

République du Mali
Un Peuple-Un But-Une Foi

MINISTÈRE DE L'ÉDUCATION NATIONALE

UNIVERSITÉ DE BAMAKO

Faculté de Médecine de Pharmacie et D'Odonto-Stomatologie

ANNEE : 2004-2005

Thèse N°.....

Dépistage du VIH à partir de confettis desang total sur papier filtre

Validation d'un algorithme utilisant des tests rapides

Thèse présentée et soutenue publiquement le

Par M^{elle} **Fatoumata Tahirou DIALLO**

Pour obtenir le grade de **Docteur en Pharmacie** (Diplôme d'Etat)

JURY :

Président du jury:

Pr Moussa Maiga

Membres du jury:

Dr Sékou Traoré

Dr Sounkalo Dao

Directeur de thèse :

Pr Flabou Bougoudogo

DEDICACES

Je dédie

cette thèse...

A ALLAH

Le tout puissant le miséricordieux,

Toi qui nous assiste depuis la naissance jusqu'à la mort
Merci pour le vécu et pour le futur (car tout est tracé depuis le 1^{er}
jour).

A ma grand-mère et homonyme **Fatoumata Bintou MAÏGA,**
Je n'ai jamais oublié tes conseils qui m'ont tant aidé dans
les grandes circonstances et que je sais, vont m'aider jusqu'à la
fin de mes jours.

Tes bénédictions n'ont pas fait défaut, merci à toi Babintou
que ton âme repose en paix (Amen).

A mon père Tahirou Balobo MAÏGA,

Papa, tu as toujours été un exemple pour moi et j'ai toujours
rêvé d'être comme toi. J'espère que je ne te décevrais de toute ma
vie. Merci pour tout ce que tu as fait pour nous : Tes enfants

A ma mère chérie Kadidia TRAORE,

Source de ma vie, pionnière de mon éducation, maman, tu
es ma fierté de tout le temps. Ma vie n'aura pas de sens que
lorsqu'un jour, tu seras fière de moi.

Continue tes bénédictions car mes frères et moi en avons
besoin pour qu'un jour nous puissions réaliser tes vœux les plus
chers.

Maman tes conseils, tes bénédictions et tes prières ont
permis la réalisation de ce travail merci et longue vie pour
m'assister encore vers d'autres horizons.

A mon oncle Abdou Salam MAÏGA,

Ce travail est le fruit de ta confiance envers moi, de tes
encouragements.

Toi qui guida mes premiers pas d'école, ton soutien moral
financier a été d'un apport inestimable dans ma vie d'internat et
d'après. Les mots me manquent aujourd'hui pour t'exprimer toute
ma reconnaissance et ma profonde gratitude.
J'espère qu'au fil du temps ta confiance ne fera pas défaut.

A mes grands-parents **Drissa SOUMAORO** et **Mariam CISSE**. Merci pour tout le soutien que vous m'avez apporté depuis ma première année jusqu'à la fin. Vous pouvez être aujourd'hui fière de celle que vous appelez «guawanmousso».

Merci pour vos bénédictions.

A mes Tantes : **Tata, Mainy, Aissa, Niamoye, Mme TRAORE Djeneba**

Merci pour tous vos soutiens.

A mes Tontons : **Yaya Balobo, Youssoufa, Mr TRAORE**, merci pour tout.

A mes frères **Papus, Basory et Bâh**,

Vous êtes loin mais il ne se passe une seconde de ma vie que je ne pense à vous, soyez fières de votre sœur et merci pour tout. N'oubliez pas que nous vous attendons, alors bon retour.

A mes sœurs et frères **Hama, Adama, Ramatoulaye, Lobo, Inafitini, Jolie, Atta, Adja, Ina, Baba, Mamma, Mamoudou** et le **vieux**, mon chéri, pour dire que rien ne vaut une famille unie et prospère.

A ma sœur **Soumaré Fatoumata Bintou MAÏGA**, de l'enfance jusqu'à ce jour nous avons tout partagé si je suis là aujourd'hui, c'est grâce au tout Puissant et aussi grâce à toi et tes conseils d'amie, à ta gentillesse envers moi et surtout à l'amour que tu m'as donné. Ma chérie, toi et ton mari **Mamadou Soumaré**, vous avez été ma deuxième Famille, Merci et du fond du cœur, soyez toujours heureux, longue vie à mes Nièces et Neveux : **Mamie, Hawoye et Papa Soumaré**.

A ma tante **Leila** et Tonton **Hamadibaba**. Vous avez été pour moi une source sans fin avec vos bénédictions et conseils, et aussi l'amour inestimable que vous portez à mon égard, merci pour tout et longue vie pour que vous puissiez nous aider encore vers d'autres horizons et aussi merci à toute la famille à Faso Kanu.

A ma grand mère **Aissata Cissé**, aujourd'hui c'est ton jour car tes bénédictions n'ont pas été vaines, merci et à travers toi, je remercie toute ma famille résidant à Mopti « Gangal »

A mes cousins et cousines merci pour les rapports fructueux, notamment vos encouragements incessants que vous avez su exprimer à l'endroit de votre cousine.

A Mme **TOURE Fanta Yaro** dite Fifi, j'espère que tu n'as pas oublié les paroles que nous nous sommes dites avant le « BAC », je serai pharmacienne et toi médecin aujourd'hui, je remplie mon devoir. Merci pour tes conseils

A mes Amies :

Poupette, ma chérie l'amitié et à la base de toute chose dans ce monde.

Les vraies Amies peuvent tout avoir et c'est notre cas, je te souhaite tout ce qu'il y a de meilleurs dans ce monde. Merci de tout de tout cœur et longue vie à ta petite famille.

Jackie, à chaque moment de la vie, on fait des rencontres et celle avec toi a été le plus beau cadeau que je puisse avoir à la FMPOS car notre trio **Fifi – Jackie – Poupette** a été et restera à jamais la plus belle chose de notre carrière, longue vie à toi et beaucoup de bonheur.

N'Deye, Assou, Amina Tanti Yébedié et à toute la promotion feu **Arouna Keita**.

A toute la pharmacie **Babemba**, merci pour votre bonne collaboration.

Mes remerciements vont à l'endroit de :

Pr Flabou BOUGOUDOGO

Dr Sidi O Touré

Dr Sekou Traoré

Dr Seidou Diarra

Mr Issa CISSE

Mr Falé COULABALY

MR Balla COULABALY

Mr Dédé COULIBALY

Ainsi qu'à toutes mes aimables tantes de la Sérologie/SIDA sans oublier Dr Adam SANGARE et ALBERTINE de IST/Lab/CDC et tout le personnel de l'INRSP, merci pour votre bonne collaboration et votre aimable gentillesse.

A toutes mes co-chambrières notamment : **Tantie oumou, Djita, Adissa, Lalaicha, Doussou, Agnès** et aussi celles de la 207, 214, 110, 114, 203.

A ma fille **Ina Sambal** et à toute la nouvelle génération Homborienne.

A tout **le corps professoral de la FMPOS**, merci pour le savoir que vous nous avez donné, puisse le bon dieu nous guider pour que nous nous en servons sur le droit chemin.

A **Alassane BA** et toute sa famille à Ségou, tu as été plus qu'un jeune frère pour. Je te remercie sincèrement pour les conseils et les encouragements.

A **Adama TOURE**, les mots me manquent réellement pour te remercier car sans toi et tes compétences en Informatique, je ne serai pas là. MERCI mille fois.

A NOS MAITRES

ET JUGES

A notre maître, président du jury

Professeur MOUSSA Y. MAIGA

Agrégé de Gastro-entérologie et d'hépatologie

Chef de service de gastro-entérologie de l'hôpital « Gabriel Touré »

Nous avons été touchés par votre gentillesse et votre grande disponibilité. Vos conseils nous ont beaucoup aidé.

L'honneur que vous nous faites en acceptant de juger ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde reconnaissance et notre estime.

A notre maître et juge

Docteur SOUNKALO DAO

Diplômé de Maladies Infectieuses et tropicales,

Médecin traitant au service des maladies infectieuses de l'hôpital du Point G.

Assistant chef de clinique à la faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie (FMPOS)

Investigateur clinicien au programme de recherche sur le VIH et la tuberculose à la FMPOS.

Cher Maître, nous sommes très honoré par votre présence dans ce jury. Votre sens élevé de la responsabilité, votre rigueur dans le travail nous ont beaucoup attiré.

Veillez recevoir ici, cher Maître notre profonde gratitude.

A notre Maître et juge.

Docteur Lt Colonel Sékou TRAORE,

Chef de service de Séro immunologie INRSP;

Responsable surveillance laboratoire rougeole/fièvre jaune INRSP

Vous nous faites l'honneur et un grand plaisir en acceptant de siéger dans ce jury.

Nous avons été marqués par la simplicité, le sens du devoir et la responsabilité dont vous faites preuve. Trouvez ici toute notre gratitude.

**A notre Maître et Directeur de thèse.
Professeur Flabou BOUGOUDOGO.
Professeur agrégé en bactériologie et virologie.
Directeur de l'Institut National de Recherche en Santé Publique
(INRSP).
Responsable de cours de bactériologie et virologie à la FMPOS.**

Honorable maître, nous vous remercions pour la confiance que vous nous avez faite en encadrant ce travail.

Nous apprécions votre rigueur scientifique, la précision de vos enseignements, vos qualités humaines et intellectuelles font de vous un maître respecté, à envier et à suivre.

Permettez-nous de vous adresser, cher maître, l'expression de notre vive reconnaissance et notre profonde gratitude.

SOMMAIRE

	Page
INTRODUCTION	1
OBJECTIFS	3
GENERALITES	4
1°) Classification.....	4
1-1 Les oncovirus.....	4
1-2 Les lentivirus.....	5
1-3 Les spumavirus.....	5
2°) Structure et Réplication.....	6
2-1 Structures.....	6
2-2 Réplication	7
3°) Infection à VIH.....	8
3-1 Définition	8
3-2 Le Virus	11
3-3 Historique.....	11
3-4 Histoire naturelle de l'infection.....	15
4°) Epidémiologie	16
4-1 Situation de l'Infection dans le Monde.....	16
4-2 Situation épidémiologique au Mali.....	21
4-3 Mode de Transmission	23
5°) Diagnostic de l'Infection	25
5-1 Diagnostic direct	25
5-2 Diagnostic indirect	28
5-3 Stratégie de dépistage	34
METHODOLOGIE	39
1°) Cadre d'Etude	39
2°) Type et Période d'Etude	39
3°) Population d'étude et échantillonnage.....	39
4°) Méthode d'étude	40
4-1 Tests de dépistage utilisés	40
4-2 Algorithmes de dépistage utilisés.....	63
4-3 Prélèvement	66
4-4 Aspects éthiques.....	69
5°) Traitement et Analyse des données	70
RÉSULTATS	73
1°) Phase I.....	73
2°) Phase II.....	78
COMMENTAIRES ET DISCUSSION	84
CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	88
Conclusion.....	89
Recommandation.....	90
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	91
ANNEXES	96

ABREVIATIONS

ADN : Acide Désoxyribo Nucléique

ARN : Acide Ribo Nucléique

CDC : Centers for Disease Control

CESAC : Centre de Soins, d'Animation et de Conseils

CNTS : Centre National de transfusion Sanguine

DBS : Dry Blood Spot (confettis de sang total)

DO : Densité Optique

EDS : Enquête Démographique et de Santé

ELISA : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

Env : Enveloppe

GAG : Groupe Antigène

GP : Glycoprotéine

HKI : Hellen keller International

HTLV : Human T cell leukemia Virus

INRSP : Institut National de Recherche en Santé Publique

ISBS : Integrated Sexually Transmitted Infections and Behavioral Surveillance

IST : Infection Sexuellement Transmissible

LAV : Virus Associé aux Lymphadenopathies

Nef : **N**egative **r**egulatory **f**actor

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONUSIDA : Organisation des Nations Unies pour le SIDA

Pr : Protéine

PCR : Polymerase Chain Reaction

PMLS : Programme National de Lutte contre le Sida

Pol : polymérase

PSI : Population Service International

Rev : **R**egulation of **e**xpression of **v**iral proteins

RT : Reverse Transcriptase

SIDA : Syndrome de l'Immunodéficience Acquise

Tat : **T**ransactivator of **t**ranscription

TMB : Tétraméthyl Benzidine

Vif : **V**irion **i**nfectivity **f**actor

VIH = HIV : Virus de l'Immunodéficience Humaine

VIS : Virus de l'Immunodéficience Simienne

Vpr : **V**iral **p**rotein **r**

Vpu : **V**iral **p**rotein **u**

Vpx : **V**iral **p**rotein **x**

INTRODUCTION

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et le syndrome d'immunodéficience acquise (SIDA), qui à l'origine, étaient des problèmes de santé de l'adulte et des drogués sont actuellement une cause très importante de décès au niveau de toutes les couches de la société notamment dans les pays en voie de développement (36).

En 2003, l'épidémie de SIDA a causé plus de 3 millions de décès et on estime que 5 millions de personnes ont contracté le VIH cette même année, ce qui porte à 42 millions le nombre de personnes vivant avec ce virus dans le monde (36).

Alors que nous rentrons dans la troisième décennie de l'épidémie, les preuves de son impact sont indéniables. Partout où l'épidémie s'est propagée sans contrôle, elle a privé les pays des ressources et des capacités dont dépendent leur sécurité et leur développement (37).

Dans certaines régions, le VIH/SIDA associé à d'autres crises poussent ces pays vers la misère qui est le premier ennemi de l'homme.

Le nombre de nouveaux cas et le nombre de décès par minute soit respectivement (10 et 6) est tellement grand que plus vite on a une solution plus le monde serait un peu en sécurité (36).

Au Mali, chaque jour au moins 30 personnes sont infectées par le comportement à haut risque et plus de 50 personnes décèdent du SIDA (24).

Le problème majeur est que la majorité des victimes ignorent leur infection par le VIH. Alors une recherche de moyen de lutte efficace contre ce fléau s'avère indispensable.

Le counselling, le dépistage, le traitement et les surveillances épidémiologiques sont des moyens de lutte efficaces contre ce fléau.

L'Afrique, continent en voie de développement, est de nos jours la plus défavorisée à cause d'autres maladies et la pauvreté. Elle ne peut s'offrir le luxe de tests très coûteux et difficiles à conserver et des méthodes de prélèvement difficiles.

A l'heure actuelle, des tests rapides peu coûteux et suffisamment performants sont disponibles. Ces tests sont d'utilisation et de conservation faciles. Ils nécessitent peu de moyens, et des méthodes de prélèvement et de manipulation simples, avec moins de risque

Mais ces tests et méthodes doivent être évalués dans nos conditions de travail et contrôlés à tout moment. Alors, nous avons entrepris cette étude et nos objectifs étaient :

Objectif général : contribuer à la standardisation et à la validation des tests et algorithmes de dépistage du VIH au Mali.

Objectifs spécifiques : Pour atteindre l'objectif général, nous nous sommes proposées de :

- Valider la technique de recherche des anticorps anti-VIH à partir de confettis de sang total sur papier filtre.
- Évaluer la performance diagnostique de deux tests rapides (Immuno comb II et Génie II) utilisés au Mali sur sérum et sur confettis de sang.
- Évaluer l'algorithme de dépistage en vigueur dans les centres de conseil et de dépistage volontaire au Mali par un contrôle de qualité externe.

Généralités sur le VIH/SIDA

1. Classification (1,2)

Le Virus de l'Immunodéficience Humaine (VIH) est un Virus appartenant à la famille des retroviridae.

Les rétrovirus qui composent cette famille sont très largement répandus parmi les diverses espèces animales.

Ils sont caractérisés essentiellement par leur mode de réplication.

Ce sont des virus à ARN enveloppés possédant une enzyme, la transcriptase inverse (TI ou RT) qui est une ADN polymérase ARN dépendante. Cette RT permet la synthèse d'un acide désoxyribonucléique (ADN) double brin complémentaire de l'ARN viral, dans la cellule infectée par le rétrovirus (12) . C'est cet ADN néoformé qui va s'intégrer dans le génome de la cellule hôte et y former un provirus.

Actuellement, la famille des rétrovirus, qui recouvre en fait toute particule possédant une transcriptase inverse, est divisée en trois sous groupes selon des critères de pathogénie et selon des paramètres phylogénétiques : Oncovirus, lentivirus, spumavirus

1.1. Les oncovirus

Les oncovirus à ARN sont des rétrovirus les plus répandus : ils sont associés à des tumeurs, à des leucémies et des sarcomes chez de nombreuses espèces vertébrées. Ils entraînent une transformation des cellules aboutissant à un clone de cellules cancéreuses les deux principales espèces d'oncovirus infectant l'homme sont :

HTLV-1 et HTLV-2 (Human T Cell Leucémie Lymphome Virus) responsable de la leucémie à tricholeucocyte chez l'homme.

1.2. Les Lentivirus

Ce 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 chronique. Ce groupe comprend :

- Le Virus Visna- Maedi : responsable de la leuco-encephalomyelite du mouton.
- Les Virus VIH-1 et VIH-2 responsables de l'immunodéficience humaine.

1.3. Les spumavirus

Sont des virus identifiés chez de nombreux mammifères, mais ils ne sont associés à aucune pathologie connue chez l'homme et chez l'animal.

2. Structure et réplifications

2.1. Structure :

Le VIH appartient à un groupe de rétrovirus plus précisément à la sous famille des lentivirus. Il est caractérisé par la présence d'un matériel génétique constitué d'acide ribonucléique ou ARN et possède une enzyme.

La transcriptase inverse est une enzyme virale qui permet la transcription inverse de l'ARN viral en ADN double brin.

Cet ADN néoformé peut alors s'intégrer de manière stable dans l'ADN chromosomique de la cellule devenant ainsi un provirus.

Le VIH utilise une machinerie cellulaire pour transcrire ces gènes et les traduire en protéine. La particularité des rétrovirus réside dans leur aptitude à inverser le courant habituel de l'information génétique qui passe de l'ADN à l'ARN, puis aux protéines.

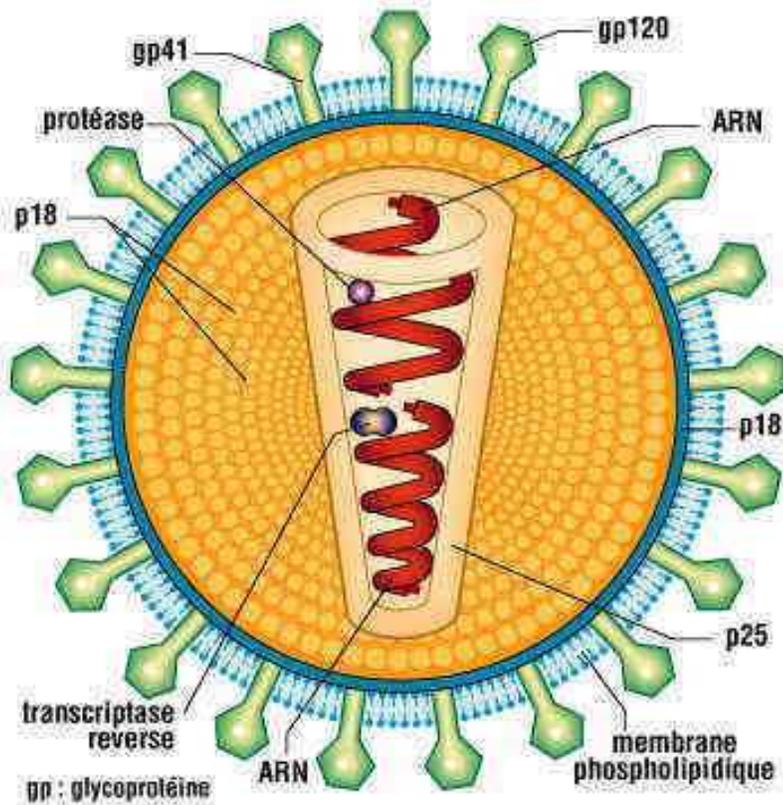


Figure 1 : Structure du VIH

2.2. Réplication

Figure 2 : schéma de la réplication(9)

3. INFECTION A VIH

3.1. Définition (14)

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) provoque une infection chronique de l'organisme humain. Cette infection fait coexister dans l'organisme le virus, présent à l'état libre non intégré dans le génome de cellules infectées, et la réponse immunitaire dirigée contre lui, en particulier, les anticorps sériques.

L'infection à VIH entraîne un déficit majeur de l'immunité, à condition qu'il n'y ait pas d'autres causes physiologiques pathologiques ou thérapeutiques d'immunodéficience.

Elle est causée par un virus qui parasite le système immunitaire en utilisant à son propre compte diverses molécules de ce système et en rendant l'organisme vulnérable à toute maladie.

L'infection par le VIH est une affection dont la « survenue », à condition de critères d'exclusion soient respectés, suffit à faire poser le diagnostic du SIDA qu'il y ait ou non des symptômes, la personne infectée par le VIH peut être porteuse du virus et infectée d'autres personnes.

L'infection à VIH va de la phase asymptomatique à la phase maladie (SIDA) comprenant toutes les manifestations cliniques.

3.2. Le Virus (1)

3.2.1. Morphologie :

Les VIH sont des virus enveloppés de 80 à 120 nanomètres (nm) de diamètre ayant une forme sphérique cernée par une enveloppe faite

de couche lipidique à la surface de laquelle sortent des spicules. Cette enveloppe est très sensible à la chaleur, aux détergents à l'alcool et à l'eau de javel. A l'intérieur de cette enveloppe se trouvent les protéines constitutives du nucléotide (core) et le génome viral.

3.2.2. Organisation génétique des rétrovirus :

Le génome des rétrovirus est constitué d'au moins trois régions appelées *gag*, *pol* et *env* qui sont des gènes de structure, ils codent respectivement pour les antigènes de la nucléocapside, pour la transcriptase inverse et pour les protéines de surface de virion. En plus des gènes de structure, on a les gènes de régulation dénommés : *tat*, *rev*, *vif*, *vpr*, *vpu*, *nef* et *vpx*.

Les gènes de régulation codent pour l'expression des protéines virales et par-là même de la multiplication du virus dans ces cellules cibles. Ils semblent également modifier l'expression de certains gènes cellulaires, et donc provoquer une altération du fonctionnement des cellules de l'immunité touchées par le virus.

Une même séquence de taille variable (long Terminal Repeat ou LTR) est présentée à chaque extrémité de l'ADN proviral, cette séquence, qui permet l'intégration du provirus dans le génome de la cellule hôte contient les éléments promoteurs nécessaires à l'expression des gènes.

3.2.3. Variabilité génétique du VIH

La variabilité génétique du VIH fut reconnue très tôt. Depuis 1986, on a reconnu l'existence de deux types de virus, le VIH-1, le plus

répandu dans le monde et le VIH-2, à localisation restreinte, essentiellement en Afrique de l'Ouest. L'organisation génétique des VIH 1 et VIH 2 est similaire.

Cependant, on note la présence du gène *vpu* au sein du génome du VIH-1, et la présence du gène *vpx* dans le génome du VIH-2.

Des études faites sur les séquences du gène *gag* ont montré qu'à l'intérieur du VIH-1, nous avons deux groupes génomiques qui sont le groupe M (Majeur) et le groupe O (outlier) (3; 6; 23 ; 24 ; 25)

Le groupe M regroupe les sous-types A, B, C, D, E, F, G, H, I, J. Les sous-types dominants ne sont pas les mêmes selon la répartition géographique (16).

En Europe occidentale et en Amérique du Nord, le VIH-1 groupe M sous type B est Dominant.

En Asie du Sud-Est (Thaïlande, Vietnam), le VIH-1 groupe M sous type E est dominant.

En Afrique, surtout Subsaharienne, les études y ont montré la présence de presque tous les sous-types du groupe M.

En Afrique de l'Ouest

- CI (sous-types A,B,D) (22)
- Le Bénin (Sous-types A,G) (21)
- Le Ghana (Sous-types A,G,D)
- Le Mali (Sous-types A,C,D,G) (37)

En Afrique Centrale :

- Le Cameroun (sous-types : A,B,C,D,E,F,G,H) (16)
- Le Gabon (sous-types :A,C,D,F) (11)

En Afrique de l'Est :

- l'Ouganda (Sous-type : A,G,D) (16)
- Le Rwanda (Sous-type : A,G,D) (44)
- Le Kenya (Sous-type : A,G,D) (42, 45)

En Afrique du Sud : (Sous-type : A,B,C,D,E) (16)

Le VIH1 groupe O a été découvert au Niger par Peters et collaborateurs, au Togo, Sénégal, Bénin, Tchad, Cameroun, Gabon et Zambie (16). Il existe également au Kenya (42)

Actuellement, un autre groupe de VIH-1 a été découvert au Cameroun : le Virus YBF 30 (5) .

3.3. Historique : (9, 16, 39)

En 1980, au CHU de Los Angeles, un docteur (Micheel Gottlieb) a découvert trois malades homosexuels qui présentèrent des signes cliniques voisins (amaigrissement, mycose, fièvre, candida buccal et pneumonie). Tous les trois avaient une quantité anormalement basse de leur lymphocyte T4 dans leur formule sanguine.

En Mai 1981, alors que les patients sont décédés, le docteur décida d'envoyer leur dossier médical au Center of Disease (CDC) d'Atlanta qui diffusa la nouvelle dans tous les USA. Cela a permis de

recenser 31 cas identiques à ceux du Dr. Gottlieb en moins de 15 jours et touchant toujours la communauté homosexuelle masculine.

En juin 1981, un cas a été détecté en France à l'hôpital Claude Bernard de Paris, lui aussi est homosexuel.

En fin 1981, les premières études montrèrent que cette affection jusque-là inconnue, se transmettait par voie sexuelle et sanguine et qu'elle ne frappait pas que les homosexuels. Les Américains décidèrent d'appeler cette affection AIDS pour Acquired Immunodéficience syndrome, que les Français vont traduire par SIDA pour syndrome d'Immunodéficience Acquise.

Avril 1982, Denver-colorado : un cas de sida atteignit une personne ni homosexuelle, ni toxicomane. Cela concerne un père de famille de 59 ans qui a la particularité d'être hémophile
(SIDA : le droit de tout savoir p 34-35- SANTERAMAHS-1)

Mai 1983, le professeur Luc Montagnier et son équipe parvinrent à isoler pour la première fois l'agent responsable du SIDA auquel il donne le nom de LAV (lymphadenopathy Associated virus)

Septembre 1983, le professeur Montagnier déposa une demande de Brevet pour un test du dépistage du SIDA.

Mai 1984, l'équipe du Pr. GALLO aux USA mettra en évidence un rétrovirus responsable de la maladie et le baptisa HTLV3 (Human T Cell Leukemia virus) par analogie aux virus HTLV1, et HTLV2 qu'elle avait déjà isolés. Échec des essais thérapeutiques, activités anti-retrovirales de l'AZT sont mises en évidence.

Au cours de l'année 1985, le virus (LAV : HTLV3) entra dans la nomenclature internationale sous le nom de VIH (virus de l'immunodéficience Humaine) (16).

En 1985, Barin et collaborateurs montrèrent qu'un autre rétrovirus humain apparenté au VIH1 mais plus proche du rétrovirus simien (VIS) circulait en Afrique de l'Ouest (9)

Ce second virus du SIDA a été actuellement appelé VIH-2 (39)

La même année, les premières trousse d'ELISA pour la détection des anticorps anti-VIH allaient voir le jour. Aussi, le premier cas de SIDA est décrit au Mali et il s'ensuit l'utilisation des tests rapides de dépistage qui sont de plus en plus nombreux et divers de nos jours.

L'identification du génome viral dans la cellule par PCR (polymerase chain réaction) a vu le jour en 1988.

En décembre 1993, Gurtlet et collaborateurs rapportèrent l'isolement d'un sous-type du VIH-1 groupe 0 alors fréquent au Cameroun (16).

Toujours dans la même année, les premiers essais de vaccins potentiels ont été testés sur l'homme.

En 1994, l'identification du virus est attribuée officiellement à l'institut Pasteur. Plusieurs données résultant de divers travaux ont démontré l'existence de cette maladie plusieurs années avant 1981.

NAHMIAS et Collaborateurs mettent en évidence la présence d'un virus apparenté au VIH dans le sérum d'un patient zaïrois depuis 1959 ⁽¹⁶⁾

MACCORNICK isola un lentivirus très voisin du VIH sur des prélèvements de 1976 provenant d'une tribu du Nord de zaïre (16). Un

jeune américain en 1969 est décédé d'une maladie semblant résultée d'une immunodéficience. Ses échantillons de sang et de tissu conservés révélèrent l'existence d'anticorps anti- VIH jusqu'à nos jours (8).

1996, Cas rapportés et cas estimés en pourcentage

Afrique	36 %	Afrique	77 %
USA	36 %	USA	7 %
Amérique	13 %	Asie	7 %
Europe	12 %	Océanie	1 %
Océanie	1 %	Europe	3 %
Asie	2 %	Amérique	6 %

1997 : l'Ouganda en lutte contre le SIDA. Dans la ville de Mbale, dans l'Est du pays, 15% des femmes enceintes étaient contrôlées positivement il y a 5 ans. Le chiffre est passé de 6,9% aujourd'hui, avec une amélioration de 1,6% par rapport à l'année dernière, cela révèle en fait un véritable changement des mentalités et une amélioration notable des comportements sexuels afin de ralentir le fléau. Moins de 90% des personnes infectées vivent dans le tiers monde. Quatre-vingt-dix-neuf pour cent des personnes contaminées par le virus du SIDA vivent à l'heure actuelle dans les pays en voie de développement. De plus, le rythme d'infection dans le monde est impressionnant. En effet, il est de 8500 personnes chaque jour selon un rapport de la banque Mondiale publié en Novembre 1997. On estime à ce moment que 23 millions de personnes sont infectées par le SIDA dont 14 millions pour la seule Afrique noire. 6 millions de personnes mortes, c'est le bilan du virus depuis son apparition il y a 20 ans ...

3.4. Histoire naturelle de l'infection à VIH(49)

Le déficit immunitaire induit par le virus du SIDA favorise l'apparition d'infections qualifiées d'opportunistes, car elles ne surviennent que chez les sujets dont les défenses immunitaires sont altérées. La survenue de ces infections opportunistes est étroitement corrélée au taux de lymphocytes CD4 du malade. Ce taux de lymphocytes CD4 (marqueur biologique de substitution) est de ce fait utilisé pour apprécier le niveau de déficit immunitaire et instituer un traitement adéquat.

L'infection à VIH peut présenter les manifestations cliniques très diverses, depuis la phase de primo-infection aiguë bénigne précoce, jusqu'au SIDA avéré pouvant survenir plusieurs années plus tard. Cette affection peut donc être asymptomatique ou symptomatique.

La primo-infection (49)

La phase aiguë de la primo-infection peut survenir les 15 jours à 3 mois qui suivent la contamination, que celle-ci soit sexuelle ou sanguine. 20 à 50% des personnes contaminées vont présenter des manifestations cliniques pendant cette phase. La manifestation clinique la plus fréquente durant cette phase est un syndrome mononucléosique : adénopathies disséminées cervicales et axillaires, fièvre pouvant persister jusqu'à un mois, courbatures et douleurs musculaires, éruptions cutanées (rash ou plus rarement urticaire), dysphagie douloureuse, arthralgie. On observe une candidose ou des ulcérations buccales et, très exceptionnellement, des manifestations neurologiques.

Quelle que soit la sévérité des symptômes observés à ce stade et les traitements appliqués, les signes disparaissent en quelques semaines à un mois.

La perturbation immunitaire la plus caractéristique est une déplétion profonde et transitoire des lymphocytes TCD4+.

La progression de l'infection : phase chronique

Toutes les personnes infectées par le VIH ne développent pas le SIDA. Chez les homosexuels, 10 à 50% des sujets évoluent vers le SIDA après 6 ans et 30 à 60% après 10 ans. Au bout de 10 ans, un séropositif sur deux n'est pas encore malade. En effet, on constate que certains sujets infectés par le VIH, dits progresseurs lents, demeurent asymptomatiques pendant 8 à 10 ans après la séroconversion avec un taux de CD4 supérieur à 500/mm³. L'hypothèse actuellement avancée serait une variabilité de la pathogénicité des souches retrovirales plutôt que des facteurs liés à l'hôte.

Quatre paramètres biologiques ont une valeur prédictive : le nombre absolu et/ou le pourcentage de lymphocytes TCD4+, l'antigénémie P24, la β 2 – microglobulinémie et la viremie (49).

4. ÉPIDÉMIOLOGIE (33, 34)

4.1. Situation de l'infection dans le monde :

Depuis le début de l'infection jusqu'à nos jours le taux des victimes du virus de SIDA ne fait que croître.

Le taux de transmission du VIH/SIDA varie selon le mode de transmission. Selon les pays du monde et semble être influencé par un certain nombre de paramètres (famine, sous développement, guerres...)

Aucune région du globe n'a été épargnée par la pandémie de l'infection du VIH. Selon les estimations de l'ONU SIDA/OMS en 2002, l'épidémie de SIDA a causé plus de 3 millions de décès et on estime que 5 millions de personnes ont contracté le virus de

l'immunodéficience humaine (VIH) ce qui porte à 42 millions le nombre de personne vivant avec le virus dans le monde.

En Europe Orientale et Asie Centrale, le nombre de personnes vivant avec le VIH en 2002 était de 1,2 millions.

En Asie et dans le pacifique, 7,2 millions de personnes vivent aujourd'hui avec le VIH. Cela est dû à l'épidémie qui s'intensifie en Chine avec 1 million et 1 potentiel de croissance considérable en Inde, ou près de 4 millions de personnes vivent avec le VIH.

L'Afrique Subsaharienne avec ces 3,5 millions de nouveaux cas en 2002 augmente le nombre à 29,4 millions de personnes vivant avec le VIH et 2,4 millions de décès 10 millions de jeunes entre 15 et 24 ans et près de 3 millions d'enfants de moins de 15 ans vivent avec le VIH.

En Afrique australe, l'épidémie généralisée est due à de nombreux facteurs. La prévalence du VIH chez l'adulte a grimpé à des niveaux inimaginables, au délai de 30 %

- au Bots wana (38,8 %)
- au Lesotho (31 %)
- au swaziland (33,4 %)
- au Zimbawé (33,7 %)

En Afrique du sud, les taux de prévalence du VIH chez les jeunes femmes enceintes de moins de 20 ans sont tombés de 15,4 % en 2001 (par rapport à 21 % en 1998), une baisse de la prévalence du VIH a également été observée parmi les jeunes femmes des quartiers pauvres d'Addis-Abeba en Éthiopie.

Le taux d'infection a chuté de 24,2% en 1995 à 15,1% en 2001 chez les femmes en consultation prénatale.

Ailleurs, en Afrique occidentale et centrale, des profils de croissance plus menaçants portent ombrage aux taux relativement faibles de prévalence du VIH chez l'adulte dans des pays comme le Sénégal (moins de 1%) et le Mali (1,7%)

La prévalence du VIH est > à 5% dans huit autres pays d'Afrique occidentale et centrale dont le Cameroun (11,8%), la Côte d'Ivoire (9,7%), le Nigeria (5,8%) et la République centrafricaine (12,9%).

La forte augmentation de la prévalence du VIH, parmi les femmes enceintes au Cameroun qui a plus que doublé pour dépasser 11% chez les femmes de 20 à 24 ans entre 1998 et 2000, prouve avec quelle rapidité l'épidémie peut se répandre.

En Amérique Latine et caraïbes, 210 000 personnes ont contracté le virus en 2002 ce qui élève le chiffre à 1,9 millions le nombre d'adulte et d'enfants vivant avec le VIH dans cette région.

Au Moyen-Orient et en Afrique du Nord, les données disponibles suggèrent une augmentation des taux infection à VIH et on estime que 83 000 personnes ont contracté le virus en 2002. Ce qui porte à 550 000 le nombre estimatif des personnes vivant avec le VIH/SIDA. L'épidémie a tué quelques 37 000 personnes cette même année.

Enfin, on peut dire qu'aucun pays ni aucune région n'est à l'abri de l'épidémie du VIH/SIDA. Aussi les meilleures projections actuelles indiquent que 45 millions de personnes supplémentaires pourraient être infectées par le VIH dans 126 pays à faible et moyen revenus (connaissant aujourd'hui des épidémies concentrées ou généralisées)

entre 2002 à 2010 à moins que l'on ne parvienne à mettre en place une action mondiale de prévention considérablement élargie (34).

TABLEAU I : Récapitulatif de l'épidémie de VIH/SIDA dans le monde
 Décembre 2003

Nombre de personnes vivant avec le VIH/SIDA	Total	40 millions (34 - 46 millions)
	Adulte	37 millions (31 - 43)
	Enfants<15 ans	2,5 millions (2,1 - 2,9 millions)
Nouveaux cas d'infection à VIH en 2003	Total	5 millions (4,2 - 5,8 millions)
	Adultes	4,2 millions (3,6 - 4,8 millions)
	Enfants<15 ans	700 000 (590 000 - 810 000)
Décès dus au SIDA en 2003	Total	3 millions (2,5 - 3,5)
	Adultes	2,5 millions (2,1 - 2,9 millions)
	Enfants<15 ans	500 000

TABLEAU II : Récapitulatif de l'épidémie de VIH/SIDA dans le Monde
 Décembre 2002

Nombre de personne vivant avec le VIH / SIDA	Total	42 millions
	Adultes	38,6 millions
	Femmes	19,2 millions
	Enfants < 15 ans	3,2 millions
Nouveaux cas d'infection à VIH en 2002	Total	5 millions
	Adultes	4,2 millions
	Femmes	2 millions
	Enfants < 15 ans	800 000
Décès du SIDA en 2002	Total	3,1 millions
	Adultes	2,5 millions
	Femmes	1,2 millions
	Enfants < 15 ans	610 000

TABLEAU III : Statistiques et Caractéristiques de l'épidémie de VIH/SIDA par région, fin 2003.

Région	Adultes et Enfants vivants avec le VIH/SIDA	Nouveaux cas d'infection à VIH chez les adultes et les enfants	Prévalence chez l'adulte (%)*	Décès dus au SIDA chez l'enfants et l'adultes
Afrique subsaharienne	25,0-28,2 millions	3,0- 3,4 millions	7,5 – 8,5	2,2 –2,4 millions
Afrique du Nord et Moyen-Orient	470 000 – 730 000	43 000 – 67 000	0,2 – 0,4	35 000 – 50 000
Asie du Sud et du Sud-Est	4,6 – 8,2 millions	610 000 – 1,1 millions	0,4 – 0,8	330 000 – 590 000
Asie de l'Est et Pacifique	700 000 – 1,3 millions	150 000 – 270 000	0,1 – 0,1	32 000 – 58 000
Amérique latine	1,3 –1,9 millions	120 000 – 180 000	0,5 – 0,7	49 000 – 70 000
Caraïbes	350 000 – 590 000	45 000 – 80 000	1,9 – 3,1	30 000 – 50 000
Europe orientale et Asie centrale	1,2 – 1,8 millions	180 000– 280 000	0,5 – 0,9	23 000 – 37 000
Europe occidentale	520 000 – 680 000	30 000 – 40 000	0,3 –0,3	2 600 – 3 400
Amérique du Nord	790 000- 1,2 millions	36 000 – 54 000	0,5 – 0,7	12 000 – 18 000
Australie et Nouvelle-Zélande	12 000 – 18000	700 –1 000	0,1 –0,1	<100
Total	40 millions (34-46 millions)	5 millions (4,2-5,8 millions)	1,1% (0,9-1,3%)	3 millions (2,5-3,5millions)

* Proportion d'adultes (âgés de 15 à 49 ans) vivant avec le VIH en 2003, d'après les statistiques démographiques de 2003(35).

4.2. Situation épidémiologique au Mali

Le Mali est un pays continental situé en Afrique de l'Ouest. Il partage 7200 km de frontière avec ses pays voisins. La migration vers ses pays limitrophes a des fois un effet néfaste sur la population surtout pour la Côte d'Ivoire et le Burkina Faso du sud car ils ont une prévalence élevée par rapport aux autres pays frontaliers.

En 1994, la prévalence dans la population générale était estimée à 2,4 pour les hommes et 3,4% pour les femmes (38). Les groupes à haut risque (les prostituées surtout) présentaient alors une prévalence d'environ 60%). Au 31 mars 1999, le Mali a notifié 5069 cas de SIDA chez les adultes avec 53 % d'hommes et 47 % de femmes (12).

Le VIH-1 et le VIH-2 sont identifiés au Mali. Au début de l'épidémie, c'est le VIH-2 qui était prédominant mais cette tendance s'est inversée depuis 1987.

Les études ISBS de l'année 2000 ont fourni des résultats plus ciblés et ont permis de mettre en évidence le caractère généralisé de l'épidémie du VIV/SIDA au Mali ; les groupes étudiés étaient les aides ménagères (1,7%), les routiers (3,5%), les coxeurs (5,5%), les vendeuses ambulantes (6,8%) et les prostituées (28,9%) (19)

Selon l'EDS III en 2001, la prévalence dans la population générale est de 1,7%. Le graphique ci-dessous indique les taux de prévalence du VIH par région.

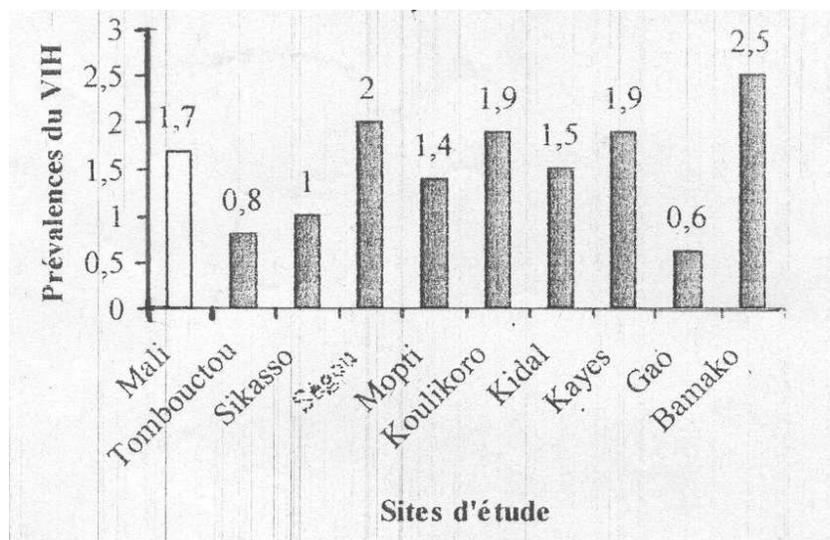


Figure 3 : prévalence du VIH par région du Mali selon EDS III 2001

4.3. Mode de transmission

Si le virus du SIDA n'épargne personne (adultes, adolescents, enfants et même les nouveau-nés), c'est parce que les voies de transmissions sont nombreuses. Le virus du SIDA a été isolé dans de nombreux liquides biologiques des personnes infectées : le sang, le sperme, les sécrétions vaginales, de la salive, des urines, des larmes et du lait maternel (20,19,39). Toutefois, la transmission nécessite une porte d'entrée, d'où l'existence de trois modes de transmission :

- La voie sexuelle.
- La voie sanguine.
- La voie materno-fœtale

4.3.1. Transmission sexuelle

La majorité des infections par le VIH à travers le monde a été acquise par voie sexuelle. La transmission peut se faire lors des rapports vaginaux, anaux, hétérosexuels ou homosexuels avec une personne infectée. Et plus, rarement lors des relations bucco-génitales ou bucco-orales. Les facteurs favorisant sont : Partenaire contaminé(e), existence des lésions génitales, à types d'ulcérations, partenaires multiples.

En Afrique Subsaharienne, la transmission hétérosexuelle est plus fréquente, tandis que la transmission homosexuelle et celle par injection de drogue dominant en Europe (28) .

4.3.2. Transmission sanguine

La transmission par voie sanguine concerne principalement trois groupes de population :

Les Toxicomanes : la diffusion de l'infection à VIH se fait par échange du matériel injectable (seringue) contaminé.

Les contaminations professionnelles : les accidents ayant entraîné une contamination sont produits principalement au cours de blessure ou piqûre avec du matériel médico-chirurgical contaminé. Plus rarement, il s'agit d'une projection d'un liquide biologique infecté sur une peau lésée. Mais le risque professionnel de présenter l'infection à VIH suite à une piqûre accidentelle avec une aiguille contaminée serait inférieur à 5% (25).

Les Transfusés et homophiles :

On estime à plus de 95% le risque de contracter cette infection lors de la transfusion d'une unité de sang infecté (24). Dans les zones à forte prévalence comme l'Afrique subsaharienne, les transfusions pourraient être responsables d'environ 5% des infections à VIH (31) .

Le dépistage obligatoire des anticorps anti-VIH pour tout don de sang a considérablement diminué le risque de contamination lors de la transfusion des produits sanguins. Il persiste toutefois un risque lors de la transfusion de produits labiles (comme les composants cellulaires) qui est lié d'une part à l'impossibilité de traiter ces produits, d'autre part, à l'éventualité que le donneur soit en phase de séroconversion.

4.3.3. Transmission verticale

La transmission verticale ou materno-foetale se fait de la mère infectée à son enfant. Elle s'effectue essentiellement pendant la grossesse (surtout vers la fin du deuxième trimestre), l'accouchement

ou pendant l'allaitement maternel (45). Le traitement anti-retro viral de la mère infectée commence à diminuer le risque de transmission du VIH à l'enfant.

5. Diagnostic de l'infection à VIH : (45)

Le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) provoque une infection chronique de l'organisme humain. Cette infection fait coexister dans l'organisme le virus à l'état libre ou intégré dans le génome des cellules infectées et la réponse immunitaire dirigée contre lui, en particulier les anticorps sériques. Le diagnostic indirect de l'infection se fonde sur la détection de ces anticorps, et reste dans la majorité des cas le plus pertinent et le plus accessible.

Le diagnostic direct se fonde sur la détection du virus par culture cellulaire, par détection antigénique ou moléculaire.

5.1. Le diagnostic direct (45)

5.1.1. La détection d'antigènes du virus

Principe :

La détection des antigènes du VIH peut être réalisée par une méthode ELISA dans le sérum, le plasma, le liquide céphalo-rachidien ou tout autre liquide biologique. Le principe général de cette technique est le suivant : les anticorps d'un sérum polyclonal anti-VIH, fixés sur le fond des puits d'une microplaque ou sur des billes de polystyrène sont mis en présence du sérum humain à tester et se lient à l'antigène viral éventuellement présent.

Après des lavages répétés, la présence de l'antigène est révélée par des anticorps anti-VIH du lapin ou de la chèvre (l'antigène est donc associé avec deux types d'anticorps anti-chèvre ou anti-lapin conjugués à une enzyme). La présence de l'antigène se traduit par l'apparition d'une coloration spécifique du produit de la réaction enzymatique, et l'intensité de la coloration permet une quantification de cet antigène. Dans la pratique, l'antigène le plus recherché est l'antigène P24.

5.1.2. L'isolement viral

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

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

Principe :

Les cellules de culture sont séparées des autres cellules sanguines par une centrifugation sur un gradient de densité, puis après lavage, mises en suspension dans un milieu de culture riche

contenant en particulier de l'interleukine 2, un facteur de croissance indispensable pour les lymphocytes, et des substances favorisant l'infection virale tels que le polybiène et le sérum anti-interféron.

La stimulation initiale des cellules se fait avec la phytohémagglutinine (PHA). Quand le nombre des cellules fournies par le sujet suspect d'infection est trop faible, il faut leur adjoindre des cellules venant d'un sujet non infecté, ce qui aboutit à une co-culture de lymphocytes. Les cultures cellulaires sont entretenues et étudiées pendant 4 à 6 semaines. La multiplication du VIH se traduit par l'apparition d'un effet cytopathique constitué de cellules géantes multinuclées résultant d'une fusion lymphocytaire, mais cet effet cytopathique est fugace et inconstant. La mise en évidence du virus repose en fait sur l'étude du surnageant de culture dans lequel on peut détecter l'antigène viral par diverses techniques dont l'ELISA, la PCR et la mise en évidence d'une enzyme spécifique des rétrovirus, la transcriptase inverse.

5.1.3. La réaction de polymérisation en chaîne (PCR)[11]

Principe :

Elle détecte l'ADN proviral intégré dans l'ADN cellulaire et synthétise de multiples copies d'une courte séquence des acides nucléiques viraux du prélèvement.

Des lymphocytes du patient sont isolés sur Ficoll; l'ADN est extrait des lymphocytes et chauffé à 90°C-95°C jusqu'à ce qu'il se divise en deux brins séparés.

Après refroidissement à 50°C-60°C, les brins d'ADN sont mélangés avec les amorces (ce sont des séquences d'ADN qui lancent la synthèse des brins complémentaires), des nucléotides (précurseurs de

désoxynucleotides) et la taq polymérase (ADN polymérase thermostable purifiée de la bactérie *thermophilus aquaticus* : Taq) et chauffés à 72°C. Il y a synthèse de brins complémentaires.

Le processus d'amplification est analysé par électrophorèse sur gel et la séquence amplifiée apparaît sous la forme d'une bande après coloration au bromure d'éthidium ou après hybridation avec une sonde radio marquée correspondant à cette séquence.

5.2. Le diagnostic indirect : (45)

5.2.1. Immunofluorescence indirecte

Principe :

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

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

5.2.2. Technique Immunoenzymatique : (45)

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

1* Technique de L'ELISA indirect [12]

Principe :

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

2* Technique de l'ELISA par compétitions [14]

Principe :

Les anticorps anti-VIH de l'échantillon à tester entrent en compétition avec les anticorps du conjugué (sérum anti-VIH marqué par une enzyme), vis-à-vis des antigènes viraux fixés sur le support

solide. Plus la concentration d'anticorps dans l'échantillon est élevée, moins l'antigène conjugué se fixera. Le substrat chromogène donnera une réaction colorée qui sera donc inversement proportionnelle à la concentration en anticorps. Les témoins permettent de calculer une valeur seuil. Les sérums dont la densité optique est inférieure à cette valeur sont considérés comme positifs.

3* Technique de L'ELISA par sandwich [14]

Principe :

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

4* Technique de l'ELISA par Immunocapture [12]

Principe :

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

5.2.3. Tests Rapides

5.2.3.1 Technique d'agglutination [6]

Principe :

Cette technique utilise des billes de polystyrène ou des hématies humaines qui servent de support aux protéines virales du VIH ; ces dernières, mises en présence d'anticorps anti-VIH, forment un réseau d'agglutination visible à l'œil nu. Elle peut s'effectuer sur lame (test au latex) ou sur plaque de micro agglutination (hémagglutination passive avec lecture du culot de sédimentation des hématies).

5.2.3.2. Technique d'immunofiltration ou DO BLOT (6)

Principe :

Elle utilise une membrane en papier ou de la nitrocellulose comme support solide. L'antigène est fixé sur un support solide et prend la forme d'un petit cercle ; il s'agit le plus souvent d'un peptide synthétique ou recombinant. Une pièce en plastique soutient en général le support solide et contient des tampons hydrophiles sous le papier pour recueillir le sérum et les réactifs après addition. Il existe deux types d' "immunodot" en phase solide :

- **l'immunodot sur carte** : Les cartes plastifiées ont la forme d'un peigne dont les dents sont sensibilisées par des antigènes peptidiques de synthèse du VIH-1et VIH-2 au niveau de deux tâches séparées. Le principe du test consiste à introduire la carte successivement dans les échantillons de sérum (disposés dans les puits d'une plaque contenant tous les réactifs nécessaires déposés dans différents compartiments de la plaque) dans une solution de lavage, dans le conjugué marqué par

une enzyme, une nouvelle fois dans une solution de lavage et enfin dans le substrat chromogène. Il se forme une réaction colorée caractéristique d'un résultat positif.

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

5.2.4. Technique de la radio immuno précipitation (RIPA) [14]

Principe :

Elle utilise un virus marqué par un isotope radioactif (en général la cystéine 35) ; le lysat viral contenant les antigènes est incubé avec les sérums à tester. Les complexes immuns formés sont alors captés sur un support d'affinité telles que des billes de protéines A-Sépharose. Les antigènes viraux retenus par les anticorps spécifiques sont ensuite élus et séparés en fonction de leur poids moléculaire sur gel de polyacrylamide. La révélation est effectuée par autoradiographie. Cette technique met en évidence préférentiellement des anticorps dirigés contre les protéines d'enveloppe.

5.2.5. Le western- Blot

Principe :

Dans un premier temps, les protéines virales sont séparées selon leur masse moléculaire par une électrophorèse sur gel de polyacrylamide et en milieu dissociant, puis transférées sur membrane de nitrocellulose, cette dernière est ensuite découpée en bandes longues et étroites.

Dans un second temps, les sérums à tester sont mis à incuber en présence des bandelettes de nitrocellulose ; les anticorps présents se fixent en fonction de leur spécificité sur les protéines virales préalablement séparées, on révèle leur présence par addition d'une anti-globuline humaine marquée par une enzyme, puis d'un substrat chromogène.

5.2.6. L'Immuno analyse en ligne (6)

Inno-lia : cette technique utilise des bandes de nylon fixées sur un support plastique ainsi que des protéines recombinantes et des peptides de synthèse déposés selon cinq lignes discontinues. Pour le VIH-1, on utilise quatre antigènes : p17 et p24 du gène GAG, gp41 du gène *ENV* et p32 du gène *POL*.

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

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

Pepti-lav : ce test utilise une membrane fixée sur un support plastique et comporte une ligne avec un sérum témoin et deux bandes

sensibilisées avec des peptides de synthèse spécifiques qui représentent les épitopes immunogènes gp41 du VIH-1 et gp36 du VIH-2. Le conjugué utilisé est une immunoglobuline de chèvre anti-IgG humaine purifiée, marquée à la peroxydase de Raifort.

5.3. Stratégie de dépistage du VIH (36)

5.3.1. Recommandation concernant le choix et l'utilisation des tests de mise en évidence des Anticorps anti-VIH.

Actuellement, il existe plusieurs types de tests de laboratoire pour la mise en évidence des anticorps anti- VIH dans le sérum humain. Le choix du ou des tests à utiliser, c'est-à-dire de la stratégie de dépistage la plus appropriée, repose sur trois (3) critères :

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

5.3.1.1. Objectifs du test anti- VIH :

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

- Sécurité des transfusions et des dons d'organes : dépistage sur le sang et les produits sanguins de même que sur le sérum des donneurs de tissus d'organe, de sperme et d'ovules.

- Surveillance : dépistage anonyme et banalisé sur le sérum dans un but de surveillance de la prévalence et des tendances de l'infection à VIH au cours du temps dans une population donnée.
- Diagnostic de l'infection : dépistage volontaire sur le sérum de personnes asymptomatiques ou de porteurs de signes cliniques symptomatiques.
- Dépistage volontaire sur le sérum des personnes recrutées dans les études épidémiologiques, cliniques virologiques ou autre relatives au VIH.

5.3.1.2. Sensibilité et spécificité des tests anti-VIH

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

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

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

Un test qui a une spécificité élevée donne peu de résultats faussement positifs.

5.3.1.3. Prévalence de l'infection à VIH

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

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

5.3.2. Recommandation de l'OMS concernant les stratégies de dépistage du VIH en fonction de l'objectif visé, et de la prévalence de l'infection dans la population (32)

TABLEAU IV : Recommandation de l'OMS en 1992 concernant la stratégie de dépistage du VIH en fonction de l'objectif visé et de la prévalence de l'infection dans la population.

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

5.3.3. Description des stratégies de dépistage du VIH utilisé par l'OMS (Stratégie I Stratégie II Stratégie III) [10]

5.3.3.1. Stratégie I :

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

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

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

5.3.3.2. Stratégie II :

Elle utilise deux tests de dépistage (ELISA ou tests rapides) utilisant des préparations antigéniques devant reposer sur des principes différents.

Elle est adaptée au diagnostic de l'infection à VIH chez les individus ayant des signes cliniques ou encore dans le cadre des études de surveillance épidémiologique en zone de faible endémicité (prévalence $\leq 10\%$), puisque la pratique d'un second test diminue le risque de taux positif. L'OMS recommande également cette stratégie pour le diagnostic individuel en zone de forte endémicité.

5.3.3.3. Stratégie III :

Elle utilise potentiellement trois tests de dépistage (ELISA ou tests rapides) utilisant des préparations antigéniques reposant sur des principes différents.

L'OMS ne recommande cette stratégie que pour le diagnostic individuel de l'infection à VIH en zone de faible endémicité (prévalence $\leq 10\%$).

1. Cadre d'étude

L'Institut Nationale de Recherche en Santé Publique : INRSP considéré comme laboratoire de référence dans le domaine de dépistage du VIH est doté d'un service de séro-immunologie où s'effectuent tous les tests de dépistage, d'évaluation et de recherche concernant le VIH/SIDA.

C'est dans ce cadre que l'INRPS en collaboration avec le CESAC, CDC et PSI a initié cette étude pour une meilleure utilisation des DBS et un contrôle de qualité externe de l'algorithme en vigueur dans les CCDV de Population Service international (PSI) déjà évalué au sein de cet institut.

2. Type et période d'étude

Notre étude s'étend sur une période de 12 mois, de décembre 2002 en décembre 2003. Il s'agit d'une étude analytique comparative et transversale.

3. Population d'étude et échantillonnage

Notre population d'étude était composée des patients du CESAC qui ont accepté les prélèvements en double et les dix pour cent des dépistages volontaires qui ont été effectués au niveau des CCDV de PSI. Nous avons donc travaillé sur deux types d'échantillons en deux phases différentes :

- Pendant la première phase, l'échantillonnage était constitué de 516 patients du CESAC. Ces patients, après consentement ont été prélevés en double, seul critère d'adhésion.

- Pendant la deuxième phase, il comportait 303 patients dont le sang était prélevé sur papier filtre provenant des CCDV dont 297 pour CCDV Bamako et 6 pour celui de Kayes. Ces patients prélevés représentaient le 1/10 des clients qui ont subi le dépistage volontaire dans ces centres.

4. Méthode d'étude :

Les tests utilisés pour notre étude étaient au nombre de 8 : Immuno Comb II HIV ½ Bis pot, le Génie II HIV1/2, le Determine HIV ½ l'OraQuick HIV1/2 , HemaStrip HIV1/2 et GenScreen HIV ½ V2 ,Vironostika HIV Uni- form II plus 0, Murex HIV-1.2.0. Tous ces tests ont été utilisés (dans le cadre de l'étude). Nous avons travaillé en deux phases : La première phase comportait le dépistage du VIH à partir de confettis de sang total sur papier filtre et sur le sérum des patients du CESAC, et la deuxième phase comportait l'étude sur le contrôle de qualité externe du sang des CCDV acheminé sur papier buvard.

Les tests ont été utilisés selon les algorithmes I, II et III.

4-1 Présentation des tests

4-1-1 Immuno comb HIV1/2 Bis pot (PBS Orgenics France)

Principe du test :

La trousse immuno Comb II HIV 1/2 Bis pot est un test immuno enzymatique indirect en phase solide (E.I.A). La phase solide est un peigne à 12 dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface en trois points ou spots de réaction :

Spot supérieur : Anticorps de chèvre anti-immunoglobine humaine (contrôle interne).

Spot médian : Peptides synthétiques VIH-2 (dérivés de la glycoprotéine d'enveloppe gp 36 de VIH 2).

Spot inférieur : peptides synthétiques VIH-1 (Dérivés de glycoprotéine d'enveloppe gp 41 et gp 120 de VIH 1)

Tous les réactifs nécessaires à la réalisation du test sont prêts à l'emploi et prédistribués dans le bac de développement.

Le bac de développement est divisé en 6 compartiments (A-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 les puits du compartiment A ; les anticorps anti-VIH éventuellement présents dans les échantillons testés se lient de façon spécifique aux peptides synthétiques VIH immobilisés à la surface des dents du peigne.

Parallèlement, les immunoglobulines humaines contenues dans les échantillons sont capturées du niveau du spot supérieur par les anti-corps anti-Immunoglobulines humaines (contrôle interne). Tout anti-corps non fixé de façon spécifique lors de cette première étape est éliminé au cours d'une étape de lavage dans le comportement B. Dans le comportement C, les IgG humaines de classe Immunoglobulines fixées sur les dents du peigne sont reconnues par des anticorps de chèvre anti- IgG humaines conjugués à la phosphatase alcaline (PA). Après deux nouvelles étapes de lavage dans les comportements D et E, la PA réagit dans le comportement

F avec un composé chromogénique. Cette dernière réaction entraîne la visualisation des résultats sous forme de spot gris-bleu à la surface des dents du peigne.

La trousse comprend un contrôle positif (anti-corps anti-VIH 1 et anti-VIH 2) et un contrôle négatif, qui doivent être inclus dans chaque série. Une fois le test réalisé, trois spots gris bleu doivent être visibles sur la dent de contrôle positif. Sur la dent du contrôle négatif, seul le spot supérieur de contrôle interne doit être visible.

Enfin, le spot supérieur de contrôle interne doit être visible sur chaque dent correspondant à un échantillon testé, confirmant ainsi un dépôt correct de l'échantillon, le bon fonctionnement des réactifs, ainsi qu'une manipulation correcte.

Manipulation des échantillons

Sérums ou plasmas peuvent être testés différemment.

Les échantillons peuvent être conservés 7 jours entre 2 à 8° C avant d'être testés.

Au-delà, conserver les échantillons à -20° C ou plus, centrifuger les échantillons de sérum après décongélation. Éviter les congélations et décongélation répétées.

Limites : La trousse immuno CombII HIV 1 et 2 est un test de dépistage. Les résultats indiquant une réactivité pour les anticorps anti- VIH-1/ VIH-2 ne doivent pas être considérés comme un, diagnostic du SIDA ou une infection par le VIH. En outre, la production des anticorps anti- VIH étant décelée par rapport à l'exposition initiale au virus, l'absence de réactivité avec cette trousse ne doit pas être considérée comme une preuve que le patient n'a pas été exposé ou infecté par le VIH.

Remarque :

- Tout résultat indiquant la présence d'anticorps anti-VIH2 ou VIH1 doit être obligatoirement confirmé à l'aide d'un test de confirmation.
- Toute trace sur le peigne doit être considérée comme une réaction positive et doit faire l'objet d'investigations complémentaires.

4-1-2 Génie II HIV-1/HIV-2 (Bio rad, France)**Principe du test**

Le test Génie II est un test immunoenzymatique de double reconnaissance, basé sur la détection spécifique des anticorps anti-VIH -1 et VIH-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 puits 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 des antigènes dérivés du VIH-1 et du VIH-2 et un troisième spot de contrôle interne permettant le suivi du bon déroulement du test.

Le test débute par le dépôt dans le puits-échantillon A, de l'échantillon dilué. Les anticorps anti-VIH contenus dans l'échantillon se fixent spécifiquement aux antigènes VIH et le long de la membrane chromatographique. Au niveau du puits de réaction B, les complexes antigènes-anticorps se lient aux antigènes V I H et migrent immobilisés au cours d'une étape de double reconnaissance. Le complexe résultant réagit avec un conjugué streptavidine-phosphatase alcaline. L'addition d'un substrat chromo génique 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 à 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.

Interprétation des résultats :

Validation : Examiner la membrane au niveau du puits de réaction B. Pour confirmer le bon fonctionnement des tests 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 repris.

Résultats :

Positif VIH-1 : Apparition du spot VIH-1 à gauche avec le post contrôle interne.

Positif VIH-2 : Apparition du post VIH-2 du milieu avec le post de contrôle interne.

Positif VIH-1 et 2 : Apparition des trois spots.

Négatif : Apparition du seul spot de contrôle interne.

NB : Toute trace de spot coloré doit être suspectée et représente un résultat positif et doit faire l'objet d'investigation supplémentaire.

Limites du test :

La trousse Génie II est un test de dépistage.

La production d'anticorps anti-VIH pouvant être retardée à la suite de l'exposition initiale au virus, les tests de dépistage peuvent ne pas détecter les anticorps dans la phase précoce de l'infection.

Aussi un test négatif ne permet pas d'exclure la possibilité d'une infection. La présence d'anticorps anti-VIH1/2 doit être confirmée par un test de confirmation. Conformément à la législation française, ce test doit être utilisé en association avec un test ELISA mixte pour le dépistage des anticorps anti- VIH.

4.2.3. Determine HIV-1/2 (ABBOTT, DIVISION DIAGNOSTIC, France)

Principe de la méthode :

Abbot Determine est un test immuno chromatographique pour la détection qualitative des anticorps anti-VIH-1/2.

L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon. Comme 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-VIH1/2 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.

Si les anticorps anti-VIH1/2 sont absents, le conjugué antigène – colloïde de sélénium traverse la fenêtre patient sans donner de ligne rouge.

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

Interprétation des résultats

Validation : contrôle de qualité

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

Résultats :

Positif : deux barres

Les barres rouges apparaissent dans la fenêtre–contrôle et la fenêtre–patient (Contrôl et 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 (annotée « control ») la barre rouge de la fenêtre–patient (annotée patient) n'apparaissant pas sur la bandelette. Non valide pas de barre de control. 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 bandelettes le résultat n'est pas valide et le test doit être recommencé si le problème persiste, contacter « service clients Abbot»

Remarque

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

Limites de la méthode :

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

Un résultat négatif par Determine VIH-1/2 n'exclut pas la possibilité d'une infection par le VIH. Un résultat faussement négatif peut être obtenu dans les circonstances suivantes :

- Faibles taux d'anticorps (par exemple en début de séroconversion) au-dessous de la limite de détection du test.
- Infection par un variant du virus moins facilement détectable par la configuration des tests Determine VIH-1/2.
- Patient présentant des anticorps anti- VIH qui ne réagissent pas avec les antigènes spécifiques utilisés dans la configuration du test.
- Condition de traitement de l'échantillon provoquant une perte de polyvalence de l'anticorps anti-VIH.

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

Des résultats positifs devront être ré-analysés en utilisant une autre méthode et les résultats devront être évalués à la lumière clinique globale avant d'établir un diagnostic.

Des échantillons de sang total ou de plasma contenant des anticoagulants autres que l'EDTA peuvent donner des résultats incorrects.

4.1.4. OraQuick HIV 1/2 (ORASURE TECHNOLOGIES, Inc, USA)

Test non approuvé par US Food and Drug Administration, employé exclusivement hors des USA.

Principe du test :

L'OraQuick est un test immuno chromatographique à lecture visuelle pour la détection des anticorps dirigés contre le VIH-1 et le VIH-2.

La plaque poreuse qui est en contact avec la gomme est traitée en surface par un surfactant et aucun matériel d'origine virale n'est utilisé pour la confection du test. Personne ne sera infectée par le VIH par simple manipulation des constituants de ce test. Le support du test est placé dans la bouche du sujet.

Imbiber à travers la gencive au niveau de la ligne extérieure. Le support du test est alors plongé dans un tube contenant une quantité présumée de liquide de migration.

Le liquide de la surface de la gencive pénètre le support du test à travers la plaque poreuse et migre alors jusqu'à la fenêtre de lecture. Pendant la migration, le liquide hydrate et se mélange avec un réactif coloré au rouge.

Les anticorps de type IgG de l'échantillon se lient au réactif. Si l'anticorps IgG reconnaît les antigènes synthétiques HIV1/2 immobilisés au niveau de la fenêtre de lecture, une ligne colorée apparaît à ce niveau. Dans le cas de non-reconnaissance, aucune ligne ne se forme à ce niveau. Dans la partie supérieure de la fenêtre de lecture, le réactif coloré rencontre un élément biochimique immobilisé à ce niveau et qui reconnaît

les anticorps humains. La ligne colorée qui se forme dans cette partie C (contrôle) démontre la validité du test, la présence d'IgG dans le liquide oral, le bon fonctionnement et une migration appropriée du liquide oral. Dans le cas du sang total, du sérum ou du plasmas, on utilise un anneau (ou une micro pipette de 5µl) dont il faut mélanger le contenu au liquide de migration avant d'y plonger le support du test.

Interprétation des résultats :

Positif : dans la fenêtre de lecture, l'apparition de deux traits colorés indique pour le test, la présence d'anticorps anti-VIH-1 et ou anti-VIH-2.

Négatif : l'apparition d'un trait coloré au niveau de l'indice « C » de la fenêtre indique un échantillon non négatif à l'OraQuick.

Invalide : l'absence totale de trait coloré ou du trait de contrôle « C » fournit les résultats invalides.

Limites de la méthode :

- Pour obtenir un résultat satisfaisant, suivre scrupuleusement les instructions données par le fabricant.
- Éviter les cycles répétitifs de congélation/décongélation.
- Aucun autre liquide du corps, autre que ceux indiqués ne sera utilisé pour faire le tests OraQuick et aucune autre méthode de collecte des échantillons ne sera valable.
- La performance de l'OraQuick n'a pas été démontrée chez les moins de 13 ans.

- Le test ne doit pas être utilisé comme base dans le diagnostic du SIDA ou de l'infection par le VIH. Tout résultat positif doit être confirmé par un autre test.
- L'intensité de la coloration n'est pas nécessairement corrélée au titre d'anticorps présents dans l'échantillon considéré.
- Un résultat négatif par l'OraQuick n'exclut pas la possibilité d'une infection par le VIH.
- Si le colorant dure sans disparaître de la fenêtre de lecture, attendre l'écoulement des 40 minutes sans dépasser ce temps limite.

4.1.5. HemaStrip HIV 1/2 (SALIVA DIAGNOSTIC SYSTEMS, Inc, USA)

Principe du test:

Le test HemaStrip utilise une combinaison unique d'un anticorps spécifique protéine liant qui est conjugué à des particules colloïdales adsorbées sur des antigènes qui sont liés à la phase solide de la membrane.

L'échantillon est prélevé dans le bout effilé du support de test. Le bout effilé est ensuite inséré dans un « buffer » fourni dans un tube fermé.

Le « buffer » facilite la migration latérale des produits permettant la liaison des anticorps aux antigènes. Le liquide de migration en montant le long du tube va constituer le conjugué. S'ils sont présents, les anticorps se lient à l'anticorps conjugué protéine liant. Dans un échantillon positif, le complexe conjugué immun migre sur la membrane de nitrocellulose et est capté par les antigènes immobilisés sur l'aire de test produisant une ligne orange à rouge. Dans le cas où les anticorps anti-VIH sont absents, il n'y a pas de ligne colorée sur l'aire du test.

L'échantillon continue à migrer le long de la membrane pour produire une ligne orange à rouge sur l'aire du contrôle démontrant que les réactifs ont bien fonctionné.

Si la ligne de contrôle n'apparaît pas, le test n'est pas valide.

Interprétation des résultats

Le test n'est valide que lorsqu'une ligne colorée apparaît dans la partie supérieure de la fenêtre des résultats.

Après la validation du test

- L'absence d'une deuxième ligne colorée indique l'absence d'anticorps détectable par le test HemaStrip
- Une deuxième ligne colorée en dessous de la première indique une réaction positive, d'où les investigations qui en résultent.
- Les réactions positives peuvent être lues bien avant les 15 minutes. Mais dans les cas de réactions négatives, attendre patiemment la fin du temps imparti.

Limites :

Le test ne doit être utilisé qu'avec le sang total capillaire ou veineux. Le sang veineux doit être prélevé sur anticoagulant (héparine ou EDTA). N'enlever le tube de la pochette que lorsqu'il est prêt à l'emploi.

Lorsque la pochette est gardée à des températures inférieures à 20°C, laisser la prendre la température ambiante. N'utiliser pas de kit au-delà de la date de péremption.

Pour obtenir des résultats probants, suivre scrupuleusement les instructions du fabricant. S'assurer que le doigt est complètement sec avant le prélèvement du bout du doigt. Lire les résultats à une lumière suffisante.

D'autres liquides du corps ne seront pas utilisés pour le test.

Pour les cas positifs, confirmer par EIA, Western Blot ou IFA selon les recommandations de CDC. Aucun test ne sera utilisé seul pour confirmation d'une infection par VIH même si les anticorps sont présents. Aussi un résultat négatif n'exclut en aucun cas une possibilité d'infection.

4.1.6. GenScreen VIH 1/2 Version 2

Principe :

GenScreen VIH 1/2 Version 2 est une technique immunoenzymatique basée sur le Principe sandwich en deux étapes pour la détection des différents anticorps associés aux virus VIH1 et/ou VIH2 dans le sérum ou plasma humain. GenScreen HIV1/2 V2 repose sur utilisation d'une phase solide préparée avec des antigènes purifiés protéines recombinantes gp 160 et p 25 du virus VIH1 et peptide minant l'épitope immunodominant de la glycoprotéine d'enveloppe du virus VIH2 et d'un conjugué préparé avec antigènes marqués à la peroxydase (protéine recombinante nucleocapsidique et Peptide minant les épitopes immunodominants des glycoprotéines d'enveloppe du virus et un conjugué préparé avec des antigènes marqués à la peroxydase (protéine recombinante nucleocapsidique et peptide minant les épitopes immunodominants des protéines d'enveloppe des virus VIH1 et VIH2)

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

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

Le dépôt d'échantillon est validé par un changement de couleur, du violet au bleu (SDP : Sample deposition Proof)

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

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

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

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

Calcul et interprétation des résultats

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

1- Calcul de la moyenne de absorbance

Soit DOR4 la moyenne DO (B1), DO (C1) et DO (D1) pour le contrôle de sérum seuil.

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

3

2- Calcul de la valeur seuil : VS

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

10

3- Validation de l'essai

- Le sérum de contrôle négatif doit être inférieur à 70% de la valeur seuil : **DO R3 < 0,7 VS**
- La moyenne des sérums de contrôle seuil doit être supérieure à 0,80 : **DO R4 >0,8**
- Remarque : le rapport DOR5/DOR4 doit être supérieur ou égal à 1,3 (cette norme optionnelle est applicable seulement quand la linéarité du lecteur est supérieure à 3,000

Interprétation des résultats

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

- Si après répétition de l'essai, pour un échantillon, l'absorbance des 2 doublets est inférieure à la valeur seuil, le résultat initial est non reproductible et l'échantillon est déclaré négatif selon le test.
- Si après répétition de l'essai, l'absorbance mesurée sur l'un des deux doublets est égale ou supérieure à la valeur seuil, le résultat initial est reproductible et l'échantillon est déclaré positif selon le test.
- Toutefois, les résultats situés juste au dessous de la valeur seuil ($VS-10\% < DO < VS$) doivent être interprétés avec prudence et il est conseillé de tester de nouveau l'échantillon correspondant en double lorsque les systèmes utilisés et les procédures du laboratoire le permettent.

Limites du test

De très faibles taux d'anticorps peuvent ne pas être détectés lors d'infection récente, en conséquence un résultat négatif signifie que l'échantillon contrôle ne contient pas d'anticorps détectables par le test Genscreen HIV1/2 version 2. Un tel résultat négatif n'exclut pas la possibilité d'une infection VIH1/VIH2

La variabilité des virus VIH-1 (groupe M, groupe O) et VIH-2 ne permet pas d'exclure la possibilité de réactions faussement négatives. Aucune méthode connue ne peut offrir l'assurance que le virus est absent. Toute technique ELISA hautement sensible peut produire des réactions faussement positives. Afin de vérifier la spécificité de la réaction, tout échantillon trouvé positif reproductible (selon les critères d'interprétation du test doit être soumis à un test de confirmation (Western blot).

Le chauffage des échantillons peut affecter la qualité des résultats, la méthode Colorimétrique de vérification du dépôt des échantillons et/ou du conjugué ne permet pas de vérifier l'exactitude des volumes distribués mais seulement de montrer la présence d'échantillon et/ou de conjugué. Le taux de réponses erronées obtenues avec cette méthode est lié à la précision du système utilisé (des CV cumulés de pipetage et de lecture supérieurs à 10% peuvent dégrader significativement la qualité de cette vérification).

4.1.7. Vironostika HIV Uni-form II plus O.

Principe du test :

Vironostika HIV Uni-form II plus O est test immuno-enzymatique (ELISA) basé sur le principe du « sandwich » en une étape. Des antigènes

du VIH liés à la peroxydase de Raifort (HRP) servent de conjugué, le tétraméthylbenzidine (TBM) et le peroxyde sont utilisés comme substrat. La présence d'anticorps dirigés contre les VIH-1, VIH-2 et VIH-1 groupe 0 se traduit par une coloration, l'absence d'anticorps dirigés contre les VIH-1, VIH2 et VIH-1 groupe 0 se traduit par une coloration faible ou par une absence de coloration.

Les cupules des microplaques ELISA ont été recouvertes de plusieurs antigènes VIH : VIH-1 p24, VIH gp160, peptide VIH-1 ANT703 et peptide VIH-2 ENV (acides aminés 592-603).

Chaque cupule microelisa contient une sphère du même mélange antigénique conjugué à l'HRP. Le diluant pour échantillon est tout d'abord additionné aux cupules afin de dissoudre la sphère. Ensuite, l'échantillon à tester ou le contrôle approprié contenant l'anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 ou VIH-1 groupe 0, est incubé dans les cupules.

Il se produit un complexe antigène en phase solide/anticorps dirigés contre les VIH-1, VIH-2 ou VIH-1 groupe 0/antigène marqué à l'enzyme. Après lavage et incubation avec le substrat TBM, une coloration se développe qui vire au jaune au moment de l'arrêt de la réaction par l'acide sulfurique. Si l'échantillon contient de l'anti-VIH-1, anti-VIH-2 et/ou anti-VIH-1 groupe 0, il se développe une coloration intense.

Toutefois, si l'échantillon ne contient pas d'anticorps anti-VIH, il ne se développera qu'une coloration faible ou aucune coloration.

Interprétation des résultats :

- Un résultat négatif signifie que l'échantillon testé ne contient pas d'anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 ni anti-VIH- groupe 0 ou en dessous du seuil de détection du Vironostika HIVuni-form II plus.
- Un résultat positif signifie que l'échantillon testé contient des anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et/ou anti-VIH-1 groupe 0 ou un facteur non spécifique.

- Les échantillons positifs doivent être testés à nouveau. Si le test est à nouveau positif, l'échantillon est présumé porteur d'anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et ou anti-VIH-1 groupe 0.

Tout échantillon positif reproductible doit être soumis à un test de confirmation. Le Vironostika HIV Uni-form II plus 0 ayant une sensibilité élevée, lors de l'analyse des échantillons de séroconversion précoce d'inclure un test de recherche, il est recommandé de l'antigène VIH lors des tests de confirmation.

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

*Contamination par un échantillon fortement positif à travers du matériel ou des embouts de pipette.

*contamination croisée par gouttes de vapeurs ou du réactif.

*Contamination du substrat par des ions métalliques.

*Lavage ou aspiration incorrect au cours du procédé de lavage.

*Erreur de lecture due au liquide résiduel au fond de la cupule ou à des bulles d'air dans la cupule.

Limite du test :

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

4.1.8. Murex HIV-1.2.0 :

Principe du test :

Le Murex HIV-1, 2, 0 est un test sur support micro plaque dont les cupules sont recouvertes d'un peptide synthétique représentatif d'une

région immunodominante du VIH-1 (groupe 0), d'une protéine recombinante dérivée des protéines d'enveloppe du VIH-1 et du VIH-2 et d'une protéine du core du VIH. Le conjugué est un mélange des mêmes épitopes tous marqués à la peroxydase.

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

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

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

Les cupules ayant fixé le conjugué développent alors une couleur violette qui vire à l'orange lorsque la réaction est stoppée par l'acide sulfurique.

Après incubation, les réactions enzymatiques sont stoppées par de l'acide sulfurique et la couleur est lue par spectrophotométrie à 450 nm.

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

Interprétation des résultats :

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

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

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

Résultats négatifs

Les échantillons fournissant une DO inférieure à la vs sont considérés comme négatifs.

Résultats positifs

Les échantillons fournissant une DO supérieure à la vs sont considérés comme initialement réactifs dans le test. De tels échantillons doivent être réanalysés en double en utilisant l'échantillon original. Les échantillons réactifs de manière reproductible par le test Murex HIV1, 2, 0 et présumés contenir des anticorps anti-VIH1 et anti-VIH2. De tels échantillons doivent faire l'objet d'analyse supplémentaire et la présence d'anticorps anti-VIH doit être confirmée par d'autres tests. Par contre, les échantillons non réactifs de manière reproductible sont considérés comme négatifs pour les anticorps anti-VIH.

Remarque :

- Les valeurs de DO significativement supérieures au contrôle négatif peuvent être obtenues avec les cupules ayant reçu tous les réactifs mais, ayant été sautés par l'étape d'addition des échantillons.
- En accord avec les recommandations de l'institut Paul Ehrlich (laugen, RFA) et de l'AFSSAPS (Saint-Denis, France), une zone grise de 10% doit être appliquée. Les nouveaux critères d'interprétation sont les suivants : (soit DO_E la moyenne des DO négatifs).

- $DO < 0,18 + DO_E \Rightarrow$ négatif
- $0,18 + DO_E \leq DO \leq 0,22 + DO_E \Rightarrow$ douteux
- $DO > 0,22 + DO_E \Rightarrow$ positif

Les échantillons douteux devront être centrifugés et reanalysés en double. Si la réanalyse présente des résultats discordants ou douteux répétables, l'échantillon doit faire l'objet d'analyses complémentaires et d'un suivi en prélevant d'autres échantillons sur les mêmes donneurs.

Limite du test :

Le test Murex HIV-1/2 et 0 doit être effectué uniquement sur des échantillons de sérum ou de plasma individuel. Le test n'a pas été validé pour une autre utilisation.

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

Un test positif par Murex HIV1, 2 et 0 doit être confirmé par au moins un autre test. Des résultats réactifs non reproductibles peuvent être obtenus avec toute procédure EIA.

Mode opératoire général :

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

Précautions à prendre lors de la sérologie HIV(36)

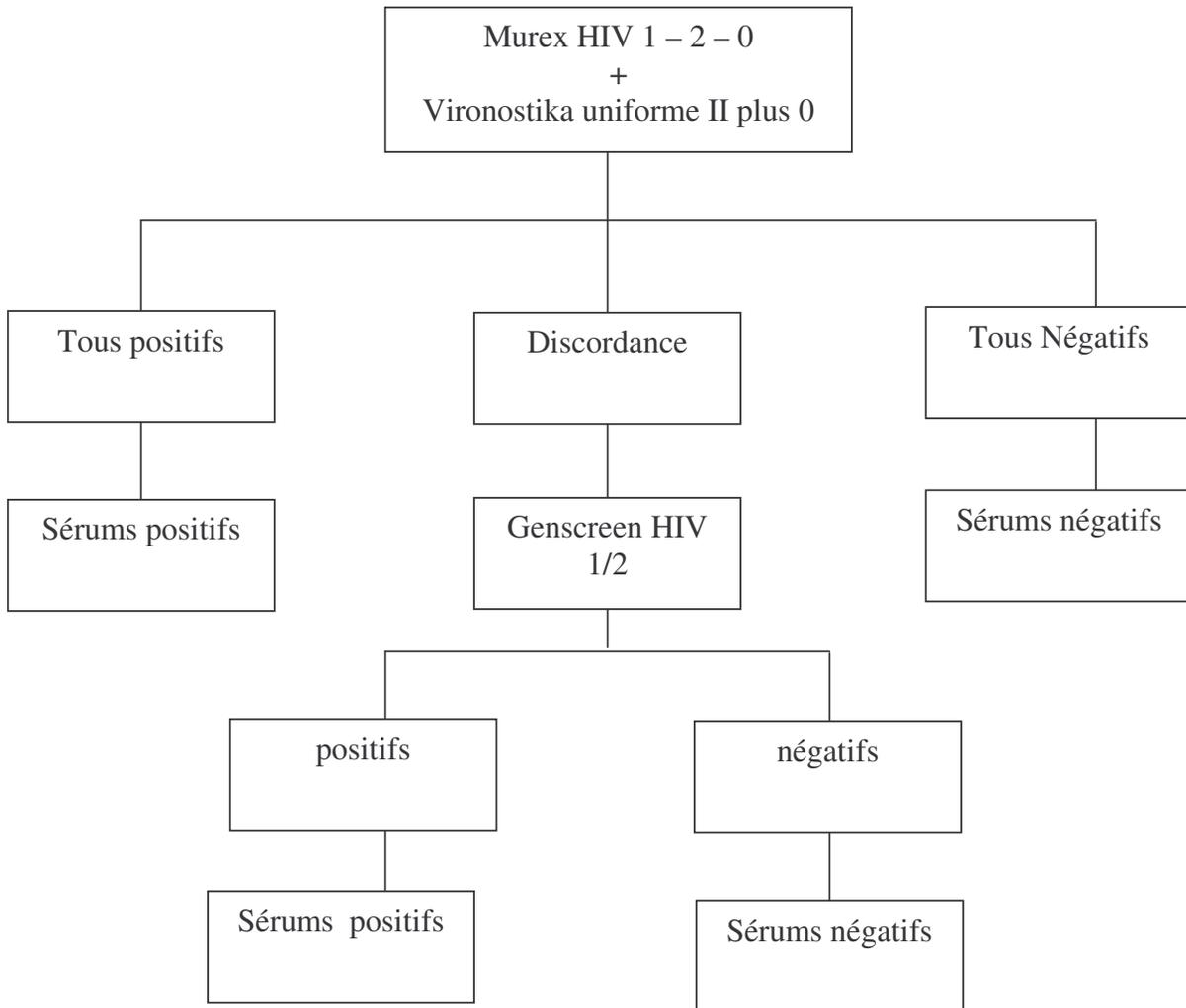
- Ne pas utiliser de réactif après date d'expiration.
- Ne pas pipeter à la bouche.

- Ne pas fumer, manger ou boire dans les zones où sont manipulés les échantillons à tester.
- Porter des gants à usage unique pour manipuler les échantillons et se laver soigneusement les mains après le travail
- Considérer que tous les échantillons et le matériel utilisé pour la réaction sont ponctuellement infectants. Pour leur stérilisation et leur destruction, les meilleures méthodes sont l'autoclavage à 121°C pendant 60mn et incinération. Ne pas mettre de solution contenant de l'eau de javel dans l'autoclave.
- Manipuler le sérum témoin de positivité comme s'il était capable de transmettre une infection même s'il a été chauffé à 56°C pendant 30mn.
- Pour chaque échantillon à tester, utiliser pipette à usage unique différente ou un embout différent.
- Les taches d'éclaboussures d'échantillons ou de réactifs sur la surface de travail doivent être soigneusement traités, avant essuyage, à l'aide d'hypochlorite de sodium (5%), d'alcool à 70% ou d'un désinfectant à base d'iode.
- Les solutions d'arrêt contenant l'hydroxyde de sodium sont à des concentrations telles qu'elles peuvent être considérées comme potentiellement irritantes pour les yeux et la peau. En cas de contact, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau.
- Ne pas utiliser les produits après la date de péremption inscrite sur l'étiquette.
- Ne pas mélanger les réactifs de lots différents.
- Ramener les réactifs et les échantillons à tester à la température ambiante et remettre les réactifs entre 2-8°C après utilisation.
- Veiller à ce que les réactifs et les échantillons soient homogènes avant utilisation.

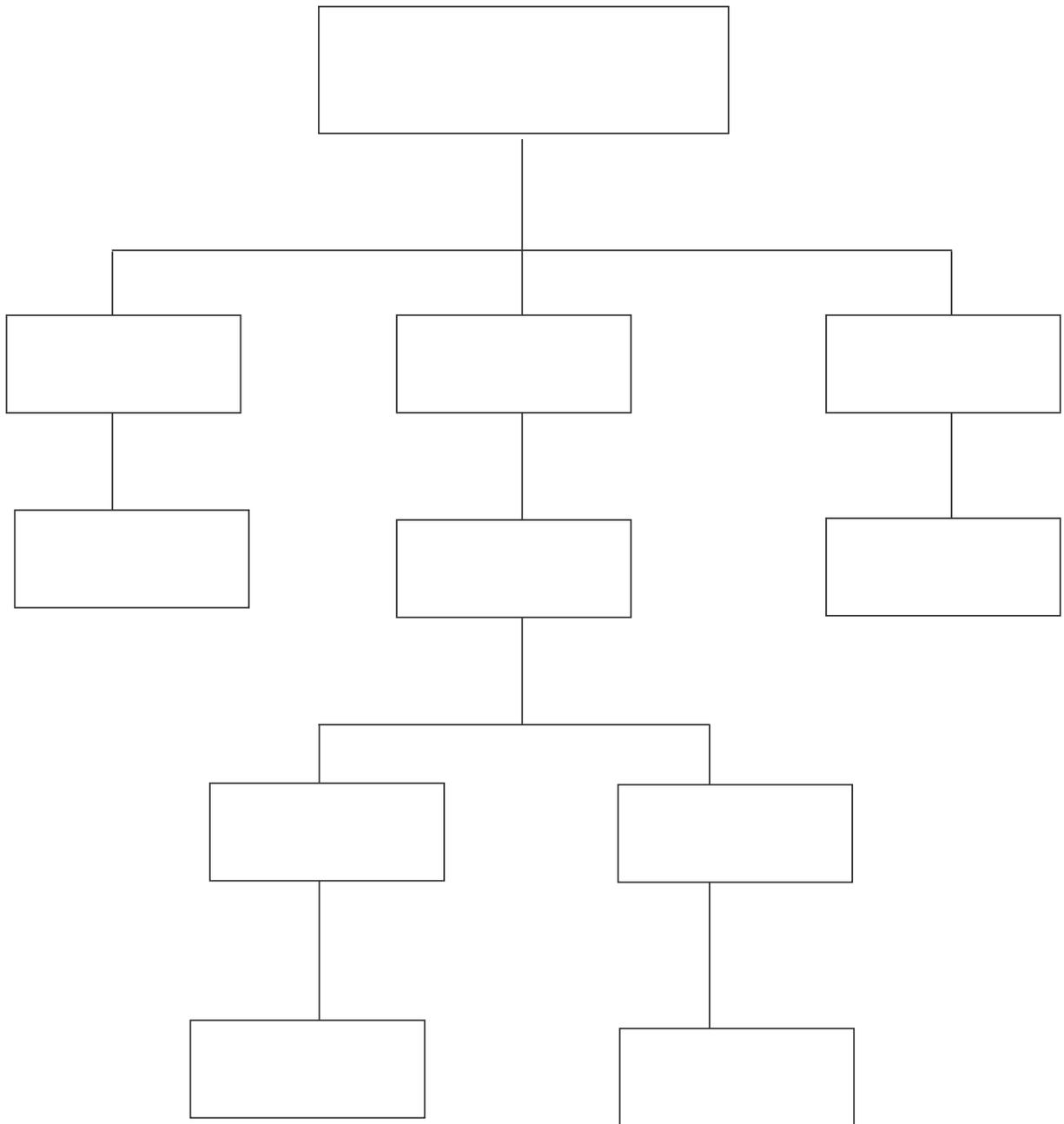
- Pour éviter toute contamination, ne pas toucher le haut des barrettes, le bord des cupules, le liquide dans les cupules ou la sphère de conjugué avec les doigts ou avec les embouts de pipette
- Toutes les manipulations avec pipette doivent être effectuées avec un soin et une précision particuliers.
- Éliminer toutes les bulles d'air dans les cupules en tapotent doucement
- Une maintenance de routine du système aspiration/lavage est fortement recommandée afin d'éviter la contamination des échantillons entre eux.
- Manipuler tout le matériel utilisé comme s'il s'agissait de déchets biologiques dangereux
- Éviter la contamination microbienne des réactifs
- Éviter tout contact du tampon substrat, du chromogène et de la solution d'arrêt avec la peau et les muqueuses (risque de toxicité d'irritation et de brûlures).

4.2 Algorithmes de dépistage utilisés

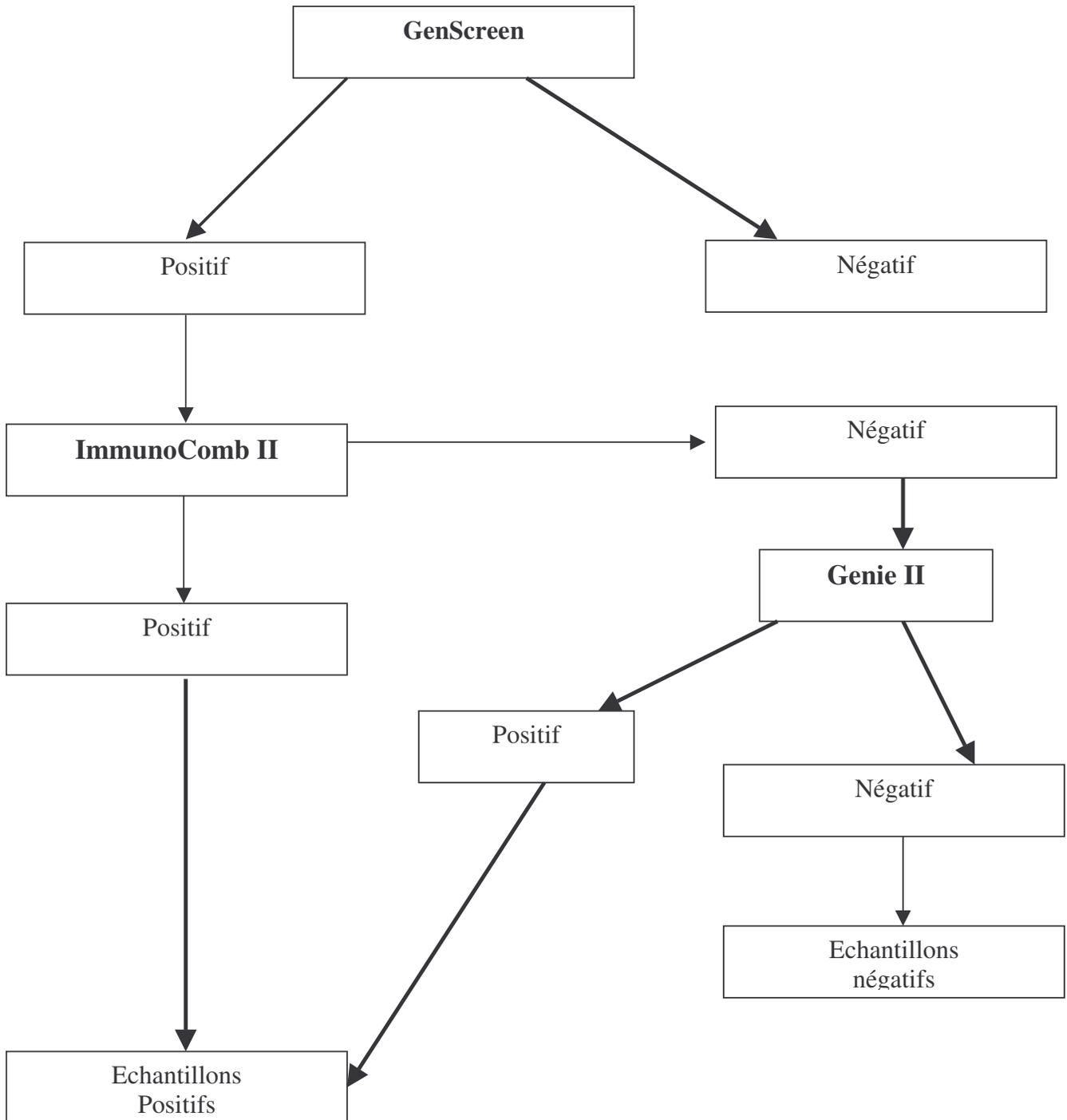
Algo I : Algorithme standard utilisé à l'INRSP



AlgoII : algorithme de dépistage utilisé dans les CCDV (Centre de Conseil et de Dépistage Volontaire)



Algo III : Algorithme utilisé par l'INRSP pour l'évaluation du contrôle de qualité externe des prélèvements de CCDV



4-3 Prélèvements

Le prélèvement des échantillons a été effectué au niveau du CESAC et aux CCDV.

Pour la première phase de l'étude, le CESAC avait envoyé 516 échantillons supposés être des prélèvements en double : sang veineux (sérum) et capillaire d'une même personne. Le sang capillaire ou DBS est prélevé au moyen d'une piqûre au bout du doigt faite à l'aide d'une lame rétractable à usage unique. Les gouttes de sang sont déposées sur du papier filtre recommandé par CDC contenant trois cercles de 8mm. Pour bien suivre les algorithmes proposés, deux cercles au moins doivent être bien imprégnés de sang.

La deuxième phase était constituée de 303 échantillons prélevés sur papier filtre au niveau des CCDV de Bamako et de Kayes. Ces prélèvements représentent le dixième des analyses effectuées dans ces centres.

1- **Prélèvement adéquat** : c'est un prélèvement fait sur un papier buvard conforme aux normes, définis par CDC : gouttes de sang homogène, les deux faces du papier filtre sont bien imbibées de sang et le cercle est bien rempli d'où l'obtention de 3 à 4 disques de 6 mm à partir des spots.

2- **Prélèvement inadéquat** : gouttes de sang non homogène, seulement une face est imbibée, l'autre face présente des traces de sang où n'en présente même pas.

3- **Prélèvement sur papier buvard non conforme** : c'est des prélèvements faits sur un papier filtre différent de celui recommandé par CDC.

4.3.1. Extraction du sérum à partir du sang prélevé sur confettis :

Les prélèvements ont été effectués au niveau des CCDV. Les confettis sont imbibés de sang au niveau de trois spots aux contours bien délimités par un cercle.

Les spots sont laissés à sécher à la température ambiante. Après nous avons suivi le protocole suivant :

Protocole d'extraction de sérum à partir des confettis de papier filtre :

ÉTAPE I : RÉCEPTION /ENREGISTREMENT

- 1- Vérifier que le papier filtre utilisé est de bonne qualité (celui recommandé par CDC).
- 2- Vérifier que le papier est bien imbibé par la goutte de sang (le cercle doit être remplie et la goutte bien visible au verso).
- 3- Vérifier la concordance entre le numéro de code de chaque papier filtre et de celui du zyploc correspondant.
- 4- Vérifier que chaque papier filtre reçu a son numéro de code sur la liste des numéros de code et vis versa
- 5- Signer les deux copies de la liste de numéro de code ; garder une copie et remettre l'autre copie à l'agent du CCDV.
- 6- Enregistrer le prélèvement dans le registre de réception

ÉTAPE II : EXTRACTION :

- 1- Reporter les numéros des papiers buvards sur des tubes à hémolyse (choisis en fonction de la marque de centrifugeuse du laboratoire).
- 2- A l'aide d'une perforuse, découper dans les cercles de papiers buvards 3 ou 4 rondelles (confettis) de 6 mm de diamètre.
- 3- Mettre les rondelles dans le tube correspondant à l'aide d'une pince.
- 4- Ajouter 200µl de tampon PBS (Phosphate Buffered Saline) par rondelle.
- 5- Agiter pendant au moins 1 heure à l'aide d'un agitateur de Kline.
- 6- Centrifuger les échantillons pendant 10 mn à 3000 tours/mn.
- 7- Récupérer le surnageant « sérums » et faire des aliquotes dans des micro tubes marqués (portant le n° correspondant).
- 8- Conserver les aliquotes a +4°C (ou à -20°C si les analyses doivent se dérouler au-delà de 24 heures)
- 9- Réaliser les tests de diagnostic du VIH (ELISA, tests rapides, etc.) selon l'algorithme retenu.

N.B. Nettoyer la perforuse et les pinces avec un désinfectant (alcool à 70°C, eau de javel diluée au 1/10) entre le découpage des rondelles des différents échantillons.

4.3.2. Préparation du PBS :

Le tampon Phosphate Buffered Saline est une solution nécessaire pour l'extraction du sérum à partir des confettis. Il a été préparé de la manière suivante :

Pour 1 Litre de solution tampon :

- chlorure de sodium	→	7,650g
- phosphate disodique	→	0,724g
- phosphate mono potassique	→	0,210g
pH	→	7,2

Verser le contenu d'un tube dans un récipient jaugé de 1 Litre, rincer le tube avec un peu d'eau distillée, de manière à entraîner les particules de poudre qui pourraient rester coller sur les parois.

Dissoudre la poudre dans l'eau distillée et compléter à 1000 ml. La solution ainsi préparée à pH voisin de 7,2 et peut être conservée quelques jours à +4°C.

Si une conservation de plus longue durée doit être envisagée, vérifier la limpidité du liquide et la stabilité du pH avant tout nouvel usage.

4.4. Aspects éthiques

Première phase : cette phase n'a nécessité que peu de problèmes éthiques. La sérothèque était constituée par les prélèvements doubles du CESAC. Les résultats n'étaient pas liés aux patients.

Quant aux agents techniques, la sécurité opérationnelle était édictée par les règles générales lors d'analyse de VIH.

Deuxième phase : un accord verbal est demandé à chaque patient supposé être le 1/10 avant d'être prélevé sur papier filtre.

Le laboratoire des CCDV est tenu à la confidentialité absolue. Les échantillons reçus à l'INRSP ne sont identifiés que par un numéro de code. Les résultats des tests sont ensuite envoyés aux CCDV dans l'anonymat le plus complet.

Cette phase n'a nécessité aucun système de compensation directe pour la participation au contrôle de qualité externe.

Dans les deux phases, les patients se font dépistés de manière libre et volontaire. Ils reçoivent des conseils avant et après le dépistage.

5. Traitement et analyse des données :

Terminologie [36]

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

Contrôle de qualité (**CQ**) : comprend les mesures qui doivent être prises lors de la réalisation de chaque analyse afin de vérifier que tout se déroule correctement. Ceci comprend la vérification des conditions de température correctes, de l'existence de témoins de contrôle, etc. Ce CQ indique si l'analyse en cours est valable et donne des résultats acceptables. Le contrôle de qualité n'indique pas ce pendant si les résultats sont exacts, ni s'ils ont été correctement enregistrés.

Évaluation de la qualité (**EQ**) : est le moyen de déterminer la qualité des résultats. Généralement, c'est une évaluation externe de

la performance d'un laboratoire, utilisant un panel significatif. L'évaluation de la qualité est mise en œuvre en vue de déterminer l'efficacité du programme d'assurance de la qualité.

Analyse statistique :

VP : Vrai positif

FP : Faux positif

VN : Vrai négatif

FN : Faux négatif

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

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

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

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

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

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

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

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

La prévalence influe beaucoup sur la valeur prédictive.

Normes OMS : Se = 99 % Sp = 99 % (10)

Efficacité : aptitude globale à identifier avec exactitude tous les positifs et tous les négatifs (absence de faux positif et de faux négatif).

Elle combine Se et Sp de l'épreuve et donne une idée de son efficacité totale.

$$\mathbf{Efficacité} = \frac{Vp + Vn}{Vp + Fp + Vn + Fn} * 100 = \frac{Vp + Vn}{n} * 100$$

N : nombre d'échantillons analysés

Première phase :

Sur 516 patients ayant accepté de faire partie de l'étude, 500 avaient les prélèvements en double. Le tableau I présente la fréquence de l'infection au niveau des deux sexes.

Tableau I : Résultats Sérologiques VIH+ en fonction du sexe de 500 patients du CESAC

Sexe	Féminin	Masculin	Total
Effectif VIH+/N*	163/262	119/238	282/500
Pourcentage	32,6/52,4	23,8/47,6	56,4/100

***VIH+/N** : le nombre de VIH+ et le nombre total par sexe

Le sex ratio était de 1,10 en faveur des femmes.

Le statut sérologique des patients obtenu avec l'algorithme standard de l'INRSP est présenté sur les tableaux II et III.

Validation de la technique DBS

Tableau II : Statut sérologique des patients du CESAC selon l'algorithme standard de l'INRSP à partir du sérum

	Négatif	HIV1(+)	HIV2(+)	HIV1+2(+)	Total
Effectif	214	259	18	9	500
pourcentage	42,8	51,8	3,6	1,8	100

Tableau III : Statut sérologique des patients du CESAC selon l'algorithme standard de l'INRSP à partir de confettis de papier filtre

	Négatif	HIV1(+)	HIV2(+)	HIV1+2(+)	Total
Effectif	214	259	17	10	500
pourcentage	42,8	51,8	3,4	2,0	100

Seul un extrait de confettis était positif en HIV1+2 alors que le sérum correspondant a été retrouvé positif HIV2.

Les résultats obtenus à partir des confettis et des sérums avec le Génie II se trouvent dans les tableaux V ET VI.

Performance des tests immunocomb II et génie II

Tableau IV : Résultats Sérologiques HIV des patients du CESAC sur sérum selon le Genie II

Sérum Genie II	Statut Sérologique				Total
	Négatif	HIV1(+)	HIV2(+)	HIV1+2(+)	
Effectif	218	253	16	13	500
Pourcentage	43,6	50,6	3,2	2,6	100

Sur 500 sérums testés par Génie II, 218 étaient négatifs et 282 positifs répartis entre HIV1, HIV2 Et HIV1+ 2.

Tableau V : Résultats Sérologiques HIV des patients du CESAC sur confettis selon le Genie II

confettis Génie II	Statut Sérologique				Total
	Négatif	HIV1(+)	HIV2(+)	HIV1+2(+)	
Effectif	217	255	15	13	500
Pourcentage	43,4	51,0	3,0	2,6	100

Deux patients avaient donné un résultat discordant entre sérum et confettis. Un patient avait été testé HIV2 par le sérum et a été révélé HIV1 à partir des confettis, et un autre négatif à partir du sérum a été révélé positif en HIV1 à partir des confettis.

Les caractéristiques du Génie II pour le diagnostic du VIH à partir des confettis sont dans le tableau ci-dessous.

Tableau VI : Comparaison des résultats obtenus par Génie II avec ceux de l'algorithme I

Statut sérologique selon les méthodes	Algo I (confettis)		Genie II (confettis)	
	VP	VN	P	N
Nombre	286	214	283	217
fréquence	57,2	42,8	56,6	43,4

Se= 99%

Sp= 100%

VPP= 100%

VPN= 98,61%

Efficacité= 99,4%

Les résultats obtenus à partir des sérums et des confettis avec l'ImmunoComb II se trouvent dans les tableaux VII et VIII.

Tableau VII : Résultats Sérologiques HIV sur Sérum des patients du CESAC selon le test Immuno Comb II

Sérum	Statut Sérologique				Total
	Négatif	HIV1(+)	HIV2(+)	HIV1+2(+)	
Immuno Comb II					
Effectif	218	254	18	10	500
Pourcentage	43,6	50,8	3,6	2,0	100

Sur 500 sérums testés par l'Immuno Comb II, 218 sont négatifs et 282 positifs répartis entre le VIH1, VIH2 et le VIH1+2.

Tableau VIII : Résultats Sérologiques HIV des patients du CESAC sur confettis selon le test Immuno Comb II.

confettis	Statut Sérologique				Total
	Négatif	HIV1(+)	HIV2(+)	HIV1+2(+)	
Immuno Comb II					
Effectif	220	253	18	9	500
Pourcentage	44	50,6	3,6	1,8	100

Trois patients avaient donné des résultats discordants entre sérum et confettis. Un sérum testé HIV1 a été révélé HIV1+2 à partir

des confettis et deux autres retrouvés positifs à partir du sérum ont été révélé négatifs à partir des confettis.

Les caractéristiques de l'ImmunoComb II pour le diagnostic du VIH sont dans le tableau XI

Tableau IX : comparaison des résultats obtenus par l'ImmunoComb et ceux de l'algo I

Statut sérologique	Algo I (confettis)		ImmunoComb II (confettis)	
	VP	VN	P	N
Nombre	286	214	280	220
Fréquence	57,2	42,8	56,0	44,0

Se= 98%

Sp= 100%

VPP= 100%

VPN= 97%

Efficacité= 98,8%

Deuxième phase :

Les 303 prélèvements de sang total sur papier filtre représentaient 10% des prélèvements effectués au niveau des CCDV. Tous les échantillons ont été traités par l'algorithme II incluant : Determine HIV-1/2, OraQuick HIV-1/2 et HemaStrip HIV1/2 dans ces centres.

Les résultats obtenus dans les CCDV de Bamako et de Kayes selon l'algorithme II se trouvent dans le tableau X.

Tableau X : Résultats des tests VIH obtenus dans les CDC avec l'algorithme II

VIH	Effectif	Pourcentage
Positif	31	10,23
Négatif	272	89,77
Total	303	100

Selon ces centres, 31 extraits sur 303 seraient positifs.

Les résultats de l'INRSP selon l'algo III appliqués aux 303 extraits sont les tableaux ci-dessous.

Tableau XI : Résultat de l'algorithme III obtenu à l'INRSP

Résultat	GenScreen (n= 303)	ImmunoComb (n = 48)	Genie II (n = 32)	Résultat final (n= 303)
Positif	48	13	0	13(4,3%)
Négatif	255	32	31	287(94,7%)
extraits insuffisants	0	3	1	3(1%)

Tous les extraits ont été analysés par le GENSCREEN utilisé comme test de « screening ».

Tableau XII : Résultat de l'algorithme III de l'INRSP appliqué aux extraits du CCDV de Bamako

Résultat	GenScreen (n= 297)	ImmunoComb (n = 47)	Génie II (n = 32)	Résultat final (n=297)
Positif	47	12	0	12(4 %)
Négatif	250	32	31	282(95%)
Extraits insuffisants	0	3	1	3(1%)

Sur 297 extraits du CCDV de Bamako, 12 se sont révélés positifs et 282 négatifs, 3 positifs à l'ELISA n'ont pas été confirmés par l'ImmunoComb pour insuffisance de sérum.

32 extraits sur 47 positifs à l'ELISA se sont révélés négatifs à l'ImmunoComb et au Génie II.

Tableau XIII : Résultat de l'algorithme III de l'INRSP appliqué aux extraits du CCDV de Kayes

Résultat	Genscreen (n= 6)	ImmunoComb (n = 1)	Résultat final (n=6)
Positif	1	1	1
Négatif	5	0	5

A Kayes, sur 6 extraits testés, 1 était positif.

Tableau XIV : Les résultats de l'INRSP et ceux des CCDV de Bamako et Kayes

Résultat	CCDV Bamako (n= 297)	CCDV Kayes (n= 6)	INRSP (n= 303)	
			CCDV Bamako (n= 297)	CCDV Kayes (n= 6)
Positif	29(9,8%)	2(33,3%)	12(4,0%)	1(16,7%)
Négatif	268(90,2%)	4(66,7%)	282(95%)	5(83,3%)
Extraits insuffisants			3(1,0%)	0

Il a été dépisté à l'INRSP moins d'extraits positifs que dans les CCDV.

Sur 297 extraits du CCDV de Bamako, 12 se sont révélés positifs à l'INRSP contre 29 positifs. Les 3 extraits positifs par l'ELISA mais insuffisants pour la confirmation par l'ImmunoComb sont parmi les 29 positifs au CCDV de Bamako.

Tableau XV : Comparaison des résultats du CCDV de Bamako et celui de l'INRSP.

Résultat CCDV de Bamako	Résultat de l'INRSP		Total
	Positif	Négatif	
Positif (n = 29)	15(51,7%)	14(48,3%)	29(9,8%)
Négatif (n = 268)	0(0%)	268(100%)	268(90,2%)
Total	15(5,0%)	282(95%)	297(100%)

Sur 29 extraits dépistés positifs au CCDV de Bamako, 15 se sont révélés positifs selon l'algorithme III. Tous les extraits dépistés négatifs par le centre se sont révélés aussi négatifs par les tests de l'INRSP.

Tableau XVI : Comparaison des résultats du CCDV de Kayes et celui de l'INRSP.

Résultat CCDV de Kayes	Résultat de l'INRSP		Total
	Positif	Négatif	
Positif (n = 2)	1(50%)	1(50%)	2(33,3%)
Négatif (n = 4)	0(0%)	4(100%)	4(66,7%)
Total	1(16,7%)	5(83,3%)	6(100%)

Sur deux extraits positifs au CCDV de Kayes, il a été dépisté à l'INRSP 1 positif.

Tableau XVII : Comparaison du résultat global sur les échantillons des centres et celui de l'INRSP.

Résultat des CCDV	Résultat de l'INRSP		Total
	Positif	Négatif	
Positif (n = 31)	16(51,6%)	15(48,4%)	31(10,2%)
Négatif (n = 272)	0(0%)	272(100%)	272(89,8%)
Total	16(5,3%)	287(94,7%)	303(100%)

Si l'on maintient la positivité des 3 extraits par l'ELISA seul malgré la non confirmation par l'ImmunoComb, on peut considérer que sur 31 extraits trouvés positifs par les centres, 16 sont positifs à l'INRSP.

COMMENTAIRES ET DISCUSSIONS :

Validation de la technique des DBS

L'algorithme standard de l'INRSP appliqué sur les DBS et les sérums avait donné les mêmes taux : 42,8% pour les négatifs et 57,2% pour les positifs (HIV1, HIV2 et HIV1+2).

Seul un extrait de confettis dépisté positif HIV1+2 avait été révélé positif HIV2 par le sérum. Cet état de fait est dû soit à la quantité d'anticorps contenu dans l'extrait de confettis (DBS), soit une longue et mauvaise conservation du DBS.

D'où nous pouvons affirmer que le dépistage du VIH par la technique de DBS est aussi efficace que celui du sérum. D'après les études de Bougoudogo (4), cette technique est efficace et a été proposée dans les titrages simplifiés des anticorps vibriosides du choléra. C'est une technique de prélèvement beaucoup utilisée à travers le monde. Sa simplicité et sa facilité sont à la base de son utilisation massive dans les études de dépistage du trait drépanocytaire chez les nouveaux nés (50).

Elle est aussi utilisée dans le dépistage néonatal à l'hôpital d'Enfants de la Timore Marseille (51), ainsi que dans les études des anomalies Congénitales Métaboliques et Hypothyroïdie (52).

La performance des tests ImmunoComb II et Génie II :

La littérature sur le diagnostic du VIH sur confettis de papier filtre est très limitée surtout dans le cadre de l'évaluation des tests.

Immuno comb II HIV1+2 : Il a fourni une sensibilité de 98% pour l'analyse des confettis et 98,6% pour l'analyse des sérums. Cette valeur est nettement élevée par rapport à l'étude de Sangaré D.B. qui

avait eu une valeur de 92,0% [9] et très proche aux données de l'ONUSIDA en 1999, soit 100% [26].

La spécificité est de 100% pour les sérums et pour les confettis, valeur très proche et comparable à celle de l'ONUSIDA/OMS (99,7%) et est très comparable aux autres études comme celle de Sangaré D.B. (99,53%).

Le test immuno comb II a été très performant dans le dépistage du VIH dans le sérum avec une efficacité de 99,2% contre 98,8% pour les confettis. Dans les deux cas, le test présente une efficacité nettement supérieure aux études précédentes (96,7%) fourni par Sangaré D.B. [9]

Génie II HIV1/2 : Avec une sensibilité de 99,0% pour le dépistage des confettis et une spécificité de 100% et avec une efficacité de 99,4% contre une sensibilité de 98,6%, une spécificité de 100% et une efficacité de 99,2% pour le dépistage du sérum, le génie II a été légèrement performant dans le dépistage du VIH/SIDA sur les confettis de sang total sur papier filtre (DBS) par rapport à l'Immunocomb II.

Dans cette étude, le Génie II avec les sensibilités de 99% pour les confettis et 98,6% pour le sérum a été le test le plus sensible.

Valeur de l'algorithme utilisé dans les CDC :

Les tests rapides Determine HIV1/2, OraQuick HIV1/2 et HemaStrip HIV1/2 ont été évalués à l'INRSP d'après l'étude de Sangaré (9). Avec une Se, Sp et une efficacité de 100% chacun, ils ont été proposés selon l'algorithme en vigueur dans les CCDV (algo II) par décision ministérielle. Des agents de laboratoire ont reçu une

formation pour l'utilisation de ces tests rapides. Pour mieux valider la qualité des analyses effectuées par ces laboratoires, un contrôle de qualité externe a été mis en place. Ce contrôle concernait le 1/10 des clients des CCDV prélevés sur papier filtre et analysés à l'INRSP.

Le contrôle de qualité externe, des 303 échantillons représentant le 1/10, fait à l'INRSP a révélé que, sur 31 extraits dépistés positifs par ces centres, 16 ont été positifs.

Nous avons constaté après une formation au niveau des CCDV que cette grande discordance n'est pas liée aux tests utilisés dans ces centres notamment Determine HIV1,2, OraQuick HIV1,2 et HemaStripHIV1,2 mais aux insuffisances liées à la préparation des confettis, à l'absence de procédure écrite sur la préparation des confettis et au manque de formation des laborantins de ces centres chargés de la préparation des confettis.

De ce fait, nous avons inclus ici les critères de validité des confettis de sang total sur papier filtre cités ci-dessous.

Les échantillons DBS ont été utilisés pour examiner les nouveaux nés pour les maladies congénitales et métaboliques pendant plusieurs années(43) et ont été utilisés pour évaluer la prévalence de l'infection du VIH chez les femmes enceintes et d'autres adultes dans la population(43).

Les meilleurs résultats du test sont obtenus quand le DBS n'a pas été gardé pendant de longues périodes à la température ambiante ou exposé aux conditions de forte humidité ou à des températures élevées. [13,43]

L'identification sur la carte elle-même est nécessaire et possible pour chaque patient. Le cercle pré imprimé sur la carte du papier filtre doit être rempli par une unique goutte de sang avant de procéder au prochain cercle vide. Le sang doit être appliqué seulement sur le côté imprimé de papier filtre ; mais doit être visible du côté opposé.

On doit éviter de toucher le spot de sang.

Toutes les gouttes de sang doivent être séchées au moins 3 heures en suspension horizontale à l'abri des mouches et de l'humidité à la température ambiante. Les DBS sont mis dans les sachets en plastique contenant des dessiccants appelés ziplock. Si l'analyse est différée, Les DBS doivent être gardés à 4°.

Les sachets d'échantillons de sang sec où les contrôles doivent être acclimatés à la température du laboratoire avant de perforer les disques. S'ils sont gardés dans des sachets fermés avec dessiccant à 4°C ou -20°C, les sachets restent fermés jusqu'à atteindre la température du laboratoire avant l'ouverture (30mns maximum).

On doit éviter les DBS contenant des caillots de sang et qui ne sont saturés par le sang.

En règle générale, les directives de rejet des échantillons sont les mêmes comme ceux utilisés dans les autres programmes.

Le contrôle de qualité des 303 échantillons à l'INRSP a révélé que sur 31 sérums dépistés positifs par les CCDV, 16 soit 51,6% sont positifs. L'analyse des résultats par centre montre que 48,3% des échantillons dépistés positifs par le CCDV de Bamako et 1 échantillon positif au CCDV de Kayes sont des faux positifs. Ces chiffres semblent inquiétants quant à la qualité des résultats des centres et sont à prendre avec prudence. De ce fait, une équipe de l'INRSP s'est rendue

aux CCDV et a constaté que cette grande discordance n'était pas liée aux tests utilisés.

Une hypothèse envisageable pour expliquer ces chiffres est la quantité de sang déposé sur le papier filtre et la qualité de ce papier filtre. Nous avons constaté que la taille de la goutte de sang ne permettait pas dans certains cas d'obtenir une quantité suffisante d'extrait pour l'utilisation de l'algorithme ou que la goutte de sang n'avait pas suffisamment imbibé le papier filtre ou même que le papier filtre utilisé n'était pas celui préconisé par CDC comme c'était le cas du CCDV de Kayes.

Si le papier filtre est insuffisamment imbibé de sang, l'extrait sera trop dilué même si le rapport un disque de sang pour 200 μ l de tampon PBS est respecté, ce qui aura pour conséquence la baisse du titre des anticorps en dessous du seuil détectable par les tests.

Dans aucun des centres, il n'a été dépisté de faux négatifs d'où une concordance à 100% avec les résultats de l'INRSP.

CONCLUSION

L'analyse des 500 prélèvements doubles (sérum + DBS) nous a permis de conclure que le dépistage du VIH/SIDA à partir de confettis de sang total sur papier filtre comme on le voit dans des études de seroprévalence est aussi une méthode très pratique et fiable que le dépistage du VIH/SIDA à partir des sérums.

Et les rapides ImmunoComb II et Génie II sont aussi performants dans le dépistage du VIH sur confettis de sang total sur papier filtre.

Au terme de l'étude de contrôle de qualité externe du 1/10 des analyses des CCDV, l'INRSP, en collaboration avec le CDC et le PSI, a mis en place une équipe pour la formation des agents de ces centres. Cette formation a déjà eu lieu et l'étude d'évaluation est en cours. C'est au cours de cette formation que nous avons constaté que la discordance n'était pas liée aux tests de dépistage en vigueur dans ces centres mais à la confection des DBS.

RECOMMANDATIONS

Nous avons formulé les recommandations suivantes :

A l'INRSP :

*Centre de référence pour le dépistage du VIH/SIDA, cet institut doit doter le service de séro-immunologie d'outil informatique pour pouvoir stocker ces informations et acquérir les nouvelles connaissances sur le VIH/SIDA.

*Évaluer l'algorithme III

*Réévaluer la méthodologie du contrôle de qualité externe des CCDV.

AUX CCDV

De suivre les recommandations du centre de référence faites à leur niveau notamment pour le contrôle de qualité, il sera demandé à tous les techniciens des CCDV

* D'utiliser du papier filtre tel que préconisé par le CDC pour prélever la goutte de sang.

* D'imbiber suffisamment le papier filtre avec la goutte de sang de manière à le rendre visible et homogène au verso.

*Faire accompagner la goutte de sang des résultats du centre.

* D'envoyer le plus rapidement possible le DBS pour le contrôle de qualité.

- 1 - ASSOGBA C. L .** Inventaire et évaluation des performances des tests rapides de dépistage du VIH utilisés au Bénin. Thèse pharm. Bamako (Mali) 2000. 05, 77P
- 2 - BARIN F., M, BOUPS., DENIS et al.** Serologic Evidence for virus related to simianT lymphotropi retrovirus III in residents of west Africa Lancet 1985 ;**2** : 1387-1389.
- 3 - BOUGOUDOGO F.** VIH et diagnostic au laboratoire Présentation orale cours de formation des médecins à la charge des malades du VIH/SIDA . Bamako, Juillet 2003.
- 4 -BOUGOUDOGO F.** Contribution à l'étude de l'immunité protectrice contre le choléra : rôle des anticorps vibriocides reconnaissant le polysaccharide spécifique du lipopolysaccharide de *Vibrio Cholerae* 0 :1 1993-1994, Paris XI, série doctorat N° 368 P :135-136.
- 5 - BUONAGURO I., CAUDIOR., MONACO M ., et Al.** Heteroplex mobility assay and philogenetic analisis of V3 region sequences of humain immuno defficiency virus type I isolates from GULU Northern Uganda .Journ of Viral Methods 1995 ; 69 :7971-81.
- 6 - CHAMARET S.** Encore un nouveau Retrovirus VIH-1 identifié. Transcriptase sud 1999 ;1 :28 -30
- 7- CHEING SONG – POPOUR ., CALLOWD, et al.** Serotyping. AIDS Res Hum Retrovirus 1994 ; 10 : 1379 -86.
- 8 - CILLET ., BONGAN A. , FIZIBET J. G., PESCE A.** Grossesse chez la femme infectée par le VIH ; Indication thérapeutique actuelle. Presse Med 1992 ;21(4) :165-7
- 9 - DAUDA B SANGARE** :Identification d'un algorithme de dépistage du VIH par tests rapides utilisables dans les centres de dépistage et de conseil volontaire. Thèse pharm. Bamako(Mali) 2003
- 10-DELAPORTE L., JQNSSENS W., PEETERS M. et al.** Epidemiological and molecular characteritics of HIV infection in Gabon 1986 –1994 . AIDS Res. Hum Rétrovirus 1996 ; 10 :903-10.

11 - DELLABETTA G., FIESL M.L., LAGAM., ISLAM M. La lutte contre les IST, un fardeau mondial et un défi à la prévention AIDSCAP/USAID 1997 ; 15P

12- DOUMBIA D. Etude bibliographique des recherches menées sur les IST /VIH au Mali de 1987 à 2000 Thèse pharm. : FMPOS – BAMAKO (Mali)–2001 ; 48, 77P.

13- DEPARTEMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICE (U.S.):

Serologic assay for human immunodeficiency virus antibody in dried blood specimens collected on filter paper. In H DRYING RACK 105-395-21, DRY RAK Schleicher et Schuell(S et S) keene, NH03431(800). CDC. Atlanta, Georgia 30333.Version 2003.

14-GABA D .J.P.M . Évaluation des performances de huit tests de dépistage du VIH utilisés au Togo. Thèse pharm. FMPOS Bamako (Mali) 2001 ; 16, 95P.

15-GILLE FURELAND, BENJAMIN PAVIE: ONCOLOGIE VIRALE UFR 9045 CNRS, Institut A LWOFF VILLE Juif.

16-HENRI AGUT, P.M. GIRARD, CH. KATLAMA, G. PIALOUX, A .G. SAIMOT : Évaluation virologique de l'infection par le VIH, SIDA Ed.1996, Doin Editeurs, France, 37-44

17- HEYNDRIK X L., JANSSENS W., ALARY M., et al. Genetic variability of HIV type I in Benin. AIDS Res. Hum. Retro virus 1996; 12 :1495 –97.

18-INRSP/PNLS/CDC : Rapport ISBS 2000.Bamako 2002, Mali

19-JANSSENS W., HEYNDRIK X L., VANDE PEERY ., et al .

molecular phylogenetic of part. of the gene of HIV-1 strains isolates in Ivory cost. AIDS Res Hum Retrovirus 1994; 8 : 21-26

20-KOBER B. T. M., ALLENE., FARMER A., et al. Heterogeneity of HIV-1 and HIV-2 AIDS Res. Hum. retrovirus 1995; 9: S 5 –S 18

21-LEITNER T. ALAEUS A., MARKINA S ., et al. Yet another subtype of HIV type I. AIDS Res. Hum .Retrovirus 1995; 11 : 995 –997

22-MINISTERE DE LA SANTE : Rapport de la troisième Enquête Démographique et de Santé 2001 au Mali (EDS-III), Bamako, Juin 2002.

23-MYERS G., KORBER B., WAIN – HOSONS et al. Human retroviruses. AIDS Res. Hum. Retrovirus 1994 ; 12 ; 504-508.

24-OMS. Le SIDA : images de l'épidémie. Genève (Suisse) 1995 ; 12P

25-OMS et BIT. Guide concernant le SIDA et les premiers secours sur le lieu. Genève (Suisse)-1990-série OMS/SIDA.

26-ONUSIDA/OMS. Le point sur l'épidémie du SIDA. Rapport ONUSIDA/OMS/9953F. Genève (Suisse) Décembre 1999.

27-ONUSIDA. Conseil et dépistage volontaire du VIH à l'intention des femmes enceintes dans les pays à forte prévalence du VIH : données et problèmes. ONUSIDA/99-44F (version Française). Mars 2001;PP4 –6.

28-ONUSIDA. Rapport sur l'épidémie mondiale du VIH/ SIDA. ONUSIDA 100-13F (version française) ,Genève (Suisse), Juin 2000. PP (9-21-124).

29-ONUSIDA. Infection par le VIH : information à l'usage des fonctionnaires des nations unies et de leur famille ONUSIDA/99-31F (version Française), Genève (Suisse), Avril 2000 ; PP (15-17 ;21-22 et 32).

30-ONUSIDA/OMS. Operational characteristics of commercially available assays to determine antibodies to HIV-1 and/or HIV-2 in human Sera. Report 11-Geneva (Switzerland). January 1999.

31-ONUSIDA/OMS. Rapport sur l'épidémie de l'infection à VIH/SIDA dans le monde, Genève, 2001.

32-ONUSIDA/OMS. Rapport sur l'épidémie mondiale de l'infection à VIH SIDA Genève (Suisse). Décembre 1997 ; 13 P

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

34-ONUSIDA/O MS. Le point sur l'épidémie de SIDA Décembre 2002.

35-ONUSIDA/OMS : Le point sur l'épidémie de SIDA Décembre 2003.

36-ONUSIDA /OMS : Guide pour l'Organisation d'un Système National Évaluation Externe de la Qualité de l'Analyse Sérologique du VIH. Genève (Suisse) Janvier 1996. 1211Genève 27. Suisse.

37-PEETERS. M., KOUMARE B., MULANGA C., et al. Genetic subtypes of HIV type I and HIV type II stains in commercial sex workers from Bamako, Mali. AIDS Res. Hum. Retrovirus 1998 ; 14 : 51-58.

38-PNLS. Étude de la prévalence des maladies sexuellement transmissibles et des infections à VIH au Mali, Bamako, Août 1995

39-RAFI F. Infection à VIH, épidémiologie, dépistage, principale anomalie immunologique, marqueurs pronostiques biologiques, classification (stade évolutif). Revue du praticien 1997 ; 47 : 1347-55.

40-ROSENHEIM M. , I TOUA – NGAPORO A. SIDA , infection à VIH aspects en zone tropicale .Ellipses :AUPELF Paris. 1989; 3328 : 12-89

41-SIMAGA A. étude séroépidémiologique de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine cas de 21924 résultats du laboratoire d'analyse medical du Point G à Bamako(Mali).Thèse de médecine(2000).

42-SONGOK F. M., UBONDO D. K., ROTICH M. C., et al.

Surveillance for HIV1 subtype O and M in Kenya (letter). Lancet 1996 ;47 : 1700.

43-U.S. DEPARTEMENT OF HEALTH and Human Service: Serologic Assay for Human immunodeficiency virus antibody in dried blood specimens collected on filter paper. CDC. Atlanta, Georgia 30333, version 2003.

44- WHO NET WORK FOR HIV ISOLATION and

CHARACTERIZATION : HIV type I variation in world health organization sponsored vaccine evaluation sites :genetic screening

sequence analysis, and preliminary biological characterization of selected viral strains. AIDS Res. Hum Retrovirus 1994 ;10 : 1327-1343

45-WAGUE H. : Évaluation de la prévalence du VIH/SIDA dans la population générale selon l'Enquête Démographique et de Santé au Mali (EDS III-M). Thèse de pharmacie, FMPOS. N°03-p-19. Bamako, 2002.

46-WHATMAN BFC 180™ PAPER. Whatman, Inc. 6justRood Fairfield, NJO 7004. Contact: Mark Fry 800-343-5853 ext 132. fry@whatman.co

47-ZACHAR V., CUSTIN A. S., ZACHAROVA V., et al. Genetic polymorphism of envelope V3 region of HIV type I subtype A ,C and D from Nairobi, (Kenya). AIDS Res. Hum. Retrovirus 1996 ; 12 ;75-77.

48-ZABBAOU AMADOU MODIELI : Surveillance épidémiologique du VIH /SIDA : Cas de la surveillance sentinelle 2002 au Mali. Thèse pharm. Bamako 2004

49-S. SPARFEL ; I. SCHRIVE ; F. BALLEREAU. Les médicaments du SIDA . Collection grands médicaments, Ellipses, 1995.

50-<http://www.hc.sc.gc.ca/hppb/soinsdesant/pdf/soins98/>

Dépistage des hémoglobinopathies au Canada par Richard B. Golddloom.

51-www.1ph.fgov.be/epidemiomorbidity/fr/base/

Morbidity : Banques de données de morbidité en Belgique

Section : Epidémie. All rights reserved.

52-www.univ-st-etienne.fr. Le dépistage Néonatal.

J. Sarles, N. Maurin. AREDEMAG. Hopital d'Enfants de la Timore Marseille.

FICHE SIGNALITIQUE

Nom : MAÏGA

Prénom : Fatoumata Tahirou

Titre de la thèse :

Dépistage du VIH à partir de confettis de sang total sur papier filtre. Validation d'un algorithme utilisant des tests rapides.

Année universitaire : 2003 - 2004

Ville de soutenance : Bamako

Pays d'origine : MALI

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

Secteur d'intérêt : Virologie

Résumé : Il s'agit d'une étude analytique comparative et transversale. Elle s'est effectuée dans le service de séro-immunologie à l'INRSP en collaboration avec le CESAC, PSI et le laboratoire des IST CDC/INRSP.

L'échantillonnage était composé de 803 prélèvements effectués en 2 phases :

- La première phase comportait 500 prélèvements doubles provenant du CESAC.
- La deuxième phase comportait 303 prélèvements confectionnés sur papier buvard (confettis) représentant le 1/10 des analyses effectuées dans les CCDV de Bamako et de Kayes.

Dans cette étude, pendant la première phase, nous avons évalué la performance diagnostique du dépistage du VIH sur confettis de sang total sur papier filtre de deux tests rapides immunocomb II et Génie II. La deuxième phase avait été consacrée à l'évaluation de l'algorithme de dépistage en vigueur dans les CCDV par un contrôle de qualité externe.

Selon nos résultats, le diagnostic du VIH à partir de confettis de sang total est aussi fiable que celui à partir du sérum.

Le Génie II et l'Immunocomb II avec les paramètres identiques pour le dépistage du VIH sur sérum : Se=98,6% ; Sp=100% ; VPP=100% ; VPN=98,2 et respectivement : Se=99% ; Sp=100% ; VPP=100% ; VPN=98,6

Se=98% ; Sp=100% ; VPP=100% ; VPN=97%

pour le dépistage du VIH sur confettis de sang total sur papier filtre, ont été performants dans le dépistage du VIH à partir de confettis de sang total sur papier filtre

Mais la grande discordance observée lors du contrôle de qualité externe dans les CCDV sur 31 extraits dépistés positifs dans ces centres, 16 soit 51,6% ont été confirmés positifs à l'INRSP. Suite à ces résultats une formation a eu lieu dans ces centres pour la confection des confettis et l'évaluation est en cours.

Mots clés : confettis, performance, VIH, contrôle de qualité externe.

SERMENT DE GALLIEN

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

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

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

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

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

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

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

Je le jure !

