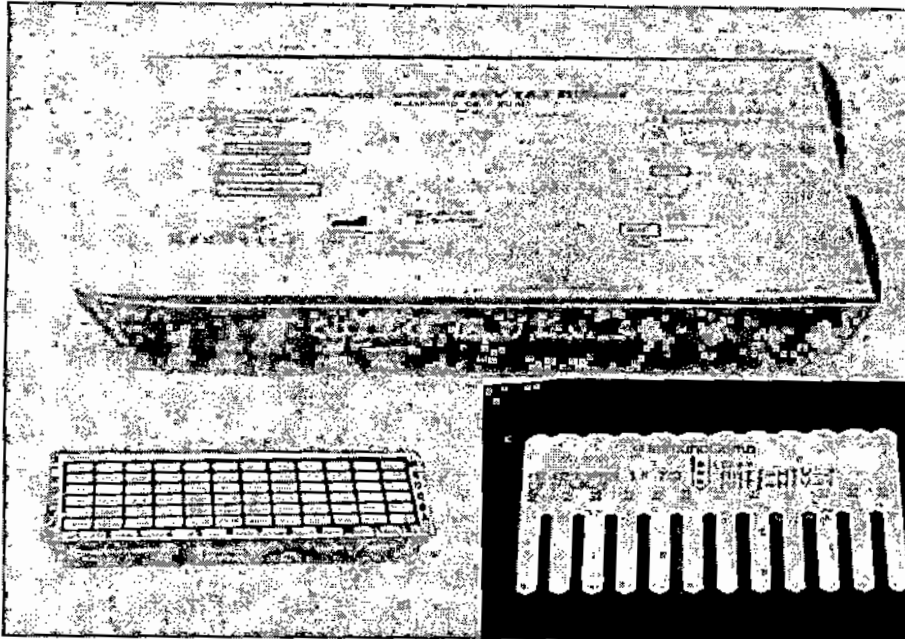


Figure 21: Kit du test d'ImmunoComb II HIV -1/2.

Source : Photographies. Dr Samba Adama SANGARE laboratoire CVD CHU Gabriel Touré

Procédure :

Equipement nécessaire :

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

Préparation du test :

Equilibrer réactifs et échantillons à tester à température ambiante et exécuter le test à température ambiante (22°-26 °C).

Préparation du bac de développement :

Pré- incuber le bac de développement 20 minutes dans une étuve ou au bain marie à 37 °C ; ou bien laisser équilibrer à température ambiante (22°-26 °C) pendant 3 heures.

Recouvrir la table de travail de papier absorbant à traiter, une fois le test achevé, en tant que déchets à risque biologique. Homogénéiser les réactifs par retournements successifs du bac de développement.

Remarque : Ne pas retirer le film d'aluminium recouvrant le bac de développement avant le moment indiqué dans le mode opératoire. Alors seulement, perforer le film à l'aide d'un embout de pipette à usage unique, ou à l'aide du perforateur fourni avec la trousse.

Préparation du peigne:

Attention : Afin de garantir le bon fonctionnement du test, ne pas toucher les dents du peigne.

1. Découper la pochette d'aluminium au niveau de l'encoche prévue à cet effet.

Sortir le peigne délicatement

2. Peigne et bac de développement peuvent être utilisés soit entièrement soit partiellement.

Pour une utilisation partielle du peigne :

a. Déterminer le nombre de dent nécessaire pour tester échantillons et contrôles, en comptant une dent par test. Afin de permettre l'identification des dents en cas d'utilisation partielle du peigne, chaque dent porte le code « 32 » correspondant à la trousse HIV-1&2 Bi Spot.

b. Arquer le peigne jusqu'à le faire céder ou le sélectionner à l'aide de ciseaux afin de détacher le nombre de dents requises (Nombre d'échantillons plus les deux contrôles).

c. Ranger la section du peigne non utilisée dans la pochette aluminium avec le sachet déssicant. Sceller hermétiquement la pochette (par exemple à l'aide d'un trombone) afin de prévenir toute humidité. Conserver le peigne dans son conditionnement d'origine entre 2 et 8 °C pour un usage ultérieur.

Mode opératoire :

Réaction Antigène – Anticorps (compartiment A du bac de développement)

1. Prélever 50 µl d'un échantillon à tester. Avec l'embout de la pipette ou le perforateur, perforer le film d'aluminium d'un puits du compartiment A. Distribuer l'échantillon en aspirant et refoulant plusieurs fois afin d'assurer une bonne homogénéité. Jeter l'embout de la pipette.

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

2. Répéter l'étape 1 pour les autres échantillons ainsi que pour le contrôle positif et le contrôle négatif fourni avec la trousse. Utiliser un nouveau puits du compartiment A et un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon ou contrôle.

3. Insérer le peigne (face imprimée vous faisant face) dans les seuls puits du compartiment A contenant échantillons et contrôles.

Homogénéiser : Réinsérer plusieurs fois le peigne dans les puits.

- Incuber pendant 10 minutes exactement. Homogénéiser 2 fois supplémentaires pendant l'incubation. A l'approche des 10 minutes, perforer le film recouvrant les puits du compartiment B à l'aide du perforateur en veillant à ne pas perforer plus de puits qu'il n'est nécessaire

- Au terme des 10 minutes, retirer le peigne du compartiment A.

Absorber le liquide résiduel : appliquer la pointe des dents du peigne sur du papier absorbant propre. Ne pas mettre la face réactive des dents au contact du papier absorbant.

Lavage (compartiment B)

1. Insérer le peigne dans les puits du compartiment B. Agiter : réinsérer plusieurs fois le peigne dans les puits pendant 10 secondes. Afin d'assurer un lavage correct, répéter l'agitation plusieurs fois. Perforer le film du compartiment C. Au terme de 2 minutes, retirer le peigne et absorber le liquide résiduel comme décrit dans le paragraphe 3c.

Conjugué (Compartiment C)

2. Insérer le peigne dans les puits du compartiment C. Homogénéiser le peigne plusieurs fois comme dans l'étape 3a. Incuber pendant 10 minutes. Homogénéiser comme dans l'étape 3b. Perforer le film du compartiment D. Au terme de 10 minutes, retirer le peigne et absorber le liquide résiduel.

Conjugué (Compartiment D)

3. Insérer le peigne dans les puits du compartiment D. Agiter comme dans l'étape 4. Incuber pendant 2 minutes. Perforer le film du compartiment E. Au terme des deux minutes, retirer le peigne et absorber le liquide résiduel.

Lavage (Compartiment E)

1. Insérer le peigne dans les puits du compartiment E. Agiter comme dans l'étape 4. Incuber pendant 2 minutes. Perforer le film du compartiment F. Au terme des 2 minutes, retirer le peigne et absorber le liquide résiduel.

Révélation (compartiment F)

2. Insérer le peigne dans les puits du compartiment F. Homogénéiser comme dans l'étape 3a. Incuber pendant 10 minutes. Homogénéiser comme dans l'étape 3b. Au terme des 10 minutes retirer les peignes.

Réaction d'arrêt (Compartiment E)

3. Insérer les peignes dans le compartiment E. Après 1 minute, retirer le peigne et laisser sécher à l'air.

Elimination des déchets

Traiter et éliminer les bacs de développement utilisés, les contrôles, les embouts de pipette, le papier absorbant et les gants en tant que déchets à risque biologique.

Résultats :

Validation

Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, les 3 conditions suivantes doivent être remplies (Voir figure 2)

1. Le contrôle positif doit présenter 3 Spots sur la dent.
2. Le contrôle négatif doit présenter uniquement le Spot de contrôle interne (Spot supérieur)

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

Si une des conditions n'est pas remplie, les résultats ne doivent pas être validés. Dans ce cas, échantillons et contrôles doivent être ré testés.

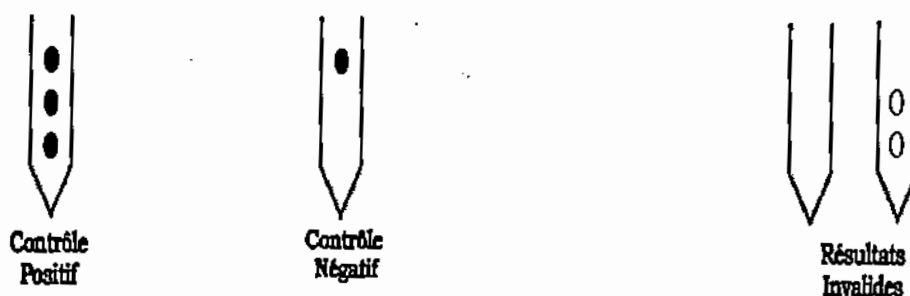


Figure 22: Validation des résultats.

Lecture des résultats :

Lorsqu'une dent affiche uniquement le Spot supérieur de contrôle interne, l'échantillon correspondant n'est pas réactif pour les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 (Figure a).

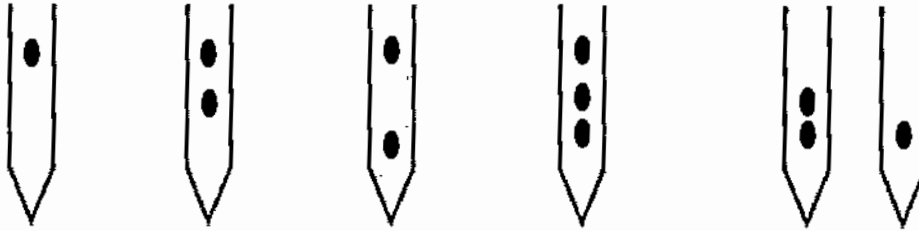
Le Spot médian, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH-2 (Figure b).

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

Le Spot inférieur, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH-1 (Figure c).

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

Le Spot inférieur et ou médian, circulaire et uniformément coloré, mais sans le spot supérieure (CONTROL) indique un résultat invalide.



a) Absence
d'anticorps
anti-VIH

b) Présence
d'anticorps
anti-VIH-2

c) Présence
d'anticorps
anti-VIH-1

d) Présence
d'anticorps
anti-VIH-1 et 2

e) Résultats
invalides

Figure 23: Résultats du test IMMUNOCOMB II HIV1 & 2.

IMPORTANT

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

Attention toute trace de peigne doit être considérée comme une réaction positive et doit faire l'objet d'investigations complémentaires.

Document des résultats

Les Spots colorés développés sur les peignes sont stables et permettent de conserver les peignes pour archivage. [52]

6.4. ANNEXE IV HOPITAL GABRIEL TOURE

MODE OPERATOIRE NORMALISE

No :

TITRE : Test de dépistage du VIH par Génie II

Rédigé le :	Par :	Visa :
Vérifié le :	Par :	Visa :
Approuvé le :	Par :	Visa :
Modifié le :	Par :	Visa :
Vérifié le :	Par :	Visa :
Approuvé le :	Par :	Visa :
Diffusé le :	Par :	Visa :
Objet de la modification :		
Archivé le :	Par :	

Sérodiagnostic du VIH par le Génie II

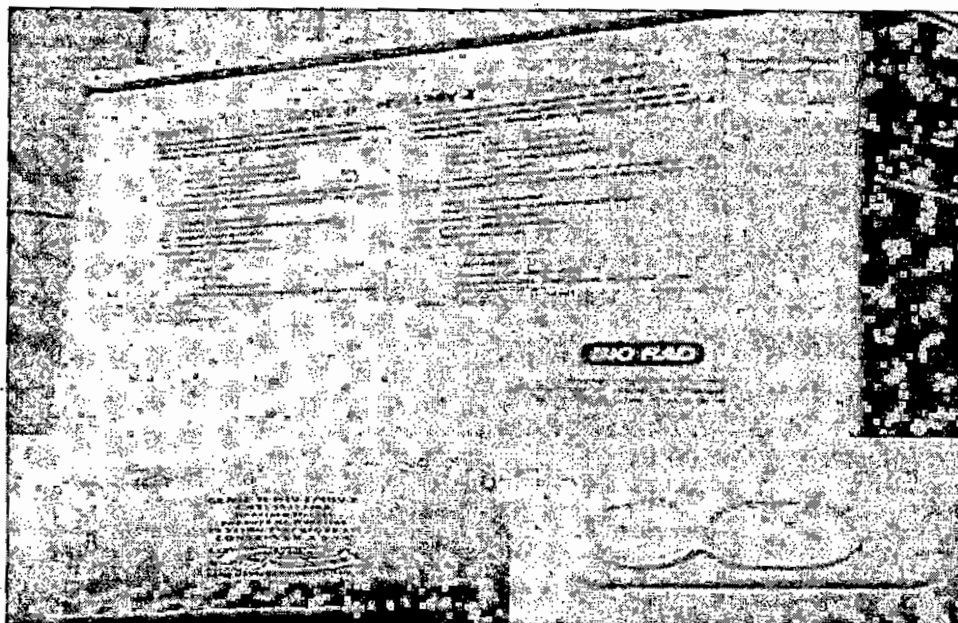


Figure 24: Kit du test Génie II HIV-/HIV-2.

Source : Photographies. Dr Samba Adama SANGARE laboratoire CVD CHU Gabriel Touré

Manipulation des échantillons

Sérums et plasmas peuvent être testés indifféremment. Les échantillons peuvent être conservés 7 jours entre 2° et 8° C. Au-delà conserver les échantillons à -20° C ou moins.

Centrifuger les échantillons après décongélation, et tester le surnageant.

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

Eviter les congélations et décongélations répétées.

Procédure

Préparation du test

- Lire attentivement la notice avant de commencer à manipuler.
- Equilibrer tous les réactifs et les supports de réaction à température ambiante (22°-26° C) pendant 3 heures, ou pré- incuber 15 minutes à 37° C.
- Inclure le contrôle Positif et le contrôle Négatif fournis avec la trousse pour l'ensemble des tests effectués au cours d'une même journée de travail et lors de la mise en œuvre de tout nouveau lot de réactifs.
- Sortir de leur pochette d'aluminium le nombre requis de supports de réaction Génie II HIV-1/HIV-2.
- Remplacer le bouchon du flacon de la solution d'arrêt par son compte gouttes.
- Exécuter le test à la température ambiante.

Mode opératoire

Capture des anticorps anti-VIH

Distribuer 3 gouttes (150 µl) de réactif # 1 (Diluant Echantillon) dans un microtube.

Ajouter 50 µl d'échantillon ou de contrôle. Mélanger le contenu du tube par pipetages successifs. Transférer immédiatement la totalité du contenu du microtube dans le Puits Echantillon A du support de réaction. Jeter l'embout de la pipette et le microtube en tant que déchets à risque biologique. Attendre l'absorption complète de la solution (approximativement 3 minutes). Les étapes suivantes sont réalisées dans le Puits de Réaction B seulement

Liaison du conjugué

Ajouter 3 gouttes de réactif # 2 (Conjugué Streptavidine/PAL) dans le Puits de Réaction B. Attendre l'absorption complète de la solution (approximativement 3 minutes)

Lavage : Remplir à ras bord le Puits de réaction B avec le réactif # 3 (solution de lavage). Attendre l'absorption complète de la solution (approximativement 1 minute)

Révélation : Ajouter 2 gouttes de réactifs # 4 (Substrat Chromogénique) dans le Puits de Réaction B. Attendre l'absorption complète de la solution (approximativement 3 minutes)

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

Interprétation des résultats

Validation : Examiner la membrane au niveau du Puits de Réaction B. Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, le contrôle interne doit être présent sur chaque

support de réaction. L'absence de contrôle interne est considérée comme un résultat invalide, et le test doit être répété.

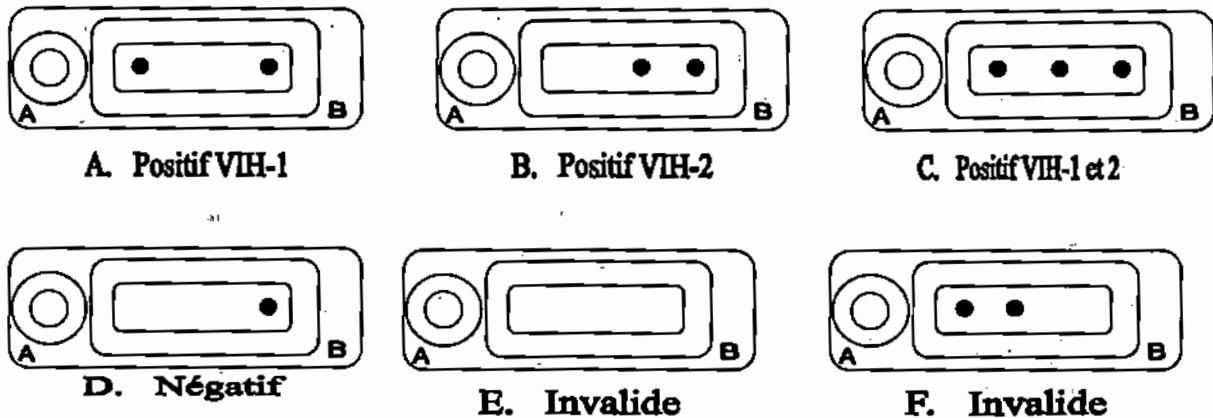


Figure 25: Validation et interprétation.

Résultats

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

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

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

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

Toute trace de spot coloré doit être suspectée de représenter un résultat positif et doit faire l'objet d'investigations supplémentaires.

Conservation des composants non utilisés

Ranger contrôles, réactifs et fiche technique dans la boîte d'origine, et conserver entre 2° et 8°

C. [52]

6.5. ANNEXE V

Chronogramme des activités

Tableau XII : Chronogramme des activités pour l'élaboration de la thèse.

Activités	Temps	2006		2007		2008		2009									
		A	S	O	N	J	F	M	A	M	J	J	A	S	O		
Paillasse				A												D	
Bibliographies								J	F							M	J
Protocole										F						M	
Analyse des données												M					J
Rédaction de la thèse								J									A
Lecture de la thèse										A							O
Correction de la thèse																O	N
Soutenue et archivée																	D

J: Janvier, F: Février, M: Mars, A: Avril, *M*: Mai, J: Juin, *J*: Juillet, A: Août,
 S: Septembre, O: Octobre, N: Novembre, D: Décembre.

7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] **ONUSIDA/OMS**, 2004. Rapport sur l'épidémie mondiale du SIDA. 4^{ème} rapport mondial. 7-214.
- [2] **ONUSIDA**, 2006. Le point sur l'épidémie du SIDA. In www.unaids.org. 24 novembre 2006.
- [3] Point sur la situation épidémiologique du VIH au MALI. 2001 CPS. Résultat du test VIH/SIDA de l'EDSM III.
- [4] Point sur la situation épidémiologique du VIH au MALI. 2005-2006 CPS. Résultat du test VIH/SIDA de l'EDSM IV.
- [5] **PICHARD E, GUINDO A, GROSSETETE G, FOFANA Y et coll**, 1998. L'infection par le VIH au Mali: Médecine Tropicale; 48 ; 345-349 p.
- [6] <http://anne.decoster.free.fr/d1viro/vretroVO.html> (Décembre 2007)
- [7] **SONIGO P, ALIZON M**, 1989. Les virus HIV. In: L'objectif médical. Le SIDA. Edition Afrique noire francophone. Spécial et hors série. 6-20p.
- [8] **CI SSE BI**, 2004. Infection à VIH/SIDA, le point sur la recherche vaccinale. Thèse Pharm. N° 04-P- 24. Bamako MALI.
- [9] **MINISTERE DE LA SANTE DU MALI**, janvier 2001. Direction Nationale de la Santé. Programme National de Lutte contre le SIDA, Plan Stratégique National de Lutte contre le VIH/SIDA 2001-2005, 8-9p, Médecine Science, Paris, Flammarion 2002 ; 103p.
- [10] **OUOLOGUEM M**, 1998: Analyse du secteur pharmaceutique au Mali ; quelques aspects des procédures d'importation des médicaments et des consommables. Thèse Pharm. N° 98-P-40. Bamako MALI
- [11] **OMS** : Rev. Info Mali. Septembre 2001.23.
- [12] **TCHALLA AM**, 2004. Etude bibliographique sur l'infection au VIH au MALI. Point sur les études réalisées de 1983 à février 2003. Thèse Pharm. N° 04-P-43. Bamako MALI.
- [13] In: www.yahooencyclopédie.fr/sida (Novembre 2007).
- [14] **ASSOGBA CL**, 2001. « Inventaire et évaluation des performances des tests rapides de dépistage du VIH utilisés au Bénin ».Thèse Pharm. N°05-P-77. Bamako MALI .
- [15] **BARIN F, DENIS M and al**, 1985. Serologic Evidence for Virus Related to simian T lymphotropic retrovirus III in residents of West Africa Lancet; 2: 1387-1389p.
- [16] **GYLLE Y**, in : www.google.fr/rubrique/santé/SIDA (Décembre 2007).
- [17] **COFFIN JM**, 1992. Structure and classification of retroviruses.

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

In: Levy JA, Ed: The retroviridae, New York: Plenum: 19-50p.

[18] SINOUSSE FB, 2001. Virologie fondamentale de l'infection VI. In: GIRARD PM, KATLAMA Ch, PIALOUX G. 2001. Doin; Paris; 3-19p.

[19] GALLO RC. GIRARD PM, KATLAMA Ch, PIALOUX G, 1986. The first human retrovirus. Scientific American; 255: 88-98p.

[20] BARON S. Human Immunodeficiency Virus. MEDICAL MICROBIOLOGY 4 th Edition. In: www.ncbi.nlm.nih.gov/books (Novembre 2007).

[21] TRAORE B, 2002. Résultats épidémiologiques de l'utilisation de cinq techniques de dépistage du VIH au CNTS de Bamako, Thèse Pharm. N° 27-P. Bamako MALI.

[22] TRAORE TM, 2006. Contrôle de qualité des tests de dépistage dans les centres de conseils et de dépistage volontaire (CCDV) au Mali, Thèse Pharm. N° 06-P-52. Bamako MALI.

[23] PRESTON BD, POIESZ BJ, LEEB LA, 1988. Fidelity of HIV-1 reverse transcriptase. Science, 282: 1168-1171p.

[24] HOD D, NEUMANN AV, PERELSON AS, et coll, 1995. Rapid turn over of plasma virus and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection. Nature; 373: 123-126p.

[25] WEIX, GHOSH S R, TAYLOR M E et coll, 1995. Viral dynamics in Human Immunodeficiency virus type -1 infection. Nature; 373: 117-122p.

[26] ROSENHEIM M, ITOUA NGAPORO A, 1989. SIDA et infection à VIH : Aspect en zone tropicale. Paris 1989 : Méd. Tropicale, édition ELLIPSES, AUPELF ; 336p.

[27] SANOGO M, 2004. Enquête séro-épidémiologique sur l'infection par le VIH au CESAC de 2001 à 2003, Thèse Pharm. N°65-P-65. Bamako MALI.

[28] OMS. Dépistage du VIH et d'autres agents infectieux. In : Sécurité du sang et des produits sanguins, module 2.

[29] Bulletin épidémiologique hebdomadaire. 22 novembre 2005. Infection par les VIH-1 sous types non-B, les VIH-1 groupe O et les VIH-2 ; 284-295 ;N°46-47.

[30] BARIN F, 2002. Retroviridae : Les virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH). In MAMMETTE A. Virologie Médicale collection Azay, Presses Universitaires de Lyon, chap. 46, 569-593p.

[31] www.HIV-sida.com (Octobre 2007).

[32] BARTLETT J, MOORE A, 1998. L'amélioration des traitements contre le VIH. Pour la science; 251: 30-39p.

Diagnostic sérologique du VIH chez l'adulte au laboratoire du CHU Gabriel Touré

[33] MAÏGA AI, 2005. Intérêt de la numération des lymphocytes T CD4+ au cours de l'infection à VIH à l'hôpital NIANANKORO FOMBA de SEGOU, Thèse Pharm. N°-05-P-47 Bamako MALI.

[34] <http://documentation.Ledmed.org/IGM/html/doc-10797.html> (Décembre 2007).

[35] GAUTIER-CHARPENTIER L, VAN DE PERRE P, SIMON F, BRUN-VEZINET F, 1997-1998. Stratégies du Diagnostic des infections VIH ; 4-13p.

[36] GORE BI, 2001. Suivi de la dispensation des ARV au service de maladie infectieuse et tropicale du CHU- Trechville d'octobre 1998 à décembre 2000, Thèse Pharm. N°560. Abidjan Cote d'Ivoire.

[37] KATLAMA Ch, PIALOUX G, GIRARD PM, 2004. Traitements ARV. Paris ; Doin : 229-330p.

[38] DENIS F, BOUP SM, SANGARE A, LEONARD G et coll, 1999. Le virus de l'immunodéficience humaine : structure, organisation génétique, réplication. In : Rosenheim M, Itoua-Ngaperera A. SIDA /infection à VIH : aspects en zone tropicale. Ellipses-AUPELF: 12-45p.

[39] ONUSIDA, 1999. Transmission du VIH de la mère à l'enfant. Coll Meil Prat de l'ONU SIDA.

[40] GUINDO O, 2003. Infection à VIH et VHB au CNTS de Bamako, Thèse Pharm. N° 03-P-47. Bamako MALI.

[41] DELFRAISSY JF, 2002. (Recommandations du groupe d'expert 2002) Prise en charge des personnes infectées par le VIH. Médecine Science, Paris, Flammarion; 103p.

[42] GIRARD PM, FONQUENERIE L, KATLAMA Ch, PIALOUX G. VIH EDITION 2001 Doin ; Paris ; 542p.

[43] Améliorer l'accès aux Antiretroviraux dans les pays à ressources limitées. Recommandations pour une approche de santé publique. OMS Avril 2002.

[44] CHAMARET S, 1999. Encore un nouveau Rétrovirus VIH-1 identifié. Transcriptase sud; 1: 28-30p.

[45] Dix questions sur le VIH. In www.sida-info-service.org

[46] http://fr.wikipedia.org/wiki/Virus_de_l'immunod%C3%A9ficience_humaine. (novembre 2007).

[47] SINOUSSE BF, 2004. Virologie fondamentale de l'infection VIH. Doin 6ème Edition ; Paris, 200p.

[48] PLANTIER J C, SIMON F. Cours : Diagnostic sérologique des infections HIV. Laboratoire de virologie CHU Charles Nicolle 76031 Rouen.

- [49] **CHIRAC P**, 2001. Les enjeux économiques et réglementaires de l'accès aux antirétroviraux transcriptase, 48p.
- [50] **LABORATOIRE ABBOTT DIVISION DIAGNOSTIC 12**, rue de la Couture SILIC 203 F-94518 RUNGIS Cedex.
- [51] Langdorpsesteenweg 160. 3201 Langdorp-Belgium.
- [52] **ORGENICS France S.A.** 19, rue Lambrechts 92400 Courbevoie, France. 2006.
- [53] La revue de **MED'AF**, édition trimestrielle, n°1, juillet 2002.
- [54] L'Invs travaille actuellement à une étude pour la France en relations avec les équipes ayant travaillé sur les Etats-Unis.
- [55] **OMS/ONU/SIDA**, 2000. Epidémiologie du SIDA au Gabon. Genève.
- [56] **ORS Ile de France**, 2004, avril 2006. Les connaissances, attitudes, croyances et comportements face au VIH/sida aux Antilles et en Guyane en 2004, avril 2006, 181p.
- [57] **WALENSKY RP, WEINSTEIN M, KIMMEL AD and al**, 2005. « Routine human immunodeficiency virus testing: an economic evaluation of current guidelines », *Am J Med* 2005; 118, 292-300p.
- [58] Point sur la situation épidémiologique du VIH au Mali. Résultat du test VIH/SIDA de l'EDSM III. Déc 2001 CPS.
- [59] **SARIA B**, 2006. Etude Epidémiologique Clinique de L'affection à VIH /SIDA à l'Hôpital du Point G De 2000 à 2004. Thèse Méd. N°134.
- [60] **ISAARV**, 2002. Initiative Sénégalaise d'Accès aux médicaments Anti- Rétroviraux. Analyses économiques, sociales, comportementales et médicales. ANRS, collection science et SIDA, Paris.
- [61] **BOUGOUDOGO D**, 2008. L'évolution des sérotypes de VIH de 1998 à 2007 à l'INRSP Thèse Méd. N°66.

RESUME

Le diagnostic sérologique du VIH est a présent le moyen sûr et rapide de dépistage du sida chez l'adulte et présente aussi tout son intérêt dans la prévention et le traitement du sida.

Notre objectif était de décrire quelques méthodes utilisées au laboratoire du CHU Gabriel Touré et d'analyser certaines caractéristiques socio- démographique de la maladie sur un total de 10105 échantillons examinés au cours de la période 2006 à 2008.

Il s'agit d'une étude rétrospective pendant les deux premières années de 2006 à 2007 et prospective pendant la troisième année en 2008. Cette étude portait sur des malades de 18 ans et plus hospitalisés ou non et des volontaires référées au laboratoire pour un dépistage ou une confirmation d'infection au VIH.

Au terme de cette étude nous avons trouvé 3571 cas de positivité aux tests VIH sur une population 10105 patients, soit une séoprévalence de 35,34% parmi ceux-ci, 62,08% de femmes et 37,92% d'hommes. Les tranches d'âge de 31-40 suivis 21-30 ont été les plus touchées et 42,00 % étaient des ménagères. Le type VIH-1 a prédominé avec 94,40% de l'échantillon (n = 3372 cas) suivi du VIH-2 avec 3,60 % (n = 128 cas) et la co- infection VIH-1+VIH-2 qui a représenté 2,00 % (n = 71 cas).

Cette étude sur le diagnostic sérologique des infections à VIH et SIDA dans une structure hospitalière comme le CHU Gabriel Touré permettra de rehausser sans doute la qualité des dépistages dans les Laboratoires.

Mots clés : VIH, diagnostic sérologique, tests rapides, CHU Gabriel Touré.

SUMMARY

Serological HIV diagnosis is still reliable and quick method for AIDS screening in adult and had shown his interest in the prevention and the treatment of AIDS.

Our goal was to describe some used methods in laboratory of the CHU "Gabriel Touré" and to analyse some socio- demographic futures on about 10105 samples collected from 2006 to 2008.

It is a retrospective study during the first two years 2006 to 2007 and prospective in 2008.

This study was about patients aged 18 to more and hospitalized or not, voluntaries send to the laboratory for the screening or for HIV test confirmation

At the conclusion of this study we found 3571 cases of positive HIV tests on a patient population 10105, representing a 35, 34% seroprevalence among them, 62, 08% of women, 37, 92% of men.

Age intervals 31-40 and 21-30 were the most involved and 42% were housewives.

HIV- type 1 has prevailed with 94, 40% of the sample (n = 3372 cases) followed by HIV-type 2 with 3, 60 % (n = 128 cases) and HIV co-infection HIV-1 +HIV- 2, which represented 2, 00 % (n = 71 cases).

This study on serological diagnosis of HIV infections and AIDS in a hospital structure as CHU Gabriel Touré will undoubtedly enhance the quality of testing in laboratories.

Keywords: HIV, serologic diagnosis, rapid tests, CHU Gabriel Touré.

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.

Je le jure!