

Ministère des Enseignements Secondaire,  
Supérieur et de la Recherche Scientifique

\*\*\*\*\*

UNIVERSITÉ DE BAMAKO

RÉPUBLIQUE DU MALI

Un Peuple - Un But - Une Foi

FACULTÉ DE MÉDECINE DE PHARMACIE ET D'ODONTO - STOMATOLOGIE

ANNÉE ACADÉMIQUE 2007 – 2008

N° .....

## TITRE

DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DE L'INFECTION  
A VIH PAR COMBINAISON DE TESTS RAPIDES  
AU LABORATOIRE DU CHU  
GABRIEL TOURE

## THESE

Présentée et soutenue publiquement le .... / ..... / 2008  
devant la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- Stomatologie

Par Mlle Niamé TOURÉ

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

## JURY

Président :

Pr. Amadou DIALLO

Membre :

Dr. Massanbou SACKO

Membre:

Pr. Sounkalo DAO

CO- Directeur :

Dr. Souleymane DIALLO

Directeur :

Pr. Flabou BOUGOUDOGO

***DEDICACES  
ET  
REMERCIEMENTS***

## **Dédicaces**

Je dédie ce travail à:

ALLAH, le Clément, l'Omniscient, l'Omnipotent ; Lui qui nous a inspiré et donné la chance de faire des études jusqu'à ce niveau ; que Son Salut règne sur le sceau du prophète Mohamed (PSL), ses compagnons et sa famille.

### **❖ A mon papa Abdoulaye Touré Doudou**

Un père exemplaire et assidu, ton souci a toujours été de nous inculquer l'amour du travail bien fait, l'honnêteté, la dignité, mais surtout le sens du devoir et de ne compter que sur soi-même. Ce travail est avant tout le fruit de tes précieux conseils et de tes innombrables sacrifices.

Trouve ici cher papa le témoignage de mon éternelle reconnaissance et de ma sincère loyauté.

### **❖ A ma mère Fatimata Daffé**

Ta gratitude à mon égard a été sans pareil. De tout temps tu nous as entourés d'une attention et d'une affection particulière, et tu as cultivé en nous l'amour du prochain.

Tu es la meilleure des possessions qu'ALLAH m'ait offerte, ton amour pour moi n'a jamais fait défaut, plus qu'une mère tu es ma meilleure amie, une confidente.

Maman de tous les enfants, puisse le Tout Puissant « ALLAH » te laisser goûter le fruit de ce travail, produit de tes multiples investissements et sacrifices.

❖ **A mon père Cheickna Hamala Touré**

Cher père, à chaque fois que je pense à toi j'ai la gorge serrée, les larmes aux yeux.

Ton amour, ta grande estime, tes encouragements et ton respect à mon endroit m'ont donné la force de persévérer dans les études. Ce travail t'honore et est le fruit de tes sages conseils.

Reçoit ici mes sincères remerciements.

❖ **A mon père Bassary Touré**

Merci pour ta très grande contribution, ton soutien, et tes conseils qui m'ont été d'une très grande utilité. Ce travail est également le vôtre. Puisse, Dieu t'accompagner dans tout ce que vous faites, qu'il protège notre famille et tous les enfants. Merci pour tout.

J'adresse également mes sincères remerciements à **Hamet Touré** et à **Nouhoum Touré**

❖ **A mes frères et sœur**

**Bintou Touré**

**Keba Touré**

**Mamoudou Touré**

**Cheik hamala Touré**

**Sekou Touré**

« Que pourrais-je dire, que pourrais-je faire pour vous dire que je vous aime »

Encore merci et restons unis pour la vie.

❖ **A la mémoire de ma tante Oumou Touré**

Excuse moi de te déranger dans ton sommeil profond. Qu'ALLAH le Tout Puissant t'accorde sa grâce et t'accueille dans son Paradis Amen !

Je ne sais pas comment te remercier. La bonté de ton cœur et ta bienveillance ne quittera jamais mon esprit. Tu n'as jamais cessé de croire que je pouvais devenir ce que ce que je suis.

Reçoit ici l'expression de ma profonde gratitude.

❖ **A mes amis**

**Aminata Abdoulaye Koné**

**Isiaka Moumoune Koné**

**Damtouma Koita**

**Moussa Dabo**

**Nouhoum Guindo**

**Tata daffé Cissé**

**Les weeners**

L'amitié est un fil qui ne se rompt jamais.

❖ **A Mme Sanankoua Adiaratou Sanogo et Melle Mariam Traoré**

A chaque moment de la vie, on fait des rencontres et celles avec vous ont été le plus beau cadeau que je puisse avoir depuis l'école fondamentale jusqu'à la FMPOS.

Notre trio **Agna-Bebe-Montie** a été et restera toujours la plus belle chose de notre carrière, longue vie à vous et beaucoup de bonheur.

## **REMERCIEMENTS**

Je ne saurais terminer ce long et dur parcours scolaire couronné par cette thèse sans remercier encore une fois de plus tous ceux qui, de loin ou de près, m'ont accordé leur soutien, d'abord moral, intellectuel et matériel.

### **❖ Au Docteur Dolo**

Votre soutien moral, et matériel a été d'un grand apport pour la réussite de ce travail. Votre simplicité, votre courage et votre amour pour le travail bien fait font de vous un homme exemplaire à envier et à suivre.

Veillez accepter le témoignage de mon profond respect et ma sincère gratitude.

### **❖ A tout le personnel du laboratoire du CHU Gabriel Touré**

#### **Aux Docteurs :**

- **Colonel Souleymane Diallo**
- **Samba Adama Sangaré**
- **Cheik Fantamadi Diabaté**
- **Tenin Samake.**

#### **A Messieurs :**

- **Hamidou Maiga**
- **Youssouf Touré**
- **Amadou Keïta**

**A Mesdames :**

- **Sidibé Aminata**

- **Fatoumata Coulibaly**

Merci pour votre disponibilité. Trouvez ici ma profonde reconnaissance.

❖ **A Monsieur Boubacar Cissé**

Je n'oublierai jamais les moments merveilleux que nous avons passés ensemble au laboratoire. Merci de ta franche collaboration.

❖ **A tout les Internes du Laboratoire du CHU Gabriel Touré**

Toute ma reconnaissance pour l'estime et le respect que vous avez manifestés à mon égard. Merci pour vos conseils et vos encouragements.

❖ **Aux familles Touré Sackho et Daffé** : merci pour vos bénédictions.

❖ **A toutes les personnes vivant avec le VIH** : «Vivez dans l'espoir et n'ayez crainte car tous ensemble nous le vaincrons » INCHA ALLAH.

❖ **A tous ceux dont je n'ai pu citer le nom** : sachez que je vous porte tous dans mon cœur et merci.

**HOMMAGES AUX MEMBRES  
DU JURY**

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

**Professeur Amadou DIALLO ;**

**Professeur de biologie à la Faculté de Médecine, de Pharmacie  
et d'Odonto-Stomatologie ;**

**Vice Recteur de l'Université de Bamako.**

Cher maître vous nous faites un grand honneur en acceptant de présider ce jury de thèse malgré vos multiples occupations.

Honorable Professeur, votre simplicité et votre modestie font de vous un homme admirable.

Nous avons été impressionnées par votre sens élevé de la personnalité humaine.

Votre disponibilité votre rigueur dans le travail et vos qualités d'Homme de science et de culture font de vous un exemple à suivre.

Veillez accepter cher Maître, nos sentiments d'estime et de profond respect.

## **A NOTRE MAÎTRE ET JUGE**

**Professeur Sounkalo Dao ;**

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

**Responsable des cours des Maladies Infectieuses à la Faculté  
de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie ;**

**Investigateur Clinique au CeReFo sur la tuberculose /VIH.**

Cher Maître, malgré vos multiples préoccupations, vous avez accepté de juger ce travail.

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

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

## **A NOTRE MAÎTRE ET JUGE**

**Docteur Massanbou SACKO ;**

**Chargé de Lutte Contre la Maladie à l'OMS ;**

**Maître assistant et chargé de cours en Santé Publique à la  
faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie.**

Cher maître,

Vous nous faites un grand plaisir en acceptant de juger ce travail.

Nous avons été séduit par vos qualités humaines et sociales.

Votre disponibilité permanente couplée à votre envie constante de bien faire fait de vous, un maître exemplaire.

Cher maître, Recevez, par ce travail le témoignage de notre profonde reconnaissance.



## **A NOTRE MAÎTRE ET CO- DIRECTEUR DE THESE**

**Docteur Souleymane Diallo ;**

**Pharmacien biologiste, Colonel des forces armées du Mali**

**Chef du laboratoire d'analyse médicale de l'hôpital Gabriel  
Touré ;**

**Maître Assistant en bactériologie et virologie à la Faculté de  
Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie.**

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

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

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

Cher maître veuillez trouver ici notre profond respect et nos sincères remerciements.

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

**Professeur Flabou BOUGOUDOGO ;**

**Maître de conférence agrégé en Bactériologie et Virologie à la  
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-  
Stomatologie :**

**Directeur Général de l'Institut National de Recherche en  
Santé Publique :**

**Responsable des cours de bactériologie et virologie à la  
Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-  
Stomatologie.**

Cher Maître, nous vous sommes infiniment reconnaissant d'avoir  
accepté de siéger dans ce jury ; vous nous avez toujours montré  
un grand intérêt pour tout ce qui touche notre formation.

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

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



# ***Abréviation et Sigles***

**AZT** : Zidovudine

**ARV** : Antirétroviraux

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

**CESAC** : Centre d'écoute, de soins d'animation et de conseil

**CPK** : Créatine Phosphokinase

**CHU** : Centre Hospitalier Universitaire

**DDC** : Zalcitabine

**DDI** : didanosine

**D4T** : Stavudine

**EFZ** : Efavirenz

**ELISA** : Enzyme Linked Immunosorbent Assay

**EDS** : Enquête Démographique et de Santé

**ELA** : Enzyme Linked Immuno Assay

**EPH** : Etablissements publics à caractère Hospitalier

**EDTA** : Acide Ethylène Diamine Tétra- Acétique

**ENV** : Enveloppe

**GAG** : Groupe Antigènes

**GP** : Glycoprotéine

**IST** : Infection Sexuellement Transmissible

**IMAARV** : Initiative Malienne d'Accès aux Antirétroviraux

**INRT** : Inhibiteur nucléosidique de la reverse transcriptase

**INNRT** : Inhibiteur non nucléosidique de la reverse transcriptase

**IP** : Inhibiteur de la protéase

**NVP** : Nevirapine

**NASBA**: Nucleic Acid System Based assay

**PNLS** : Programme National de Lutte contre le Sida

# **PLAN**

**1. INTRODUCTION**

**2. GENERALITES SUR LE VIH**

**3. METHODOLOGIE**

**4. RESULTATS**

**5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION**

**6. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

# Sommaire

<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>OBJECTIFS.....</b>	<b>3</b>
<b>2. GENERALITES.....</b>	<b>5</b>
<b>2.1. Historique.....</b>	<b>5</b>
<b>2.2. Définition.....</b>	<b>6</b>
<b>2.3. Structure.....</b>	<b>7</b>
<b>2.4. Cycle de réplication.....</b>	<b>10</b>
<b>2.5. Transmission.....</b>	<b>13</b>
<b>2.6. Stabilité physico-chimique.....</b>	<b>14</b>
<b>2.7. Diagnostic.....</b>	<b>15</b>
<b>2.7.1. Dépistage et confirmation.....</b>	<b>15</b>
<b>2.7.1.1. Tests de dépistage .....</b>	<b>15</b>
<b>2.7.1.2. Tests de confirmation.....</b>	<b>20</b>
<b>2.7.2 Diagnostic moléculaire.....</b>	<b>30</b>
<b>2.7.2.1. Technique de PCR.....</b>	<b>30</b>
<b>2.7.2.2. Détermination de la charge virale.....</b>	<b>30</b>
<b>2.7.3. Diagnostic virologique de l'infection à VIH chez le nouveau-né et le nourrisson.....</b>	<b>31</b>
<b>2.8. Traitement.....</b>	<b>35</b>
<b>3. METHODOLOGIE.....</b>	<b>38</b>
<b>3.1. Cadre de l'étude.....</b>	<b>38</b>
<b>3.2. Population d'étude.....</b>	<b>39</b>
<b>3.3. Type d'étude.....</b>	<b>39</b>
<b>3.4. Critères d'inclusion et non inclusion.....</b>	<b>40</b>
<b>3.4.1. Critères d'inclusion.....</b>	<b>40</b>
<b>3.4.2. Critères de non inclusion.....</b>	<b>40</b>
<b>3.5. Echantillonnage.....</b>	<b>40</b>
<b>3.5.1. Méthode et technique d'échantillonnage.....</b>	<b>40</b>

<b>3.5.2. Taille de l'échantillon.....</b>	<b>40</b>
<b>3.5.3. Variables à l'étude.....</b>	<b>40</b>
<b>3.6. Condition de sécurité au laboratoire.....</b>	<b>41</b>
<b>3.7. Optimisation des conditions opératoires.....</b>	<b>41</b>
<b>3.8. Méthodes de laboratoire.....</b>	<b>43</b>
<b>4. RESULTATS.....</b>	<b>72</b>
<b>5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION.....</b>	<b>88</b>
<b>6. CONCLUSION.....</b>	<b>92</b>
<b>7. RECOMMANDATIONS .....</b>	<b>93</b>
<b>8. REFERENCES.....</b>	<b>94</b>

# ***Introduction***

## 1. INTRODUCTION

La pandémie du VIH et du SIDA demeure toujours après deux décennies de lutte, un problème majeur de santé publique dans le monde. Ses conséquences humaines, sociales et économiques pèsent lourdement sur les pays en développement et particulièrement en Afrique. **[13]**

Le VIH et SIDA continuent de progresser de façon significative à travers le monde sans distinction de sexe et d'âge et ceci malgré des efforts soutenus dans la sensibilisation à travers des explications scientifiques claires sur le mode de transmission et également les moyens de prévention. **[13]**

Selon les derniers chiffres publiés aujourd'hui par l'ONU SIDA/OMS dans Le point sur l'épidémie mondiale de SIDA, on estime à 39,5 millions le nombre de personnes vivant avec le VIH. Il y a eu 4,3 millions de nouvelles infections en 2006, dont 2,8 millions (65%) en Afrique subsaharienne, et d'importantes augmentations en Europe orientale et Asie centrale, où les données indiquent que les taux d'infection se sont élevés de plus de 50% depuis 2004. En 2006, 2,9 millions de personnes sont mortes de maladies liées au SIDA.

Ce nombre de décès par le SIDA dépassera sans aucun doute dans quelques années les 55 millions si des efforts massifs de prévention, de traitement et de prise en charge ne sont pas déployés. **[16]**

Selon les résultats de EDSM – III le taux de l'infection au Mali était de 1,7 % en 2001. **[20]** On a observé une baisse significative à 1,3 % en 2006 dans la population générale. **[21]**

Le premier cas de SIDA au Mali a été décrit en 1986 dans le service de gastro-entérologie de l'hôpital Gabriel Touré par l'équipe du professeur A. GUINDO. **[19]**

Depuis cette période les autorités du pays ont mis en place divers mécanismes de lutte contre le VIH et SIDA à travers la création du Programme National de Lutte contre le SIDA (PNLS) et le Haut Conseil National de Lutte contre le SIDA

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

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

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

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

## **OBJECTIF GENERAL :**

- ✓ Etudier le diagnostic biologique de l'infection à VIH par combinaisons de tests rapides chez les patients dépistés au laboratoire du Centre Hospitalier Universitaire Gabriel Touré du 1<sup>er</sup> janvier 2006 au 31 décembre 2007.

## **OBJECTIFS SPECIFIQUES :**

- ✓ Décrire les techniques de diagnostic du VIH ;
- ✓ déterminer la fréquence de séropositivité du VIH des patients de l'hôpital et des volontaires dépistés au laboratoire du CHU Gabriel Touré de 2006 à 2007 ;
- ✓ Déterminer la fréquence du VIH-1, VIH-2 et de la co-infection VIH-1+VIH-2 ;
- ✓ déterminer le profil socio- démographique des patients infectés par le VIH ;
- ✓ identifier les différents problèmes affectant les activités de dépistage du VIH au laboratoire du CHU Gabriel Touré.

# *Généralités sur le VIH*

## **2. Généralités sur le VIH**

### **2.1 Historique**

L'histoire du SIDA débute en Juin 1981 lorsque le Center for Disease Control d'Atlanta est informé de l'utilisation de la pentamidine dans les Hôpitaux de Los Angeles pour traiter cinq jeunes adultes atteints d'une forme particulièrement grave de pneumocystose pulmonaire. La survenue d'autres cas semblables chez des homosexuels et des toxicomanes aboutit à individualiser une nouvelle entité clinique, se manifestant par une altération de l'immunité cellulaire et donc appelée Syndrome de l'Immunodéficience Acquis (SIDA). L'épidémiologie a d'emblée suggéré une transmission par un agent pathogène présent dans le sang et les humeurs. L'hypothèse rétrovirale a très rapidement été avancée d'autant qu'il existait plusieurs modèles animaux de déficits immunitaires impliquant cette famille de virus et que le virus HTLV-1 (Human T-cell Leukemia/Lymphoma Virus) venait d'être isolé chez des malades atteints de leucémies et lymphomes T humains.

L'agent causal du SIDA est le virus VIH-1 (pour : Virus de l'Immunodéficience Humaine ; auparavant LAV/HTLV-III) isolé pour la première fois par F. BARRE-SINOSSI et coll. A l'Institut Pasteur en 1983 et par la suite aux Etats-Unis en 1984. Il est responsable de la pandémie actuelle. Un deuxième virus, appelé VIH-2, a été identifié en 1985 puis isolé en 1986. Ce second virus est présent essentiellement en Afrique de l'Ouest et est également associé au SIDA. [2]

Au Mali, après l'identification du premier cas de SIDA en 1985 à l'Hôpital Gabriel Touré, un plan à court terme de lutte contre le SIDA 1987-88 a été mis en œuvre, puis un premier plan à moyen terme (PMT1) 1989-93, suivi d'un deuxième plan à moyen terme (PMT2) de 1994-98

Le Plan Stratégique National de lutte contre le VIH et SIDA pour la période 2001-2005 a été adopté par le Conseil des Ministres du 30 Novembre 2000, dans un contexte encore marqué par bien d'autres défis. En effet, même si les tendances macro-économiques sont à la croissance, des défis majeurs tels que la lutte contre la pauvreté et l'appauvrissement continu des populations, l'accès à l'eau potable, à la santé et à l'éducation sont plus que jamais présents. Un Programme National de Lutte Contre le SIDA (PNLS) est en place depuis la création du premier plan à court terme jusqu'à nos jours. [11]

## **2.2. Définition :**

VIH (Virus de l'Immunodéficience Humaine)

SIDA (Syndrome de l'Immunodéficience Acquis).

C'est un rétrovirus qui affecte principalement les lymphocytes T CD4 et qui est l'agent responsable du Syndrome de l'Immunodéficience Acquis. Ils existent deux types de VIH : VIH-1 et VIH-2 qui appartiennent :

### **❖ Famille :**

La famille des *Retroviridae* ou des Rétrovirus car il possède la transcriptase inverse, qui a la propriété de rétro-transcrire le matériel génétique viral (ARN) en ADN appelé pro-viral.

❖ **Genre :**

Les *Lentivirus*, c'est-à-dire qui provoque une maladie à évolution lente. Actuellement, la famille des rétrovirus qui recouvre en faite toute particule possédant une transcriptase inverse, est divisée en trois sous groupes selon des paramètres phylogénétiques :

- *Oncovirus*,
- *Lentivirus*,
- *Spamavirus*,

Mais c'est le groupe des *Lentivirus* qui nous intéresse car le VIH y appartient. [1]

**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 chroniques.

Ce groupe comprend :

- le *Virus-Maedi* : responsable de la leuco-encéphalomyélite du mouton.
- Les virus VIH-1 et VIH-2 responsables de l'immunodéficience humaine. [4]

### **2.3. Structure**

La structure du VIH comporte :

❖ **Une enveloppe virale** constituée d'une double bicouche lipidique et de deux sortes de glycoprotéines : gp120 et gp 41. La molécule gp 41 traverse la bicouche lipidique tandis que la molécule gp120 occupe une position plus périphérique : Elle joue

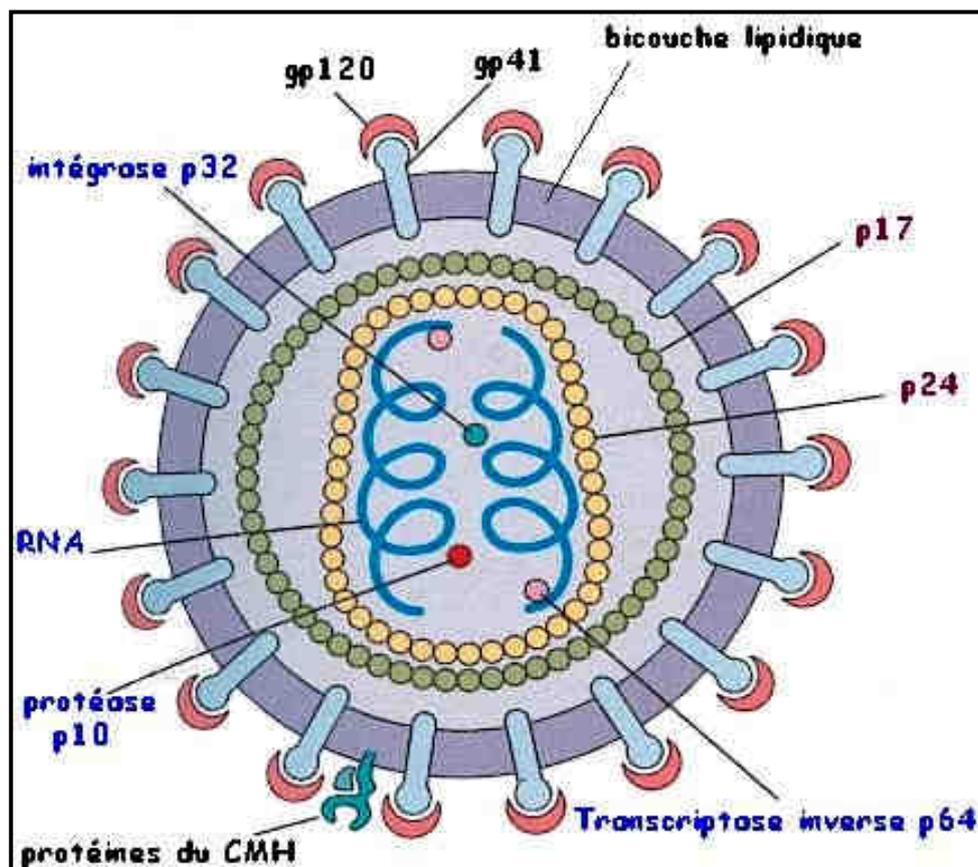
le rôle de récepteur virale de la molécule membranaire CD4 des cellules hôtes. L'enveloppe virale dérive de la cellule hôte. Il en résulte qu'elle contient quelques protéines membranaires de cette dernière, y compris des molécules du CMH (complexe majeur d'Histocompatibilité).

❖ **Un core viral ou nucléocapside**, qui inclut une couche de Protéine p17 et une couche plus profonde de protéines p24.

❖ Un **génom**e constitué de deux copies d'ARN simple brin associées à deux molécules de transcriptase inverse (p64) et à d'autres protéines enzymatiques (protéase p10 et intégrase p32).

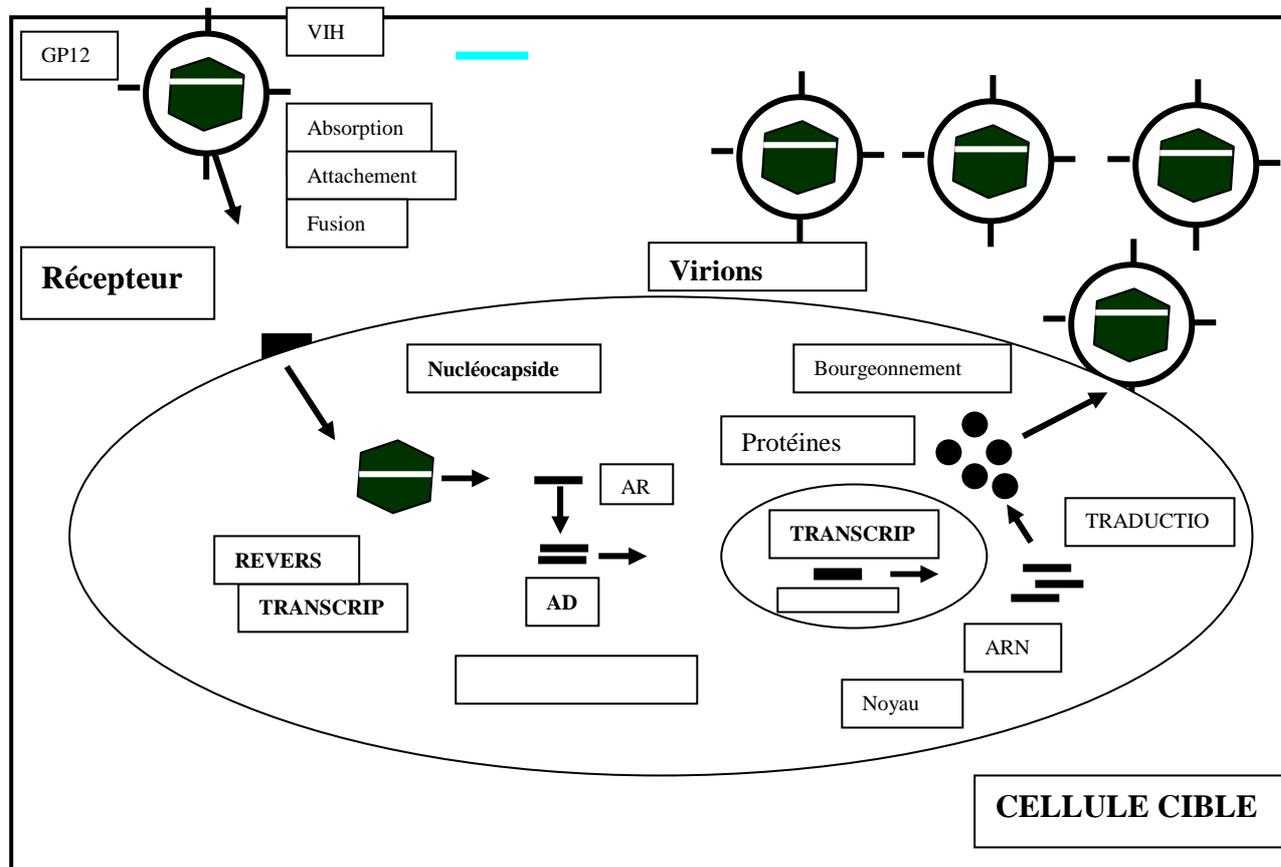
**[4]**

## Schéma organisationnel du VIH



**Figure 1 : Schéma organisationnel du VIH [22]**

## 2.4. Cycle de réplication



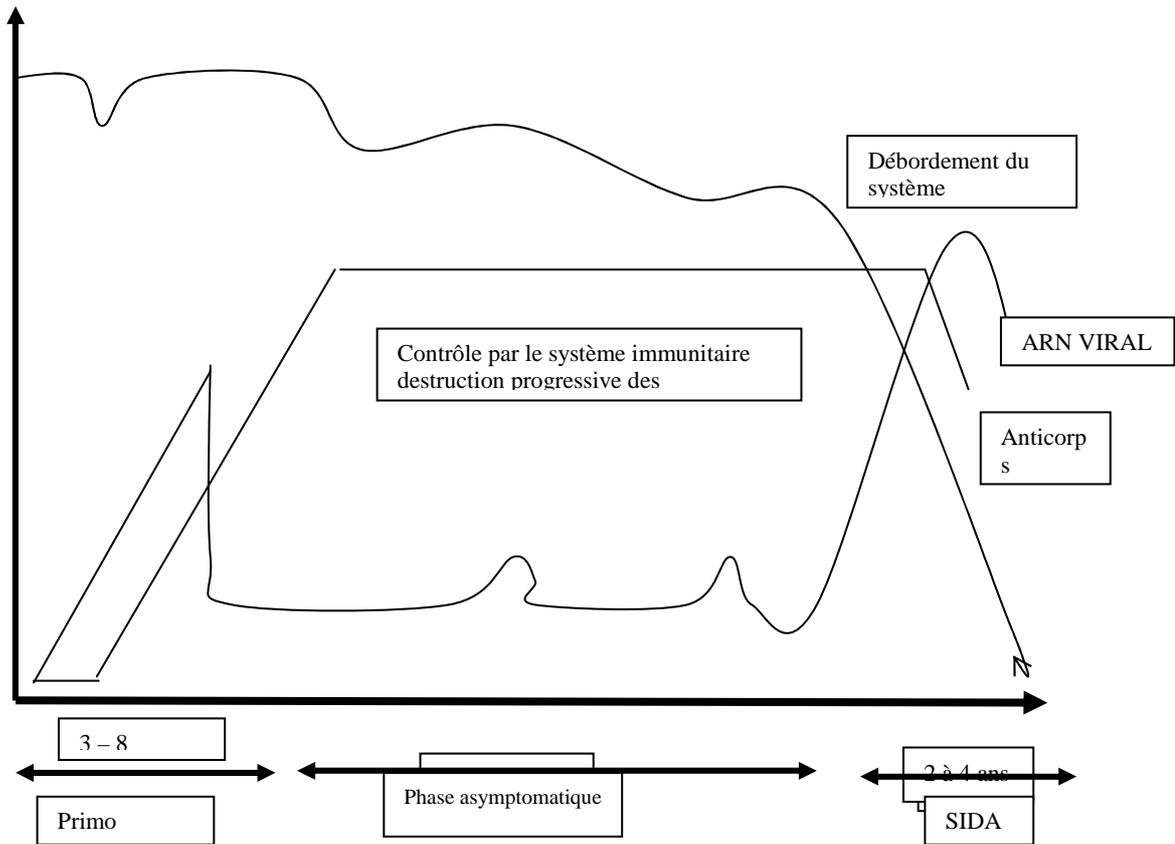
**Figure 2 : Cycle de vie du VIH**

Le virus se fixe à la surface d'une cellule via les récepteurs CXCR-4, CCR-5, fusionne avec la membrane cellulaire et déverse son contenu dans la cellule. L'enzyme virale nommée transcriptase inverse recopie l'ARN du virus en ADN double brin.

Ce dernier est incorporé dans l'ADN cellulaire grâce à une enzyme appelé intégrase. La machinerie de la cellule produit des protéines et de l'ARN viraux à partir de l'ADN intégré, ou pro virus.

Une troisième enzyme, la protéase, découpe les protéines virales ainsi synthétisées, leur permettant de s'associer à l'ARN pour former de nouvelles particules virales qui bourgeonnent vers l'extérieur de la cellule et infectent de nouvelles cellules. **[3]**

### Evolution naturelle de l'infection par le VIH



**Figure 3 : Evolution naturelle de l'infection par le VIH**

L'infection commence par une forte augmentation du nombre de particules virales dans le sang (ARN viral) et par un effondrement consécutif du nombre des lymphocytes CD4+, les cibles privilégiées du VIH. Puis le système immunitaire retrouve une efficacité qui abaisse la charge virale et la rend quasi constante pendant plusieurs années. Plus tard, la charge virale augmente et les lymphocytes T CD4 s'effondrent définissant la phase du SIDA. [3]

## **2.5. Transmission**

### **Les modes de transmissions**

La prédominance d'un mode de transmission est influencée par des facteurs géographiques et socio-économiques, plus d'un des modes de transmission cités ci-dessous est responsable de l'épidémie VIH et SIDA

#### **2.5.1. Voie sexuelle**

- Le mode hétérosexuel (homme femme)

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

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

Actuellement les femmes sont les plus touchées.

- Le mode homosexuel (homme homme)

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

#### **2.5.2. Voie parentérale**

- transmission sanguine

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

Il faut transmettre du sang sécurisé

- consommation des drogues injectables (CDI) du faite de l'utilisation en commun.
- Accidents dûs à des piqûres par des aiguilles infectées

### **2.5.3. Voie périnatale ou verticale**

- In utero au cours du travail et de l'accouchement
- post-partum durant l'allaitement. **[2]**

### **2.6. Stabilité physico-chimique**

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

## **2.7. Diagnostic**

### **2.7.1. Dépistage et confirmation**

#### **2.7.1.1. Tests de Dépistage**

Le diagnostic virologique de l'infection à VIH est avant tout un diagnostic sérologique basé sur la recherche d'anticorps anti-VIH par méthode immuno-enzymatique (ELISA) ou autre méthode immunologique de sensibilité équivalente. Ceci est dû à la présence constante des anticorps anti-VIH détectables dès les premières semaines qui suivent la contamination, et à la praticabilité du dépistage sérologique. La législation oblige à pratiquer en biologie médicale deux tests de dépistage différents pour chaque sérum testé afin de pallier d'éventuelles carences soit de réactif soit de manipulation. Les réactifs de dépistage utilisés sont essentiellement mixtes, c'est-à-dire capables de détecter les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2.

Le diagnostic des infections à VIH repose chez l'adulte sur la détection des anticorps. Le développement des techniques de biologie moléculaire ne permet pas pour l'heure de remplacer les techniques sérologiques qui restent partout dans le monde les techniques de références pour le dépistage et la confirmation des infections VIH de l'adulte. Seul le diagnostic précoce dans les premiers mois de vie chez l'enfant né de mère séropositive nécessite la mise en évidence du virus, de ses composants ou de son génome.

Il existe désormais de très nombreux tests disponibles pour la détection des anticorps anti-VIH. Ils reposent sur des concepts différents (tests indirects, tests sandwich, tests compétition,...), des supports différents (microplaques, microparticules,

immunofiltres,...), une technologie différente (technologie microplaque classique, automates, tests unitaires,...). A côté des tests ELISA, des tests d'agglutination (particules de gélatine sensibilisées) sont également disponibles.

### **Principe des tests de dépistage**

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

Plusieurs formats de tests sont disponibles :

#### **Les tests ELISA :**

❖ **Les tests EIA indirect** : la fixation des anticorps du patient sur les antigènes du kit est révélée par une anti-globuline humaine anti-IgG marquée par une enzyme ce sont des tests robustes, peu sensibles aux variations des épitopes des variants VIH surtout si les antigènes sont du lysat viral. Mais ils manquent de sensibilité lors de la primo-infection car ils sont incapables de détecter les iso types d'immunoglobulines non G. Leur spécificité est médiocre, les immunoglobulines non spécifiques pouvant se fixer sur le support solide et être révélées par l'anti-globuline marquée.

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

❖ **Les tests EIAs par immunocapture** : les immunoglobulines du patient se lient par leur extrémité Fc à des antiglobulines anti-Fc de la phase solide. La révélation de liaison se fait par des antigènes marqués, se fixant sur les sites Fab des anticorps restés libres. Ils permettent de détecter des immunoglobulines même en cas de forte dilution dans des milieux comme l'urine ou la salive. Cependant ils sont légèrement moins sensibles que les tests de troisième génération lors des séroconversions (4) mais leur spécificité est bonne.

❖ **Les tests EIA par compétition** utilisent la différence d'affinité pour un antigène entre les anticorps anti-VIH du patient et un anticorps anti-VIH marqué par une enzyme. Les tests par compétition commercialisés utilisent uniquement des antigènes VIH-1 du groupe M. Ces tests sont hautement spécifiques. En cas de forte réactivité, l'infection VIH-1 groupe M est certaine. Les infections par VIH-2 et VIH-O sont non ou mal détectées (5. 6) et cette spécificité peut être utilisée pour différencier le type de souche infectante.

**Les tests rapides** : ce sont le plus souvent des tests par filtration du sérum sur une membrane ou un support recouvert d'antigènes recombinants VIH-1 et VIH-2. Ils ne nécessitent aucun équipement et sont réalisées à moins de 30 minutes. La simplicité d'emploi leur assure une large diffusion dans les pays en voie de développement. D'autres tests de réalisation simples sont les tests par agglutination de particules sensibilisées aux antigènes VIH. Ils sont généralement sensibles et de réalisation simple mais l'interprétation peut être parfois difficile. De réalisation unitaire et rapide, ils sont faciles d'exécution. Pour l'ensemble de ces tests, l'absence de résultats quantifiés et enregistrés sur support papier sont des obstacles à la traçabilité des manipulations. [6]

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

Exemple :

Les tests rapides non discriminants avec une sensibilité élevée

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

Les tests rapides discriminants avec une spécificité élevée

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

## ❖ Evolution des tests rapides

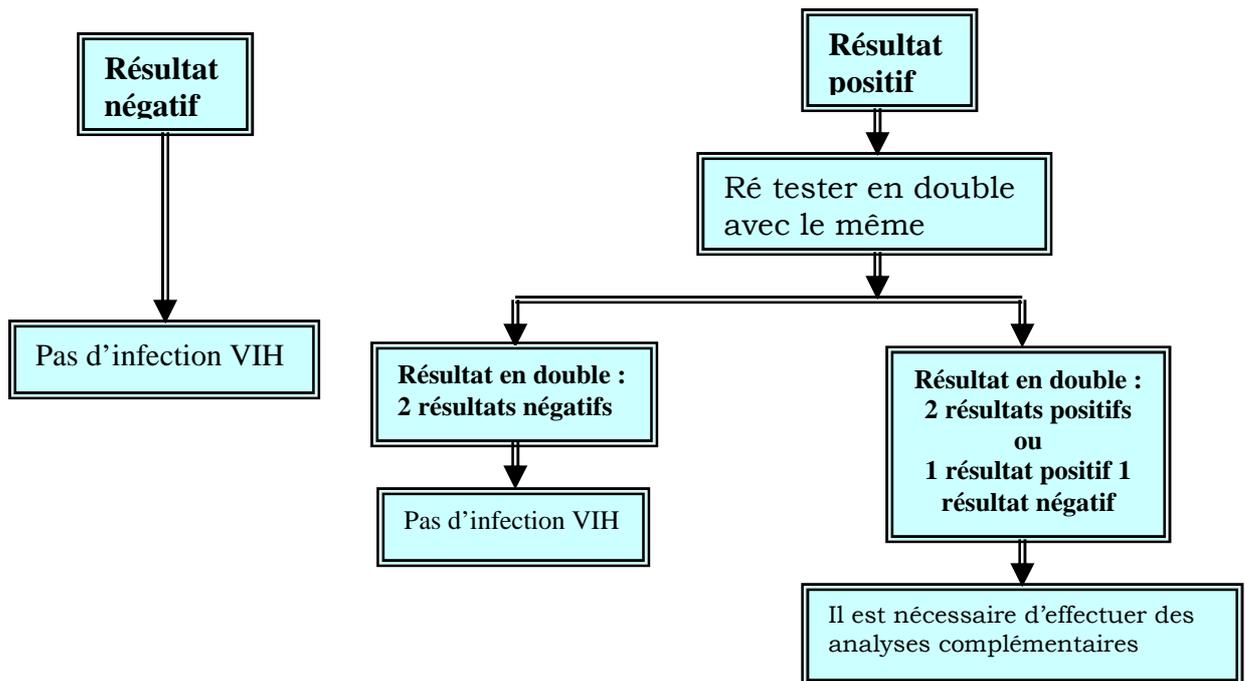
### Détermine HIV-1/2

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

### ImmunoComb II HIV-1/2

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

- ✓ La détection de la séroconversion
- ✓ La détection de l'antigène P24
- ✓ Le signale de séparation pour l'antigène P24 et anticorps du VIH
- ✓ Permet de différencier l'anticorps VIH-1 et VIH-2
- ✓ La détection de tous les types et sous types du VIH 1
- ✓ En plus de la détection des anticorps VIH-1/2, cet excellent Kit de 4eme génération est capable de détecter le VIH1 antigène P24, ceci à une période très précoce de l'infection entre le 7-10 jours.



**Figure 4 : Algorithme pour l'interprétation des tests de Sérologie utilisant un format de 4<sup>ème</sup> génération**

(Détection combinée des antigènes et des anticorps) ou de 4<sup>ème</sup> génération « Advanced » (orientation quant à l'origine de la positivité avec une réponse anticorps et antigène différenciée.

### 2.7.1.2. Tests de confirmation :

**La technique de Western Blot (WB)** est une méthode de référence mais son interprétation peut être délicate. Le recours au WB pour une confirmation VIH n'est pas systématique dans tous les pays, y compris dans les pays industrialisés. Elle est parfois informative permettant d'évoquer une séroconversion récente ou une infection par des variants. Le plus souvent en cas d'infection VIH, le WB sera pleinement réactif et donnera peu d'information complémentaire. Inversement, en cas de non infection, des réactivités non spécifiques sont fréquentes et d'interprétation difficile. Aussi des alternatives au WB sont

nécessaires pour éviter un recours systématique à cet examen coûteux. Le WB est une technique de transfert sur la nitrocellulose, après migration électrophorétique en gel de polyacrylamide, de protéines d'un lysat viral VIH-1 ou VIH-2. Sur la bandelette de WB. Différentes protéines constitutives des virus seront reconnues par des anticorps spécifiques anti-VIH-1 ou VIH-2.

**Les immunoblots utilisant des protéines de synthèse :** ces tests de commercialisation récente et d'un coût aussi élevé que celui du WB proposent différentes protéines recombinantes ou peptidiques sous forme de strip sur bandelette ou de spot sur support plastique. Ces tests ne sont qu'une présentation sur un format différent des antigènes de synthèse utilisés lors des examens de dépistage et n'apportent aucune information complémentaire. [6]

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

### ❖ **Stratégie du dépistage**

Le choix d'une stratégie repose sur :

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

#### **Stratégie I :**

Les échantillons sont testés par ELISA ou par une méthode simple /rapide. En cas de réaction positive, le sérum est considéré comme positif pour les anticorps anti-VIH. S'il n'y a pas de réaction, le sérum est considéré comme négatif.

Aux fins de la sécurité transfusionnelle, il convient de choisir le test le plus sensible. Si le résultat est positif, le don de sang doit être éliminé selon les mesures de précaution universelles.

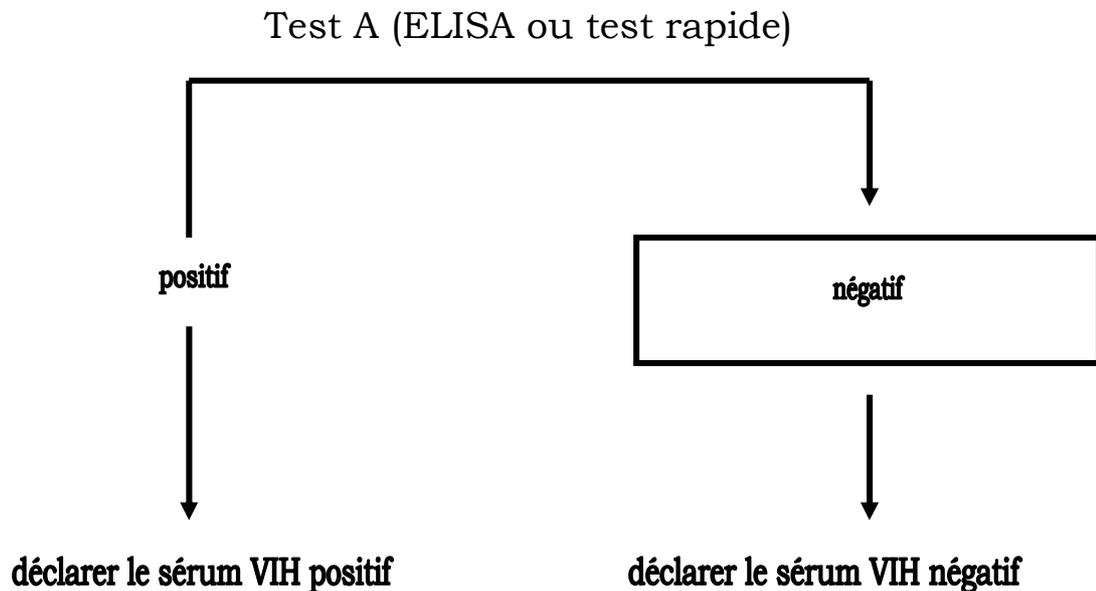
Pour diagnostiquer et rendre un résultat à un donneur ou à un patient il faudrait le plus souvent utiliser les stratégies II ou III.

#### Stratégie I

##### Surveillance des dons du sang

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

## = Un seul test de dépistage



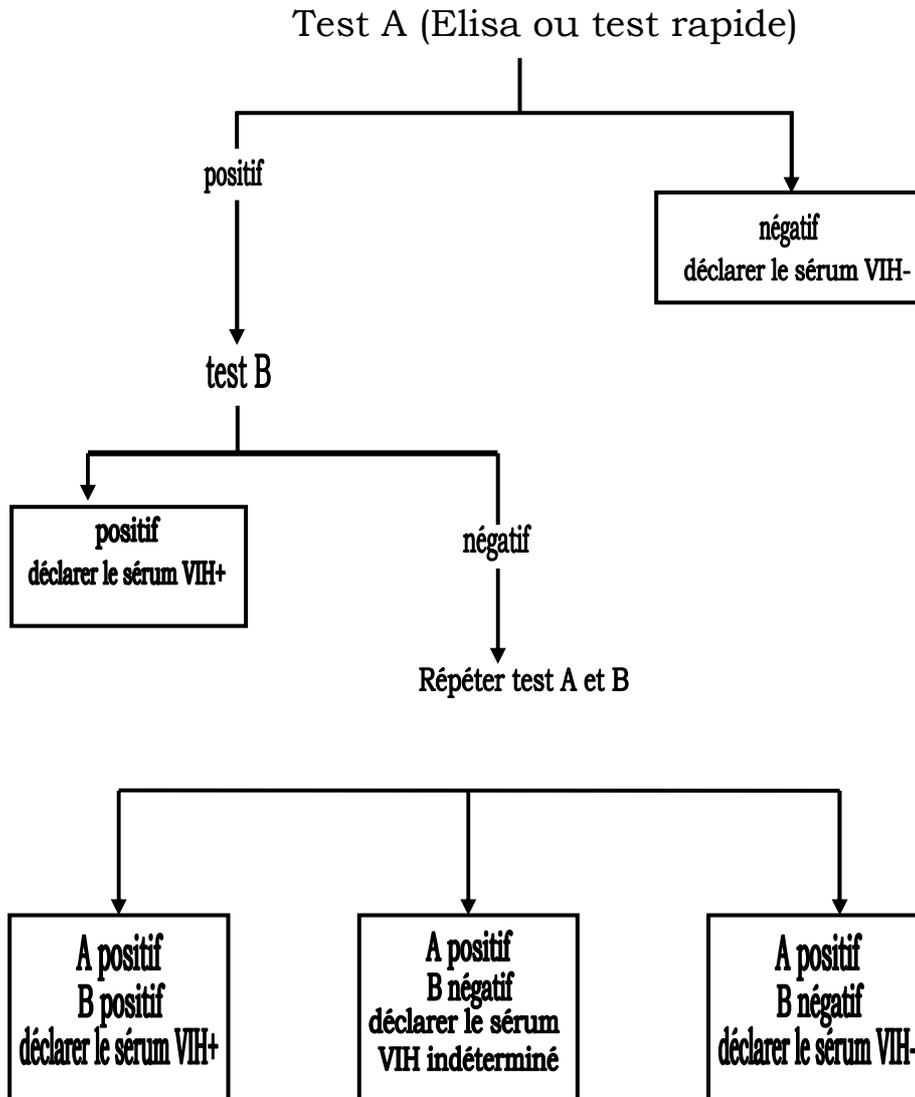
**Figure 5 :** Représentation schématique de la stratégie I alternative de sérodiagnostic de l'infection à virus de l'immunodéficience humaine (VIH) n'exigeant pas le recours au test Western Blot destinée au dépistage des dons du sang et à réaliser un diagnostic clinique chez des sujets symptomatiques (prévalence de l'infection attendue >30%) [6]

## ❖ **Stratégie II :**

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

- ⇒ Un sérum qui réagit avec les 2 tests A et B est considéré comme positif pour les anticorps anti-VIH.
- ⇒ Un sérum qui ne réagit pas à la première épreuve (test A) est considéré comme négatif.
- ⇒ Tout sérum qui réagit à la première épreuve (test A positif) mais pas à la deuxième (test B négatif) doit être retesté par ces mêmes trousses. Si les résultats concordent après répétition (les 2 tests A et B sont positifs ou les deux tests A et B sont négatifs) le sérum est considéré soit positif, soit négatif. Si les résultats des 2 épreuves A et B demeurent discordants, le sérum est considéré comme indéterminé.
- ⇒ Surveillance épidémiologique si la prévalence est  $< 10\%$
- ⇒ Diagnostic pour patient symptomatique (signe clinique évocateurs d'infection VIH) et prévalence  $< 30\%$
- ⇒ Diagnostic pour patient asymptomatique et prévalence  $> 10\%$

## = Application séquentielle de deux tests de dépistage



**Figure 6 :** Représentation schématique de la stratégie II alternative de sérodiagnostic de l'infection à virus de l'immunodéficience humaine (VIH) n'exigeant pas le recours au test western Blot destinée à la séro-surveillance dans une population où la prévalence attendue est inférieure à 10% au diagnostic clinique de sujets symptomatiques (prévalence attendue <30%) et asymptomatiques (prévalence attendue >10%). [6]

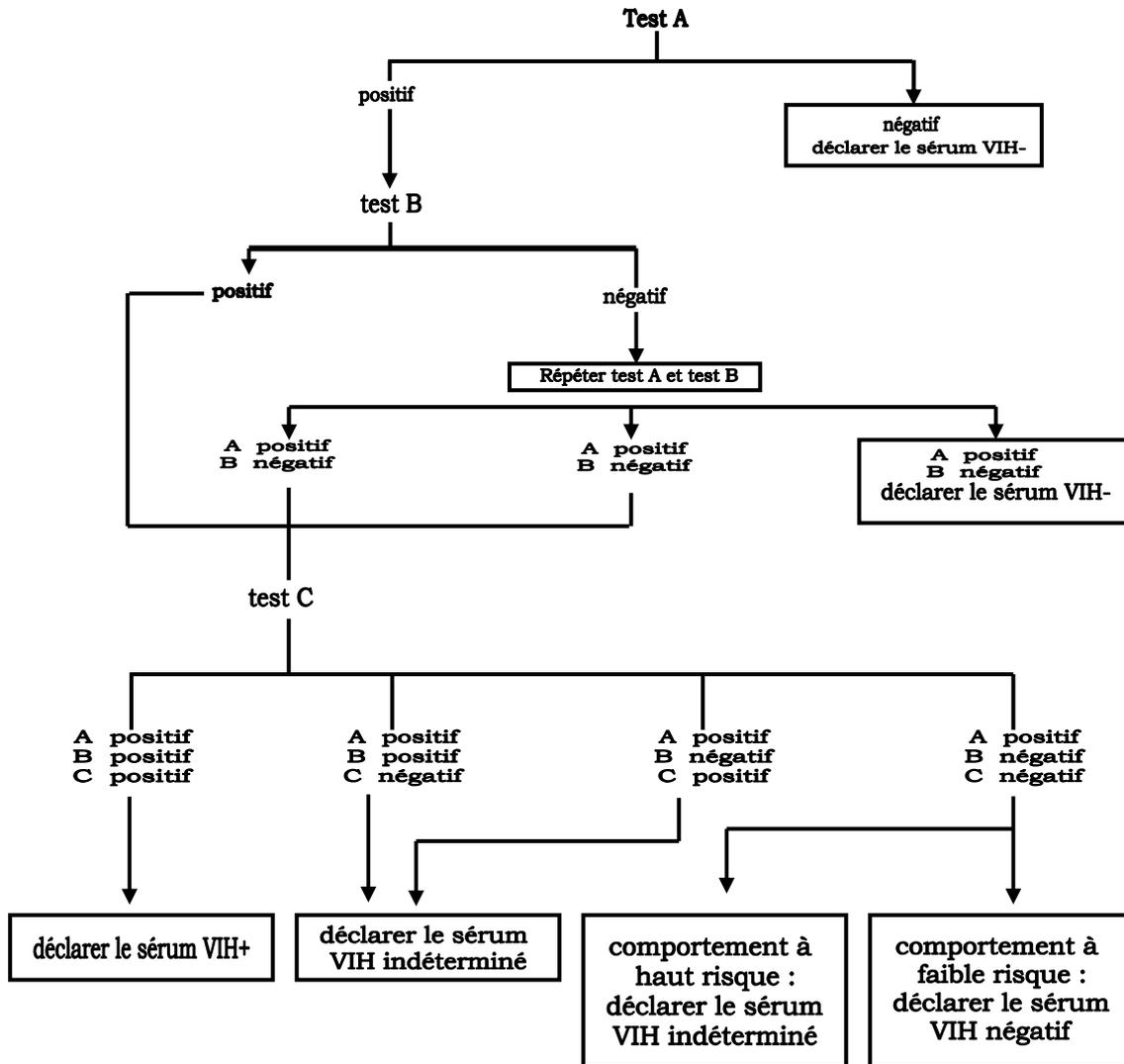
### ❖ **Stratégie III :**

Lorsqu'il s'agit de tester des populations où la prévalence du VIH est peu élevée, même en utilisant un test dont la spécificité est élevée, la valeur prédictive positive sera faible. En conséquence, un test supplémentaire s'impose : c'est la stratégie III.

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

⇒ diagnostic pour patient asymptomatique et prévalence >10%

## = Application séquentielle de trois tests de dépistage



**Figure 7:** Représentation schématique de la stratégie III alternative de sérodiagnostic de l'infection à virus de l'immunodéficience humaine (VIH) n'exigeant pas le recours au test western Blot destiné au diagnostic clinique de sujet asymptomatiques. [6]

Etant donné la précocité d'apparition des anticorps anti-p24, certains fabricants de réactifs ont choisi d'inclure cet antigène de

capside dans leurs tests. Quel que soit le format du test de détection des anticorps anti-VIH, ne sont disponibles pour le dépistage que les réactifs ayant obtenu l'autorisation de mise sur le marché par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSPS) et satisfaisant aux critères stricts de sensibilité et de spécificité exigés lors des expertises d'enregistrement et de réactovigilance régulièrement organisées.

Etant donné les implications pour le patient d'une séropositivité HIV, ainsi que l'existence de réactions faussement positives par ELISA, il est absolument obligatoire de pratiquer un test de confirmation avant de délivrer un résultat positif.

Le western blot (ou immuno transfert) est actuellement le test de confirmation de choix. Cette technique, qui consiste très schématiquement en un test ELISA sur bandelette, permet de visualiser précisément la présence d'anticorps anti-protéines structurales du VIH. Il est ainsi possible de mettre en évidence les anticorps dirigés contre les produits des trois grands gènes, *gag*, *pol* et *env*. Les protéines gag (ou protéines internes, dites de core) les plus intéressantes pour le western blot sont le précurseur p55 et les protéines matures p24 et p17. Les protéines pol, correspondant aux enzymes virales, sont représentées principalement par les antigènes p66 et p32. Les protéines env (ou protéines d'enveloppe) sont les antigènes les plus importants pour le diagnostic ; ce sont les protéines gp 160 (précurseur), gp 120 (GPSU) et gp41 (GPTM). Les immunoblots peuvent utiliser soit les protéines virales issues du virus purifié et dissocié (lysats viral), soit des antigènes recombinants. Le test étant réalisé dans des conditions satisfaisantes, il reste à interpréter correctement

les résultats. Dans la grande majorité des cas, cette interprétation ne pose pas de problème. L'Organisation Mondiale de la Santé recommande la présence au minimum d'anticorps dirigés contre les produits de deux gènes incluant obligatoirement le gène *env* (anti-env + pol ou anti-env + gag), ou éventuellement la présence d'anticorps dirigés contre seulement deux protéines d'enveloppe, pour affirmer la séropositivité. Cependant, il existe des difficultés qui obligent le biologiste à une grande prudence dès que le résultat observé n'est pas celui d'une franche positivité. [2]

## **2.7.2. Diagnostic moléculaire**

Le diagnostic et le suivi des patients infectés par le VIH ont grandement bénéficié des progrès réalisés dans le domaine des outils moléculaires. Ainsi, deux types d'approches sont utilisés dans le cadre de l'infection à VIH. Il s'agit de recherche qualitative (diagnostic) ou quantitative (suivi de la charge virale plasmatique).

### **2.7.2.1. Recherche qualitative par amplification génique (PCR= «Polymérase Chain Réaction»)**

La PCR est une technique particulièrement sensible permettant de mettre en évidence des quantités très faibles de séquences nucléotidiques dans un prélèvement biologique. Elle consiste à répéter des séquences virales conservées à l'aide d'oligonucléotides de synthèse puis à les amplifier de façon à obtenir un signal intense qui sera identifié par l'utilisation d'une sonde virale spécifique. Différentes régions conservées du génome viral peuvent être ainsi amplifiées. Il s'agit préférentiellement de séquences localisées dans les gènes les plus conservés à savoir *gag* et *pol*, voire dans les LTR. Appliquée à l'infection à HIV cette méthode permet de détecter des séquences spécifiques dans près de 100 % des prélèvements de sang provenant de sujets séropositifs. La PCR permet de détecter soit des séquences intégrées (ADN pro viral) soit de l'ARN virionique après rétro transcription (RT-PCR). La sensibilité est de l'ordre de 10 copies pour l'ADN pro viral et de 20 copies pour l'ARN. Cette sensibilité peut être remise en cause pour des variants distants des souches de sous-type B pour lesquels les amorces sont non adaptées. L'un des problèmes majeurs de la PCR est lié au risque de

contamination par les produits d'amplification. Il est donc indispensable d'être très prudent et critique dans l'interprétation des résultats positifs.

L'amplification génique peut également être réalisée par les techniques TMA (Transcription Mediated Amplification) ou NASBA (Nucleic Acid System Based assay) utilisant une méthodologie isotherme à l'aide de deux ou trois enzymes. D'autres approches méthodologiques sont en développement.

Dans le domaine strict du diagnostic cette recherche qualitative a une seule indication : le dépistage de l'infection chez le nouveau né de mère HIV séropositive. Elle peut être accessoirement utile pour lever le doute sur certains résultats de sérologie difficiles d'interprétation. [2]

#### **2.7.2.2. Détermination de la charge virale**

Si la pertinence de la détermination de la charge virale a été mise en évidence par des approches de virologie classique (quantification des virus infectieux ou quantification du nombre de cellules infectées), ce sont les techniques de la biologie moléculaire qui l'ont rendue accessible. Les premières techniques moléculaires utilisaient la quantification de l'ARN viral soit par la PCR en dilutions limites soit par PCR dite compétitive.

Depuis, des sociétés de diagnostic ont développé des tests de mesure de l'ARN HIV plasmatique donnant des résultats quantitatifs comparables. Il a été clairement montré que la quantification de l'ARN plasmatique était étroitement corrélée au titre infectieux du plasma, justifiant sa génération.

L'approche technique des tests de détermination de la charge virale est relativement différente. La trousse Quantiplex Chiron

est basée sur l'amplification du signal d'hybridation moléculaire (technique de l'ARN branché ou bDNA). Ce nouveau concept repose sur l'utilisation d'un énorme polymère d'ADN permettant une amplification considérable d'un signal. Ainsi contrairement à l'amplification génique, c'est le signal qui est amplifié et non la cible au niveau du génome viral, limitant ainsi les problèmes de contamination conduisant à des faux positifs. Les autres techniques (NASBA et PCR) s'effectuent en présence de contrôle(s) interne(s). [12]

### **2.7.3. Diagnostic virologique de l'infection à VIH chez le nouveau-né et le nourrisson**

Le diagnostic sérologique est difficile du fait de la présence des anticorps maternels. A la naissance le profil western blot des nouveaux-nés est dans la quasi-totalité des cas identique à celui de leur mère et les IgG maternelles peuvent persister jusqu'à l'âge de 15 mois. Le diagnostic indirect est donc très tardif puisqu'il faut attendre plusieurs mois pour obtenir à l'aide de western-blots réalisés sur des prélèvements séquentiels une réapparition ou une augmentation des anticorps dirigés contre certaines protéines virales. Contrairement à ce qui est pratiqué dans le diagnostic de certaines infections virales pour lesquelles la transmission transplacentaire est parfaitement documentée (rubéole, infection à cytomégalo virus), il n'existe pas de test fiable de mise en évidence précoce des anticorps anti-HIV de classe IgM. Le diagnostic de l'infection à VIH chez le nouveau-né ne peut donc reposer que sur l'isolement du virus ou bien la détection d'une antigénémie ou de séquences génomiques virales dans les lymphocytes périphériques.

L'isolement/identification du VIH par culture des lymphocytes périphériques du nouveau-né constitue le test de choix et de référence pour affirmer l'infection. Cependant cette recherche est longue, coûteuse et pratiquée uniquement dans les laboratoires de virologie équipés pour manipuler le VIH. De plus, un résultat d'isolement négatif à la période néonatale n'est pas synonyme de non infection de l'enfant. Bien que n'étant pas entièrement satisfaisante la surveillance régulière des nourrissons de mères séropositives par recherche virale dans les cellules mononuclées doit être pratiquée dès que les moyens techniques le permettent.

La recherche d'une antigénémie p24 par test ELISA est de pratique aisée et apporte, lorsqu'elle est positive, une information importante car elle correspond à la réplication virale *in vivo*. Lorsqu'elle est positive l'antigénémie est pratiquement toujours associée à un isolement viral par culture de lymphocytes, ce qui montre sa bonne spécificité. Mais il faut surtout noter que la recherche de l'antigénémie ne peut se substituer à la culture cellulaire car l'isolement viral est bien souvent positif avant que l'antigène p24 circulant n'apparaisse.

La mise en évidence par amplification génique de séquences virales VIH dans les PBMC (ou d'ARN viral plasmatique) des nouveau-nés constitue sans aucun doute une application essentielle de cette technique. Il a été notamment démontré que la détection de l'infection à VIH par PCR à la naissance était confirmée par l'isolement viral et/ou l'antigénémie quelques mois plus tard. Il faut cependant garder à l'esprit que, du fait de sa grande sensibilité associée à un risque de faux positif par contamination des échantillons par des produits d'amplification,

l'interprétation des résultats doit être faite avec une grande prudence. [2]

## **2.8. Aperçu sur le traitement du VIH et SIDA :**

La chimiothérapie anti-virale a fait d'énormes progrès au cours des dernières années et, depuis l'apparition de la première molécule anti-VIH disponible en 1986, l'AZT (Rétrovir®), la palette des anti-rétroviraux n'a cessé de s'élargir. Les molécules actuellement disponibles sont rassemblées dans trois familles : les inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques de la reverse transcriptase (INRT), les inhibiteurs non nucléosidiques de la reverse transcriptase (INNRT), et les inhibiteurs de la protéase (IP).

L'élargissement du nombre de molécules disponibles, ayant en plus des cibles virales différentes, a permis d'obtenir d'excellents résultats dans le cadre des associations thérapeutiques et d'améliorer considérablement l'évolution des patients.

Les monothérapies avec les molécules actuellement disponibles sont désormais déconseillées, sauf dans le cadre de la transmission maternofoetale, car leur efficacité est insuffisante. L'objectif du traitement étant de réduire la réplication virale le plus possible et le plus durablement possible l'association de plusieurs molécules anti-rétrovirales est la seule façon d'atteindre cet objectif et d'empêcher ainsi l'émergence de résistance du VIH.

La stratégie actuellement la plus adaptée consiste à associer en trithérapie deux INRT et un IP ou deux INRT et un INNRT, bien que l'on ne soit pas encore certain de la tolérance et de l'efficacité de cette stratégie à long terme. La décision de traiter un patient séropositif repose sur les propositions suivantes.

Le traitement est recommandé chez toutes les personnes symptomatiques et chez la plupart des personnes dont le nombre

de lymphocytes CD4 est  $< 350/\text{mm}^3$  quel que soit le niveau de la charge virale. On peut envisager de différer le traitement pour les patients ayant plus de 350 lymphocytes CD4/ $\text{mm}^3$  lorsque la situation immunologique (nombre de lymphocytes CD4) et virologique (charge virale plasmatique) est stable sous réserve d'une surveillance régulière de ces deux paramètres.

L'un des problèmes majeurs est l'apparition de mutants d'échappement aux traitements, sélectionnés par les molécules utilisées. Certaines mutations, tout particulièrement dans le gène de la reverse transcriptase sont associées à des résistances spécifiques à un anti-rétroviral. C'est le cas par exemple de la mutation Thr->Thr ou Thr->Phe au niveau du codon 215 associée à la résistance à l'AZT ou de la mutation Leu-<Val en position 74 associée à la résistance à la ddl (didanosine). Il existe des résistances croisées à plusieurs molécules. Certaines mutations peuvent avoir un effet synergique et d'autre un effet antagoniste ou compensateur réduisant ainsi le niveau de résistance à un anti-viral. Il est donc indispensable de tenir compte de ces propriétés dans le choix des molécules. Les tests *in vitro* de détermination des résistances phénotypique ou génotypique sont utiles pour guider le thérapeute. Leurs difficultés de réalisation pour les premiers, et d'interprétations (pertinence clinique et biologique) pour les seconds, limitent cependant leurs applications.

Des recherches sur d'autres alternatives thérapeutiques sont en cours. Il s'agit notamment de molécules ayant pour cibles les protéines TAT, NCp7 (nucléocapside) et l'intégrase, d'inhibiteurs

de la fixation du VIH sur les récepteurs ou co-récepteurs, ou d'inhibiteurs de la fusion de l'enveloppe virale.

**TABLEAU I : Les anti-rétroviraux [2]**

<b>Inhibiteurs nucléosidiques et nucléotidiques de RT</b>
Abacavir, ABC
Didanosine, ddl
Lamivudine, 3TC
Stavudine, d4T
Ténofovir, TDF
Zalcitabine, ddC
Zidovudine, AZT
<b>Inhibiteurs non nucléosidiques de la RT</b>
Delavirdine
Efavirenz
Névirapine
<b>Inhibiteurs de la protéase</b>
Amprenavir
Indinavir
Lopinavir/Ritonavir
Nelfinavir
Ritonavir
Saquinavir

# ***Méthodologie***

### **3. METHODOLOGIE**

#### **3.1. Cadre de l'étude**

Notre étude a été réalisée dans le laboratoire de l'Hôpital Gabriel Touré situé à cheval entre les communes II et III et bâti sur une superficie de 3,1 hectares. C'est l'ancien dispensaire central de Bamako, devenu le deuxième hôpital national du pays et qui porte le nom d'un étudiant en médecine « soudanais » du nom de Gabriel Touré, mort lors d'une épidémie de peste, maladie qu'il contracta au cours de son stage en 1934.

L'Hôpital Gabriel Touré a été érigé en établissement Public à caractère Administratif (EPA) en 1992, doté de la personnalité morale et de l'autonomie de gestion.

Le laboratoire actuel est l'ancienne pharmacie de l'hôpital réaménagée en laboratoire.

Il comprend :

- Deux grandes salles de travail pour l'hématologie et la biochimie,
- Une salle de prélèvement et de parasitologie, une salle de stérilisation,
- Une salle de garde avec toilette,
- Un bureau de chef de service,
- Trois salles aménagées récemment pour les activités de

Bactériologie et équipées en matériels de bactériologie » (3 automates d'hémoculture Batec 9050, 2 hôte, des Congélateurs des réfrigérateurs, des micro-ordinateur avec une communication sur Internet - - -).

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

- Section de biochimie (un Spectrophotomètre)
- Section d'immuno- hématologie (un Counter ABX micro 60)
- Section de parasitologie (des Microscopes)
- Section de bactériologie pour la recherche
- Section pour les taux de CD4 (un BD FACS Count™)
- Section pour l'ionogramme sanguin

Le personnel comprend :

- Un pharmacien biologiste
- Une dizaine d'internes en pharmacie
- Des techniciens de laboratoire repartis entre les différentes sections du laboratoire
- Un personnel de surface.

Les activités de Recherche bactériologique sont supervisées par un professeur de bactériologie virologie. L'équipe technique de bactériologie est appuyée par une technicienne supérieure de l'Institut national de Recherche en Santé Publique et comprend en outre le biologiste, 2 techniciens et 2 internes.

### **3.2. Population**

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

### **3.3. Type d'étude**

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

### **3.4. Critères d'inclusion et de non inclusion**

#### **3.4.1. Critères d'inclusion**

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

#### **3.4.2. Critères de non inclusion**

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

Les patients ayant déjà fait le test dans une autre structure autre que pour une confirmation. Il n'y a pas eu de cas de refus.

### **3.5. Echantillonnage**

#### **3.5.1. Méthode et techniques d'échantillonnage**

L'échantillonnage utilisé dans cette étude était exhaustif. Il concernait l'ensemble des patients référés au laboratoire pour un test VIH dans le cadre d'un bilan systématique ou pour une confirmation de diagnostic d'une immuno déficience à VIH.

#### **3.5.2. Taille de l'échantillon**

Durant la période d'étude allant du 1<sup>er</sup> janvier 2006 au 31 décembre 2007, l'effectif des personnes dépistées au laboratoire a été de 9070 patients qui ont constitué notre échantillon.

#### **3.5.3. Variables étudiés**

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

- **Age, Sexe, Service de référence, Profession, Statut sérologique, Type de virus diagnostiqué,**

### **3.6. Condition de sécurité au laboratoire**

- Port de gant- blouse
- Lavage des mains après élimination des gants
- Javel pour effluents (sérum – lavage)
- Pas de contact des substrats avec la peau
- Nettoyage des paillasse à l'eau de javel puis à alcool à 70°
- Utilisation de 2 sortes de poubelles :
  - . une pour cartons d'emballage, papiers...)
  - . une pour déchets contaminés pour incinération
- Elimination des pipettes après une nuit en eau de javel (containers spéciaux)
- Lavage les mains avant de quitter le labo.
- Toute plaie doit être protégée (pansement)
- Blessures avec sang
  - . Nettoyage à l'eau javel et au savon
  - . Rinçage
  - . Alcool à 70° pendant 3 minutes ou eau de Javel diluée au 1/10
- Projection yeux (laver abondamment à l'eau ou au sérum physiologique)
- Déclaration des accidents de travail sur le registre et suivi sérologique : faire une sérologie dès l'accident puis contrôler à 3 semaines et à 3 mois.
- La mise à disposition de médicament anti-rétroviraux pour le personnel de laboratoire en cas de risque important doit être réfléchi en fonction des disponibilités locales.

### **3.7. Optimisation des conditions opératoires**

#### **Avant l'utilisation du kit**

- Laisser s'équilibrer les réactifs d'un KIT 10 à 30 minutes à température ambiante (se conformer aux recommandations du fabricant).
- Vérifier que le kit n'a pas atteint la date de péremption
- Ne jamais mélanger les réactifs de lots différents
- Respecter les dilutions et temps d'incubation
- Vérifier le volume de « dispense » et l'utilisation correcte des micropipettes. (Vérifier le calibrage de ces pipettes).
- S'assurer que la verrerie a bien été rincée à l'eau distillée avant utilisation puis séchée

### **3.8. Méthode de laboratoire**

#### **Les tests utilisés au laboratoire**

Nous avons utilisé quatre tests:

- **Sérodiagnostic de HIV par le Détermine HIV-1/2**

#### **Dénomination et domaine d'application**

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

#### **Principes biologiques de la méthode**

Détermine HIV-1/2 est un test Immuno chromatographique pour la détection qualitative des anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2.

L'échantillon est déposé sur la zone de dépôt de l'échantillon. 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-VIH-1 et/ou anti-VIH-2 sont présents dans l'échantillon, ils se lient à l'antigène du conjugué antigène colloïde de sélénium et à l'antigène de la fenêtre patient en formant une ligne rouge au niveau de la fenêtre patient.

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

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

## **Prélèvement des échantillons**

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

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

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

Prélèvement de sang total sur le bout du doigt

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

**1.** Pour les adultes et les enfants de plus d'un an, choisir le bout du majeur, de l'annulaire ou de l'index (choisir le moins calleux). Chauffer la main avec une serviette chaude et humide ou bien avec de l'eau chaude afin d'augmenter le flux sanguin.

**2.** Nettoyer le bout du doigt avec de l'alcool ; laisser sécher à l'air. Placer la main paume vers le haut.

**3.** Utiliser une lancette différente pour chaque personne. Placer la lancette sur un côté du bout du doigt. Appliquer une ferme pression sur la lancette placée sur le doigt et piquer la peau. Jeter la lancette dans un récipient pour déchets biologiques pointus.

**4.** Essuyer la première goutte de sang avec une gaze stérile.

**5.** Maintenir le doigt un peu plus bas que le coude et appliquer par intermittence de faibles pressions à la base du doigt piqué. Effleurer la goutte de sang avec l'extrémité du tube capillaire contenant de l'EDTA. Eviter la formation de bulles d'air.

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

## **Conservation des échantillons**

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

## **Procédure d'analyse**

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

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

⇒ Enlever la protection plastique de chaque test.

⇒ Pour les échantillons de sérum ou de plasma :

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

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

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

- a. Distribuer 50µl d'échantillon (à l'aide d'une pipette de précision) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole flèche).
- b. Attendre une minute, puis distribuer une goutte de tampon de fixation sur la zone de dépôt de l'échantillon.
- c. Attendre au moins 15 minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.

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

- a. Distribuer 50µl d'échantillon (avec un tube capillaire contenant de l'EDTA) sur la zone de dépôt de l'échantillon (symbole : flèche).
- b. Attendre que le sang soit absorbé par la zone de dépôt, puis distribuer une goutte de tampon de fixation sur la zone de dépôt de l'échantillon.
- c. Attendre 15minutes (maximum : 60 minutes) et lire le résultat.

### **Contrôle de qualité**

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

## **Interprétation des résultats**

### **POSITIF** (deux barres)

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

### **NEGATIF** (une barre)

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

### **NON VALIDE** (pas de barre)

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

Remarques :

- ▶ Le résultat du test est positif même si la barre- patient est plus claire ou plus foncée que la barre- contrôle.
- ▶ Si un résultat non valide venait à se répéter ou pour tout support technique, Contacter votre service client Abbott. [9]

- **Sérodiagnostic du VIH par CYPRESS DIAGNOSTIC**

**Test rapide HIV1/2:**

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

**Principe du test :**

Le dosage HIV 1/2 de Cypress utilise une association unique d'un cocktail d'antigènes recombinants qui est conjuguée sur des particules colorantes d'or colloïdal, et d'antigènes recombinants complémentaires pour VIH 1/2, qui sont fixés à la phase solide de la membrane. Parce que les antigènes sont recombinants, ils ne sont pas infectieux. L'essai détectera également des anticorps des sous- types O. L'échantillon est appliqué au puits SAMPLE (S) et additionné d'un tampon migrateur. Ce dernier facilite la migration latérale des produits libérés, tout en favorisant la fixation des anticorps et de l'antigène. S'ils sont présents, les anticorps se fixent à la protéine fixant l'anticorps conjugué à l'or.

Dans un échantillon positif, le complexe immunitaire conjugué au colorant migre sur la membrane de nitrocellulose et est capturé par les antigènes immobilisés dans la zone TEST (T), en produisant une ligne rouge. En l'absence d'anticorps anti – VIH 1/2, on n'observe pas de ligne rouge dans la zone TEST.

L'échantillon continue de migrer par la membrane et produit une ligne rouge dans la zone CONTRÔLE (C), ce qui atteste que l'essai a été réalisé correctement.

**Composants de la trousse :**

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

Dispositifs de test- 40 ;

Tampon- 2 flacons ;

Pipettes- 40 ;

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

**Matériel supplémentaire requis :**

Minuterie

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

**Conservation et stabilité :**

Les dispositifs de test VIH1/2 et les dispositifs de test de tampon doivent être conservés à la température ambiante entre 8 et – 28°C. Ne pas congeler les trousse de test et ne pas les exposer aux températures extrêmes.

**Précautions :**

Le test est uniquement A USAGE DIAGNOSTIQUE IN VITRO. Il est réservé à l'USAGE PROFESSIONNEL. Il faut traiter tous les échantillons conformément aux recommandations applicables à n'importe quel échantillon de sérum ou de sang humain potentiellement infectieux.

IL faut porter des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et une protection oculaire lorsque vous manipulez les échantillons.

Ne pas manger, ne pas boire ou fumer dans la zone où les échantillons et les réactifs de la trousse sont manipulés. Il faut éviter tout contact entre les mains et les yeux ou la bouche pendant le prélèvement et le test des échantillons.

Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents de trousse de test. Après avoir effectué le dosage, Il faut éliminer soigneusement tous les échantillons, dispositifs de test et anses à échantillon après les avoir autoclavés ou les avoir traités par une solution d'eau de Javel à 1 %. Il faudra les traiter comme des déchets bio- dangereux.

Il ne faut pas utiliser les tests au-delà de la date de péremption figurant sur la pochette en feuille.

### **Prélèvement des échantillons :**

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

#### **Sang total :**

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

Pour le prélèvement du sang au bout du doigt, il faut piquer le doigt et essuyer la première goutte. Recueillir l'échantillon à partir de la deuxième goutte avec l'anse à échantillon à usage unique joint. Il ne faut pas presser le doigt trop fort. Il faut suivre les instructions de la méthode de test. Le sang capillaire peut également être recueilli au bout du lobe de l'oreille.

Les échantillons de sang total doivent être entreposés au réfrigérateur (2 - 8°C) ou sur glace avant de les tester. Il est recommandé de tester les échantillons de sang total dans un délai de 24 heures après le prélèvement de l'échantillon.

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

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

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

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

**Méthode de test :**

Si l'échantillon à tester et/ou le dispositif de test a été conservé au réfrigérateur, retirer de celui-ci et le laisser atteindre la température ambiante avant de le tester.

Les échantillons congelés doivent être décongelés verticalement dans un support avant de les tester.

Il faut éviter de congeler et de décongeler les échantillons de manière répétée. Si des produits rouges d'hémolyse sont présents (habituellement dans la partie plus inférieure du tube), il faut insérer soigneusement une pipette juste au-dessous de la surface du liquide et essayer de recueillir un échantillon non coloré clair pour l'essai.

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



**Figure 8 :**

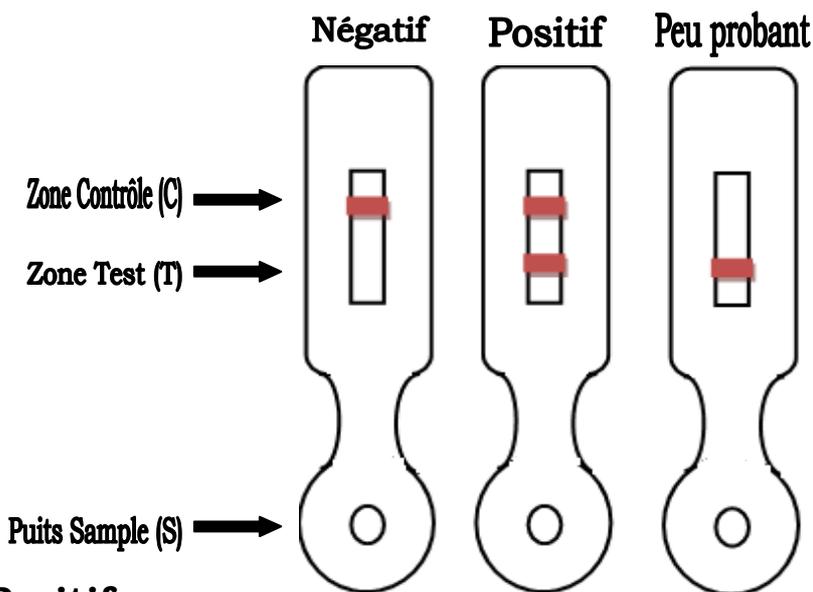
4. Retourner le flacon de tampon migrateur et le maintenir verticalement (pas sous un angle) au-dessus du puits à échantillon. Ajoutez 3 gouttes de tampon, lentement, goutte à goutte, dans le puits SAMPLE (S).
5. Lire les résultats du test 15 minutes après l'addition du tampon migrateur. Certains résultats positifs peuvent apparaître en moins de 10 minutes, mais il faut que 15 minutes s'écoulent avant de pouvoir annoncer un résultat négatif. Lire les résultats dans un endroit bien éclairé.

**Remarque :** Si la membrane n'est pas dégagée du colloïde rose/violet ou le sang est encore présent, on peut ajouter encore un ou deux gouttes de diluant au puits SAMPLE.

Interprétation des résultats

**Négatif :**

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



**Positif :**

**Figure 9 :** Deux lignes de couleur rouge, une dans la zone TEST (T) et une dans la zone CONTRÔLE (C) indiquent un résultat positif. Il se peut que la ligne dans la zone TEST (T) présente un aspect différent de celle dans la zone CONTRÔLE (C). L'intensité de la ligne dans la zone TEST (T) varie d'à peine visible à très foncée selon la concentration des anticorps spécifiques.

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

**Peu probant :**

Une ligne de couleur rouge doit toujours apparaître dans la zone CONTRÔLE, que la ligne dans la zone TEST apparaisse ou non. Si aucune ligne rouge n'est visible dans la zone CONTRÔLE, le test est peu probant et il est alors recommandé de le recommencer avec un nouveau dispositif.

**Contrôle de qualité :**

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

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

**Limites de la méthode :**

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

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

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

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

### **Performances**

#### Sensibilité

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

#### Spécificité

La spécificité a été déterminée en interne en utilisant des séries d'échantillons de champ caractérisés de sérums et de sang total (VIH-1 et VIH-2) positifs et négatifs. **[10]**

## • **Sérodiagnostic du VIH par l'IMMUNOCOMB II**

### **Principe du test**

La trousse IMMUNOCOMB II HIV1 & 2 Bi Spot est un test Immuno enzymatique indirect en phase solide (EIA). La phase solide est un peigne de 12 dents, chaque dent étant sensibilisée à sa surface en trois points Spots de réaction :

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

Spot médian - peptides synthétiques VIH-2

Spot inférieur - peptides synthétiques VIH-1.

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

Le test débute par la distribution des échantillons de sérum ou de plasma dans les puits du compartiment A du bac de développement. Le peigne est alors introduit dans le compartiment A. Les anticorps anti-HIV éventuellement dans les échantillons testés se lient de façon spécifique aux peptides synthétiques HIV immobilisés à la surface des dents du peigne

Parallèlement, les immunoglobulines humaines contenues dans les échantillons sont capturées au niveau du spot supérieur par les anticorps anti-Ig humain (Contrôle interne). Tout anticorps non fixé de façon spécifique lors de cette première étape est éliminé au cours d'une étape de lavage dans le compartiment B. Dans les compartiments C et D, les immunoglobulines humaines

de classe fixées sur les dents du peigne sont reconnues par des anticorps de chèvres anti-humaines conjugués à la phosphatase alcaline (PA). Après une nouvelle étape de lavage dans le compartiment E, la phosphatase alcaline réagit avec le compartiment F avec un composé chromo-génique. Cette dernière réaction entraîne la visualisation des résultats sous forme de spots gris-bleu à la surface des dents du peigne.

**Bacs de développement :**

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

Chaque compartiment contient les réactifs suivants :

Compartiment A : diluant échantillons

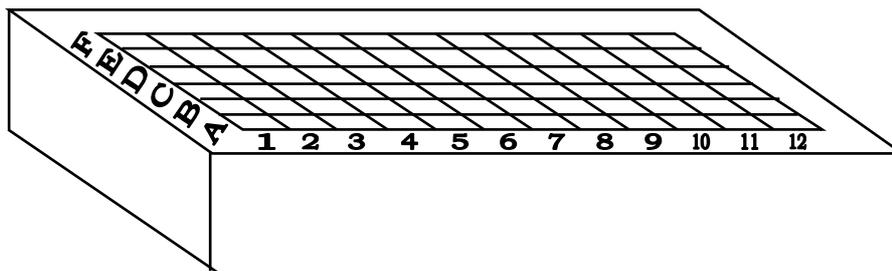
Compartiment B : solution de lavage

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

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

Compartiment E : solution de lavage

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



**Figure 10** : Bac de développement

### **Sécurité et précautions d'emploi :**

Cette trousse est réservée au diagnostic in vitro seulement.

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

trousse, doit être traité et éliminé en tant que déchets à risque biologique.

- ✓ Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents.
- ✓ Ne pas utiliser la trousse au delà de sa date de péremption.

### **Conservation de la trousse :**

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

### **Procédure :**

#### **Equipement nécessaire :**

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

#### **Préparation du test :**

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

#### **Préparation du bac de développement :**

1. Pré- incuber le bac de développement 20 minutes dans une étuve ou au bain marie à 37 °C ; ou bien laisser équilibrer à température ambiante (22°-26 °C) pendant 3 heures.
2. Recouvrir la table de travail de papier absorbant à traiter, une fois le test achevé, en tant que déchets à risque biologique.

3. Homogénéiser les réactifs par retournements successifs du bac de développement.

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

### **Préparation du peigne:**

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

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

Sortir le peigne délicatement

2. Peigne et bac de développement peuvent être utilisés soit entièrement soit partiellement. Pour une utilisation partielle du peigne :

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

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

c. Ranger la section du peigne non utilisée dans la pochette aluminium avec le sachet déssicant. Sceller hermétiquement la pochette (par exemple à l'aide d'un trombone) afin de

prévenir toute humidité. Conserver le peigne dans son conditionnement d'origine entre 2 et 8 °C pour un usage ultérieur.

**Mode opératoire :**

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

1. Prélever 50 µl d'un échantillon à tester. Avec l'embout de la pipette ou le perforateur, perforer le film d'aluminium d'un puits du compartiment A. Distribuer l'échantillon en aspirant et refoulant plusieurs fois afin d'assurer une bonne homogénéité. Jeter l'embout de la pipette.
2. Répéter l'étape 1 pour les autres échantillons ainsi que pour le contrôle positif et le contrôle négatif fourni avec la trousse. Utiliser un nouveau puits du compartiment A et un nouvel embout de pipette pour chaque échantillon ou contrôle.
3. Insérer le peigne (face imprimée vous faisant face) dans les seuls puits du compartiment A contenant échantillons et contrôles.

Homogénéiser : Réinsérer plusieurs fois le peigne dans les puits.

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

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

#### Lavage (compartiment B)

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

#### Conjugué (Compartiment C)

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

#### Conjugué (Compartiment D)

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

#### Lavage (Compartiment E)

7. Insérer le peigne dans les puits du compartiment E. Agiter comme dans l'étape 4. Incuber pendant 2 minutes. Perforer

le film du compartiment F. Au terme des 2 minutes, retirer le peigne et absorber le liquide résiduel.

Révélation (compartiment F)

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

Réaction d'arrêt (Compartiment E)

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

Elimination des déchets

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

### **Résultats :**

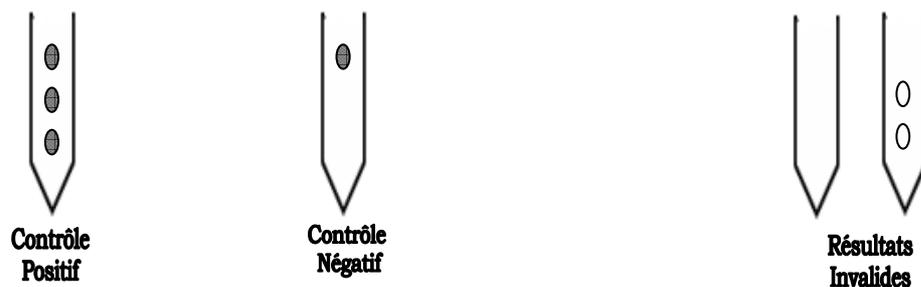
#### *Validation*

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

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

3. Tout échantillon testé doit présenter le Spot de contrôle interne

(Spot supérieur), confirmant un dépôt correct de l'échantillon  
Si une des conditions n'est pas remplie, les résultats ne doivent pas être validés. Dans ce cas, échantillons et contrôles doivent être ré testés.



**Figure 11** : Validation des résultats

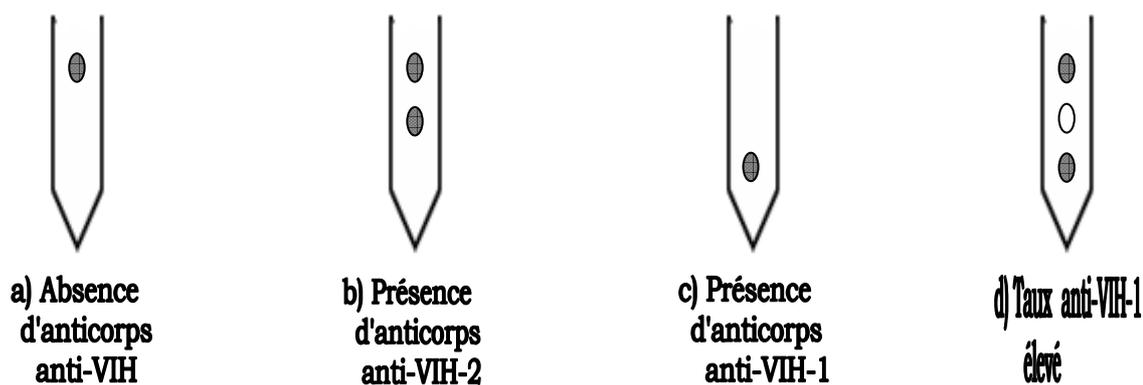
Lecture des résultats :

Lorsqu'une dent affiche uniquement le Spot supérieur de contrôle interne, l'échantillon correspondant n'est pas réactif pour les anticorps anti-VIH-1 et anti-VIH-2 (Figure 3a).

Le Spot médian, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH-2 (Figure 3b).

Le Spot inférieur, circulaire et uniformément coloré, indique la présence d'anticorps anti-VIH-1 (Figure 3c).

Certains échantillons contenant des concentrations élevées en anticorps anti-VIH-1 ou anti-VIH-2 peuvent occasionner des réactions croisées en affichant un Spot secondaire faible associé à un Spot principal plus intense correspondant à l'antigène homologue (Voir figure 3d pour une concentration élevée en anticorps anti-VIH-1)



**Figure 12** : Résultats des tests

**Important**

. Tout résultat indiquant la présence d'anticorps anti-VIH1 ou anti-VIH-2 doit être obligatoirement confirmé par un test de confirmation.

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

Document des résultats

Les Spots colorés développés sur les peignes sont stables et permettent de conserver les peignes pour archivage. **[18]**

- **Sérodiagnostic du VIH par le GENIE II**

Le test Génie II HIV-1/HIV-2 est un test immuno enzymatique de double reconnaissance, basé sur la détection spécifique des anticorps anti-HIV-1 et anti-HIV-2 par des antigènes. Le test utilise l'immuno-chromatographie et l'immuno-concentration en combinaison.

Le support de réaction est constituée de deux puits : le puits A, de forme circulaire, pour le dépôt de l'échantillon, et le puit B, plus grand et elliptique, qui est le puits de réaction.

La membrane du puits B est sensibilisée en deux Spots de réaction séparés par les antigènes dérivés du VIH-1 et du VIH-2 et en un troisième Spot de contrôle interne permettant le suivi du bon déroulement du test.

Le test débute par le dépôt dans le Puits Echantillon A de l'échantillon dilué.

Les anticorps anti-VIH contenus dans l'échantillon se fixent spécifiquement aux antigènes VIH biotinylés et migrent le long de la membrane chromatographique.

Au niveau du Puits de Réaction B, les complexes antigènes anticorps se lient aux antigènes VIH immobilisés au cours d'une étape de double reconnaissance ; le complexe résultant réagit avec un conjugué streptavidine-phosphatase alcaline.

L'addition d'un substrat chromogénique permet la visualisation des résultats sous la forme d'un Spot gris-bleu.

Enfin l'addition d'une solution d'arrêt termine la réaction.

L'apparition de 2 ou 3 Spots gris-bleu dans le puits de Réaction B indique la présence d'anticorps anti-VIH. Dans le cas d'un résultat négatif, seul le Spot de contrôle interne sera visible.

### **Sécurité et précautions d'emploi**

Cette trousse est réservée au diagnostic *in vitro* seulement.

Manipuler les contrôles positifs et négatifs, bien qu'ayant été inactivés, comme potentiellement infectieux.

Du fait qu'aucune méthode de test connue ne peut offrir une garantie absolue de l'absence d'agents infectieux, considérer les réactifs ainsi que tous les échantillons de patients comme potentiellement infectieux et les manipuler avec les précautions d'usage.

Se protéger avec des gants à usage unique et une blouse de laboratoire. Suivre les consignes de sécurité de travail en laboratoire pour la manipulation des sérums ou plasmas humains.

Ne pas pipeter à la bouche.

Tout échantillon testé, microtube, pipette jetable, tout support de réaction ou tout autre matériel utilisé lors de l'utilisation de la trousse doit être traité et éliminé en tant que déchets à risque biologique.

Ne pas mélanger les réactifs provenant de lots différents

Ne pas toucher l'embout des compte-gouttes.

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

### **Conservation de la trousse**

Conserver la trousse entre 2° et 8° C.

Ne pas congeler.

## **Manipulation des échantillons**

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

Centrifuger les échantillons après décongélation, et tester le surnageant.

Eviter les congélations et décongélation répétées.

## **Procédure**

### **Préparation du test**

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

## **Mode opératoire**

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

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

Ajouter 50 µl d'échantillon ou de contrôle. Mélanger le contenu du tube par pipetages successifs. Transférer immédiatement la totalité du contenu du micro tube dans le Puits Echantillon A du support de réaction.

Jeter l'embout de la pipette et le microtube en tant que déchets à risque biologique. Attendre l'absorption complète de la solution (approximativement 3 minutes)

Les étapes suivantes sont réalisées dans le Puits de Réaction B seulement

### **Liaison du conjugué**

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

### **Lavage**

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

### **Révélation**

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

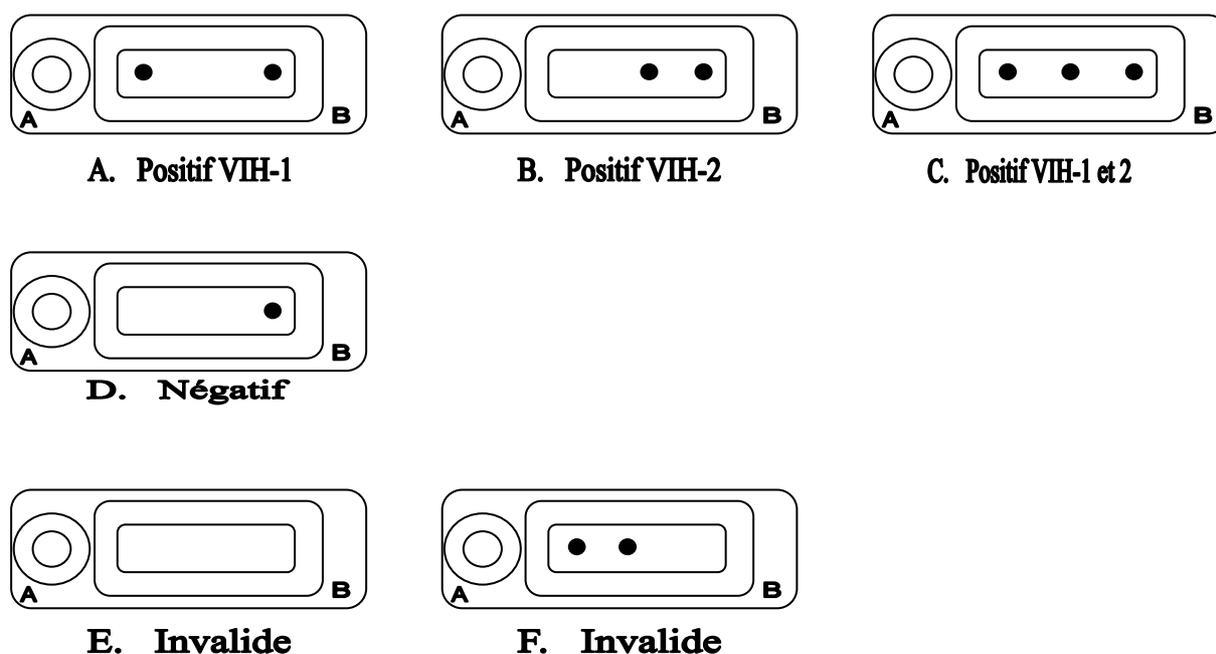
### **Réaction d'arrêt**

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

### Interprétation des résultats

#### Validation

Examiner la membrane au niveau du Puits de Réaction B. Pour confirmer le bon fonctionnement du test et valider les résultats, le contrôle interne doit être présent sur chaque support de réaction. L'absence de contrôle interne est considérée comme un résultat invalide, et le test doit être répété.



**Figure 13 : Validation et interprétation**

#### Résultats

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

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

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

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

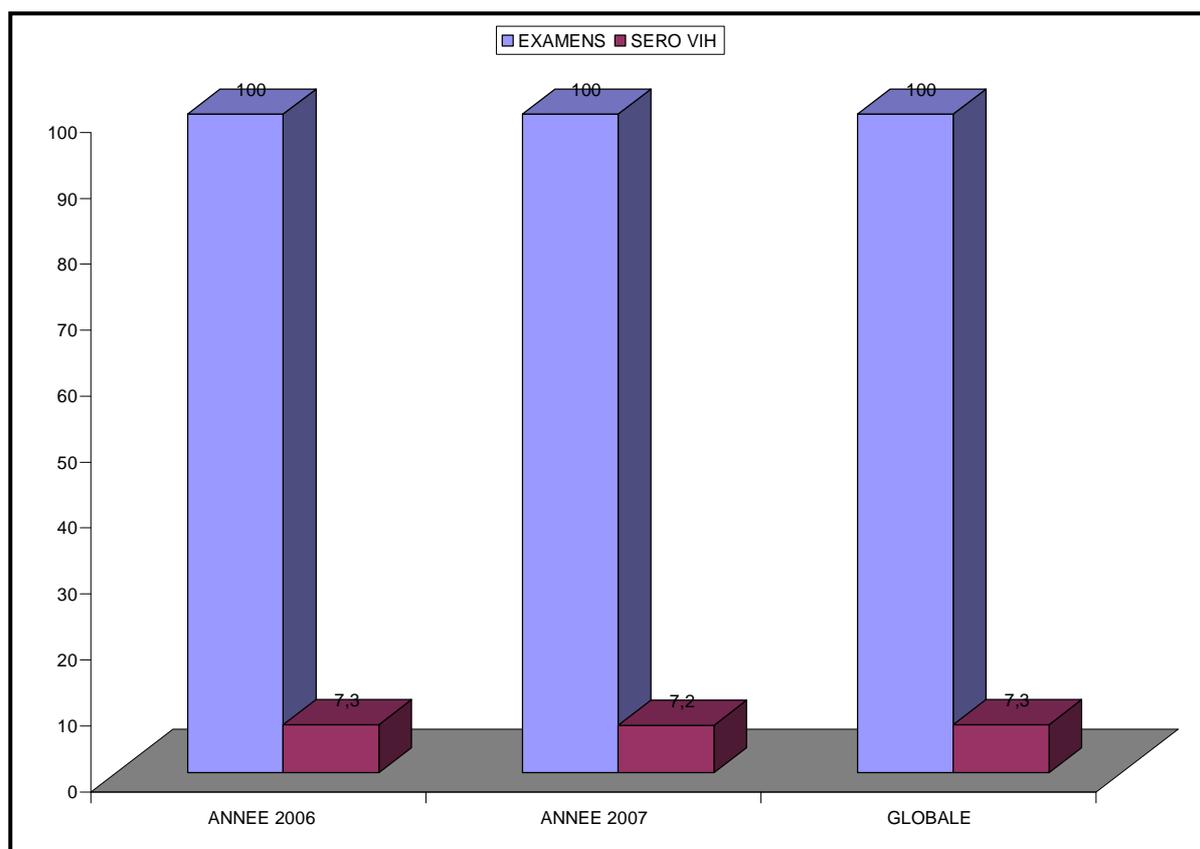
Toute trace de spot coloré doit être suspectée de représenter un résultat positif et doit faire l'objet d'investigations supplémentaires.

#### **Conservation des composants non utilisés**

Ranger contrôles, réactifs et fiche technique dans la boîte d'origine, et conserver entre 2° et 8° C. **[18]**

# RESULTATS

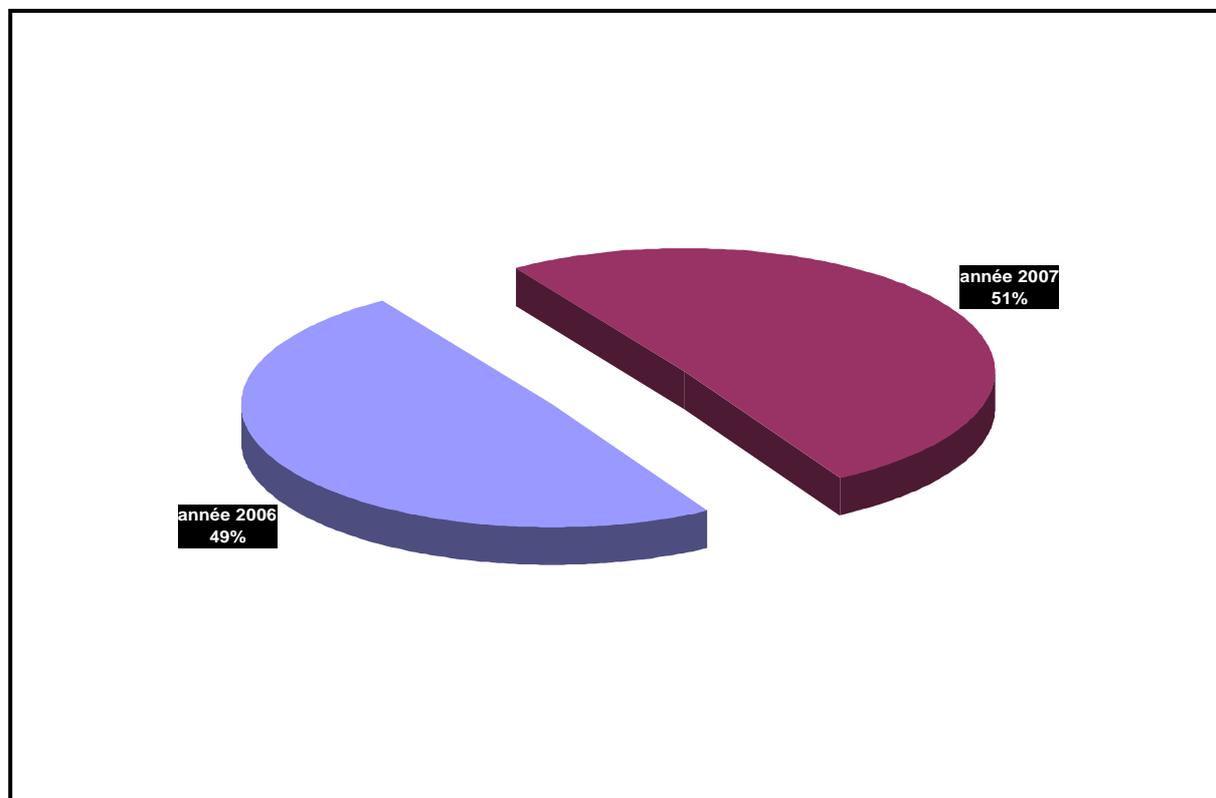
## 4. RESULTATS



**Figure 14 : Place de la sérologie VIH parmi les examens effectués au laboratoire**

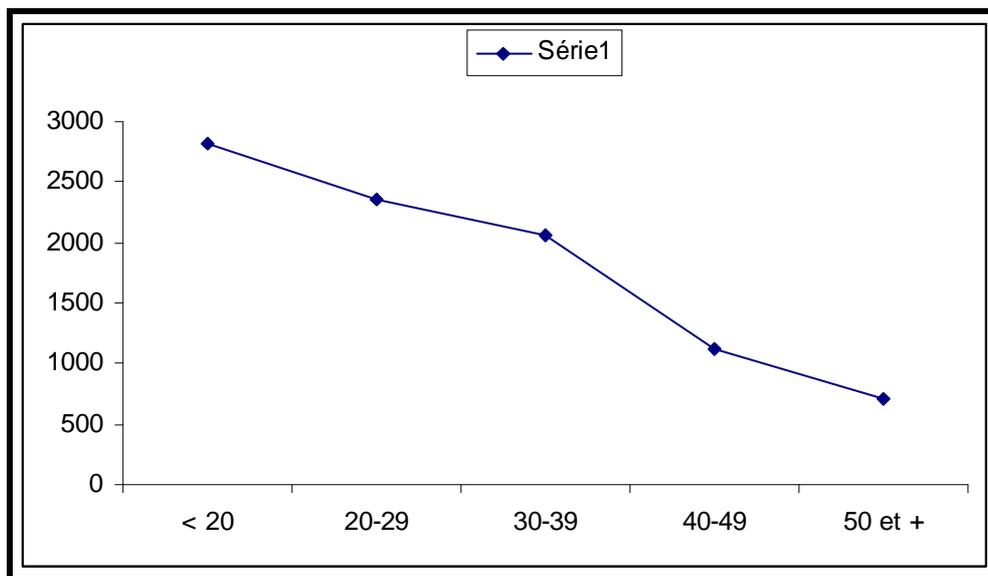
Parmi les examens réalisés au laboratoire du CHU Gabriel Touré, la sérologie VIH a représenté, 7,3% au cours de la période d'étude.

## Présentation des résultats de notre étude au laboratoire du CHU Gabriel Touré, 2006-2007



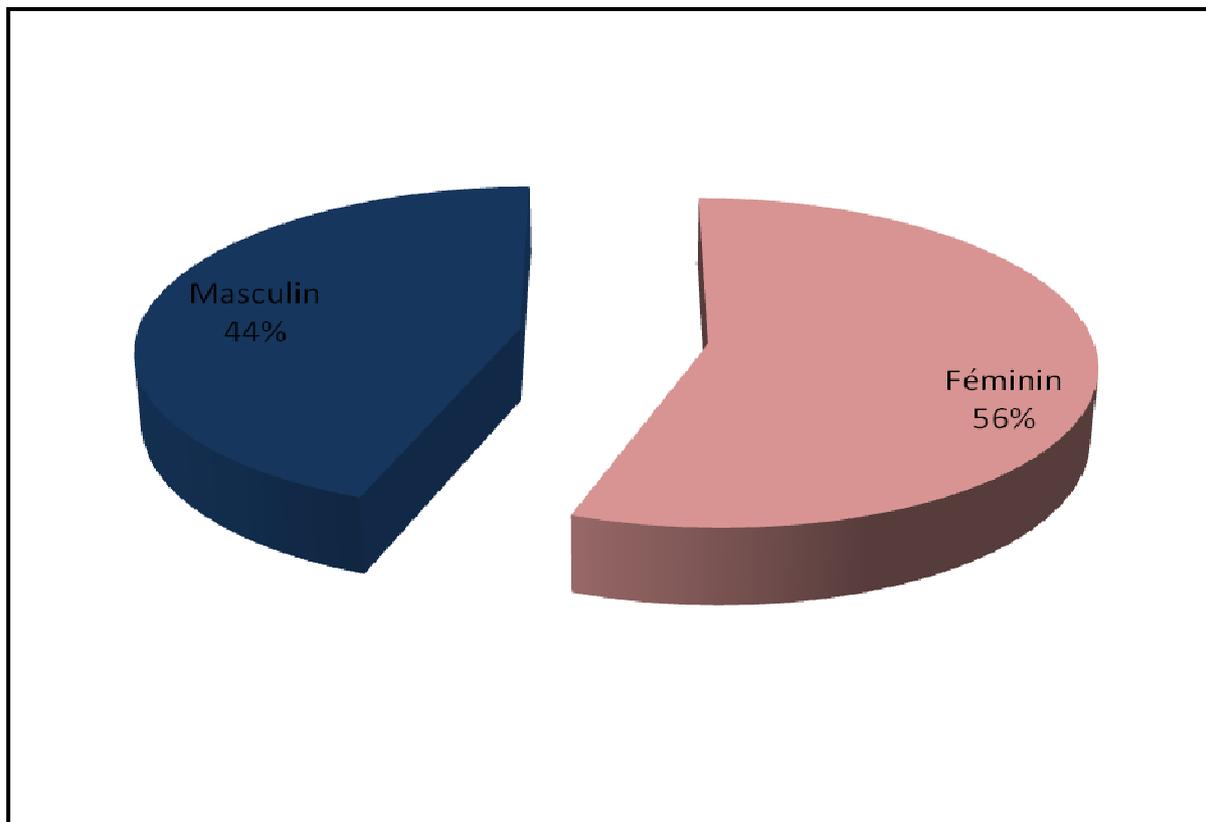
**Figure 15 : Répartition des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire du CHU Gabriel Touré.**

Nous avons enregistré un pourcentage plus élevé de sujets en 2007 (51 %) par rapport à 2006 (49%).



**Figure16 : Répartition par tranche d'âge des patients ayant effectués le test sérologie VIH au Laboratoire**

Les jeunes de moins de 30 ans ont été les plus représentés avec 57,1% (n = 2823 cas) dans notre échantillon. La moyenne d'âge des patients est de 27ans.



**Figure 17: Répartition selon le sexe des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

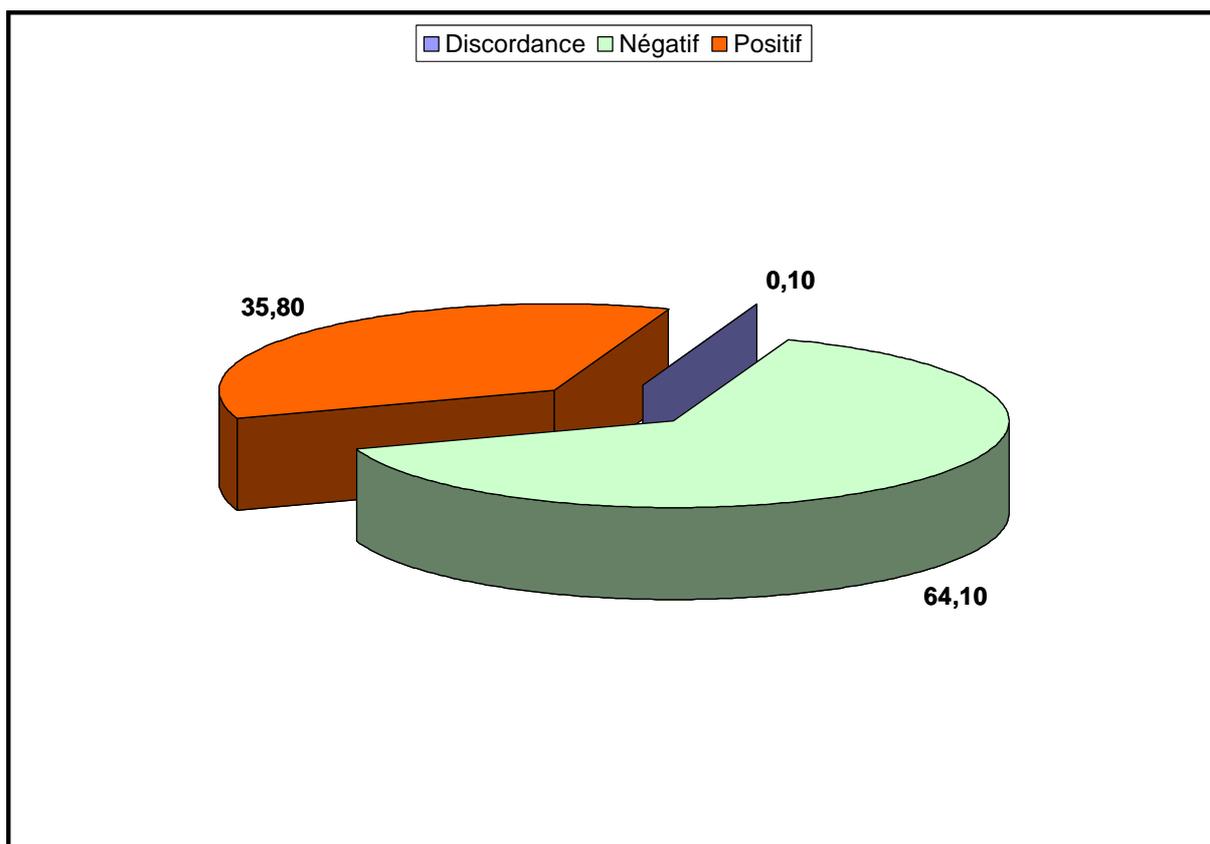
Les patients de sexe féminin ont prédominé dans notre population avec 55,60 % (n = 5042 cas)

**Tableaux II : Répartition selon la profession des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

PROFESSIONS	EFFECTIF	POURCENTAGE
MENAGERES	3102	34,2
ENFANTS	2331	25,7
ELEVE/ETUDIANT	759	8,4
SANTE	150	1,7
FONCTIONNAIRES	552	6,1
ARTISANS	651	7,2
COMMERCANTS	543	6,0
AUTRES GROUPES PROFESSIONNELS	982	10,8
<b>TOTAL</b>	<b>9070</b>	<b>100,0</b>

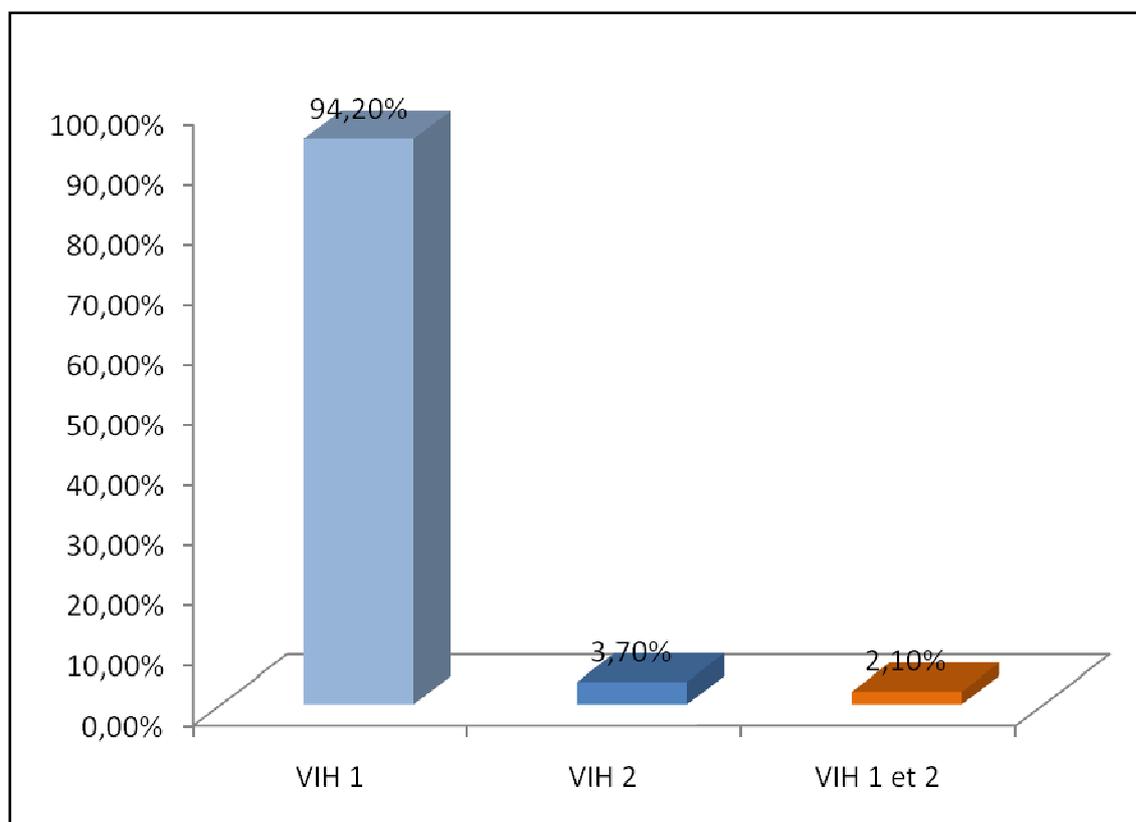
**Autres groupes professionnels** ont été : les sans emploi, les transitaires, informaticiens, hommes de média et les cultivateurs

Les ménagères et les enfants ont représenté plus de la moitié 59,9 % (n = 3102 cas) de la population dépistée au cours de la période d'étude.



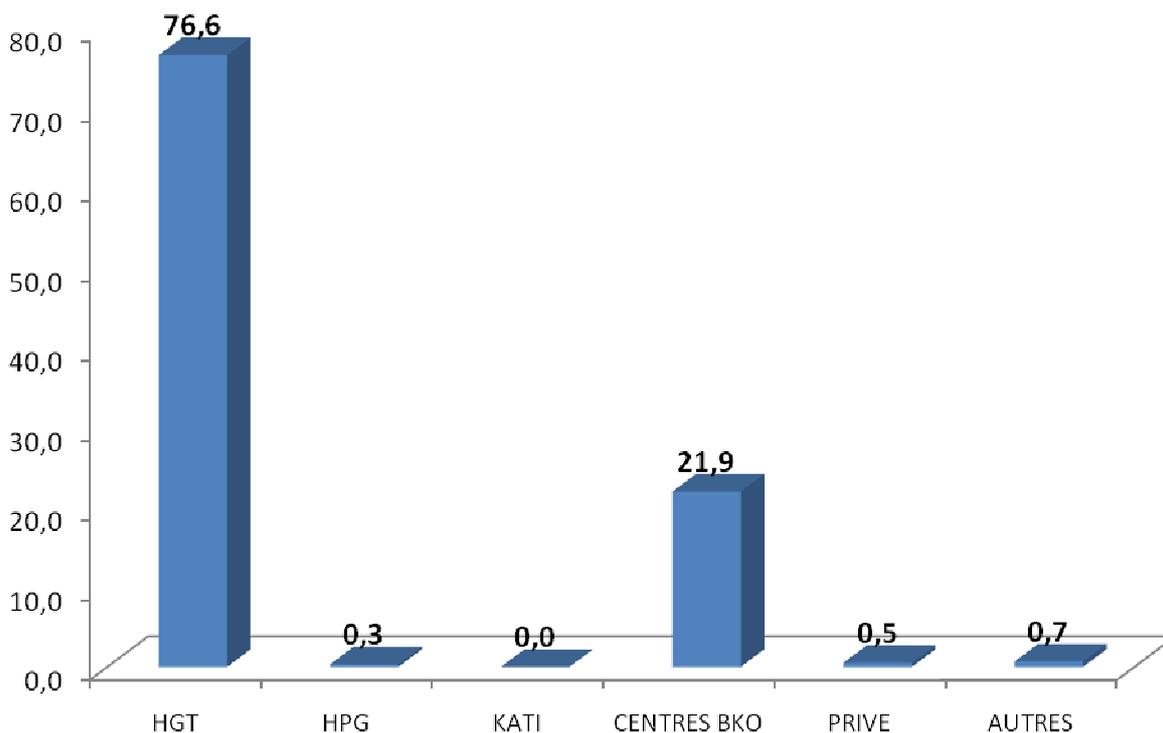
**Figure 18 : Répartition des patients ayant effectué le test de sérologie VIH en fonction du résultat.**

Parmi les patients dépistés, il y a eu 5818 cas négatifs soit 64,10% ; 3247 cas positifs soit **35,80 %** et 0,10% de discordance (n = 5 cas).



**Figure 19 : Répartition des patients selon les sérotypes du VIH trouvés au laboratoire.**

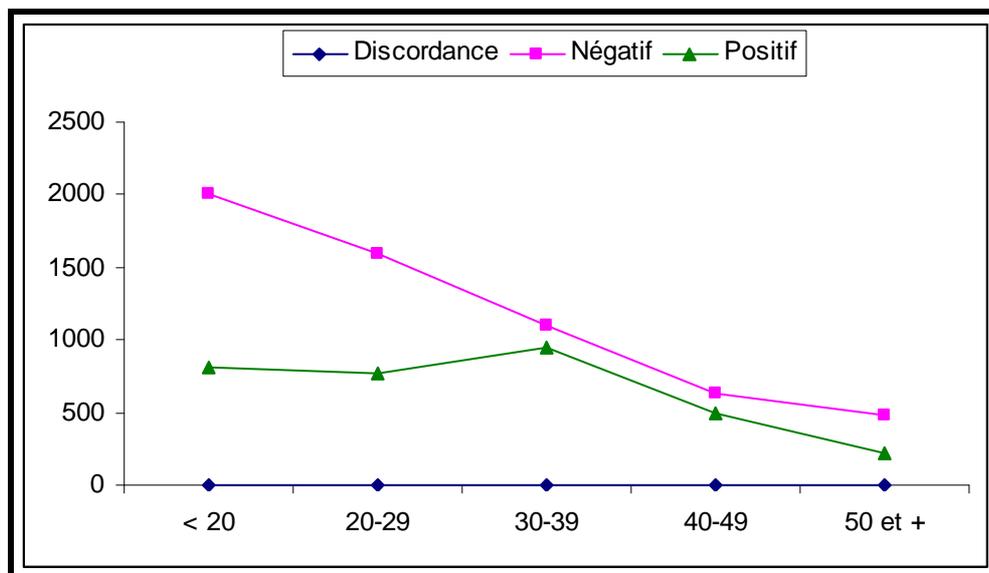
Chez les patients dépistés séropositifs, le type VIH-1 a prédominé avec 94,20% de l'échantillon (n = 3959 cas) suivi du VIH-2 avec 3,70 % (n = 120 cas) et la co- infection VIH-1+VIH-2 qui a représenté 2,10 % (n = 68 cas).



**Figure 20 : Répartition selon les services référant des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

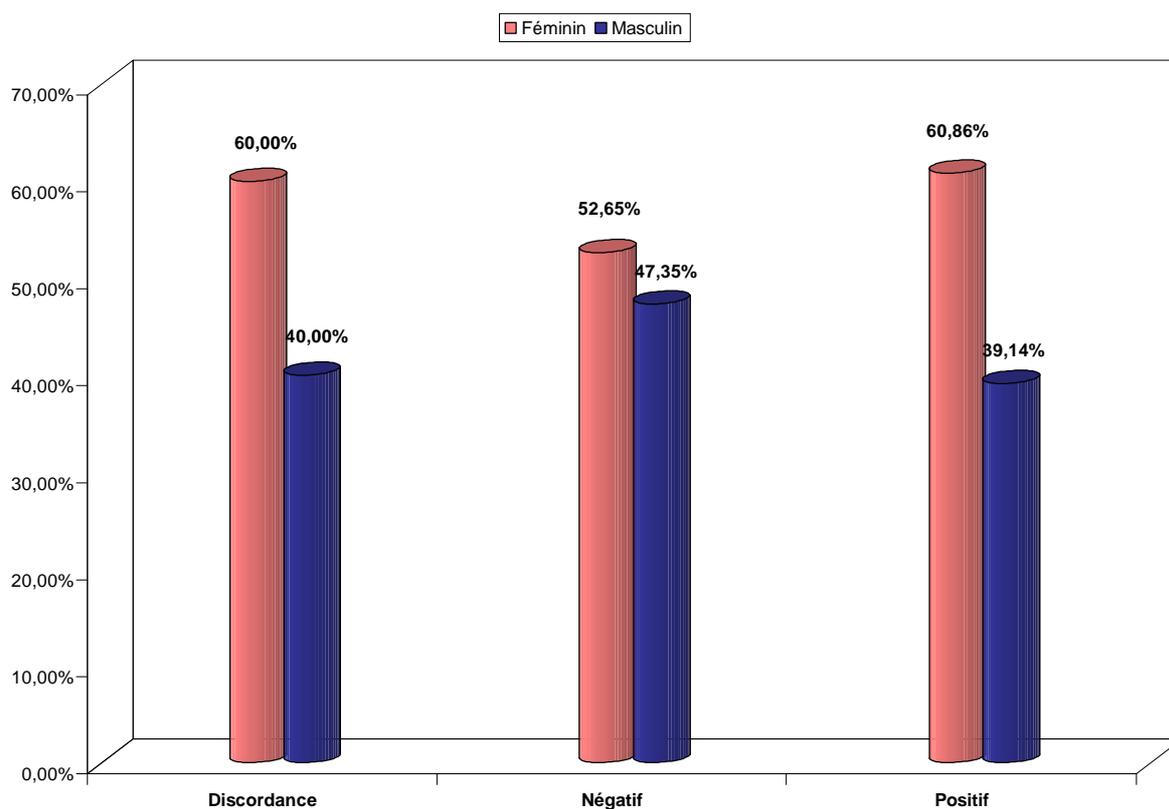
La grande partie des références a été faite par les prestataires des différents services du CHU Gabriel Touré suivie des différents centres de santé de Bamako

## ANALYSE DU STATUT SEROLOGIQUE DES PATIENTS



**Figure 21: Répartition selon le statut VIH et l'âge des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

La tranche d'âge 30-39 an, a contenu le plus grand nombre de cas de séropositivité au VIH avec 29,3%



**Figure 22 : Répartition selon le statut VIH et le sexe des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

Les femmes représentaient 60,86% des patients contre 39,14% d'hommes.

Le sexe- ratio est de 1,55 en faveur des femmes.

**Tableaux III : Répartition selon le statut VIH et la profession des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

STATUT PROFESSIONS	DISCORDANTS %	NEGATIFS %	POSITIFS %
MENAGERE	0	30,0	41,9
ENFANTS	40	27,9	21,7
ELEVE/ETUDIANT	40	10,8	4,0
SANTE	0	2,1	0,9
FONCTIONNAIRES	0	6,6	5,2
ARTISANS	0	6,4	8,5
COMMERCANTS	0	5,2	7,4
AUTRES GROUPES	20	11,0	10,4
<b>TOTAL</b>	<b>100</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>

**Autres groupes professionnels** ont été : les sans emploi, les transitaires, informaticiens, hommes de média et les cultivateurs

Les ménagères, les enfants, sont les plus touchés par le VIH. Les fréquences sont respectivement de 41,9 % ; 21,7 % ;

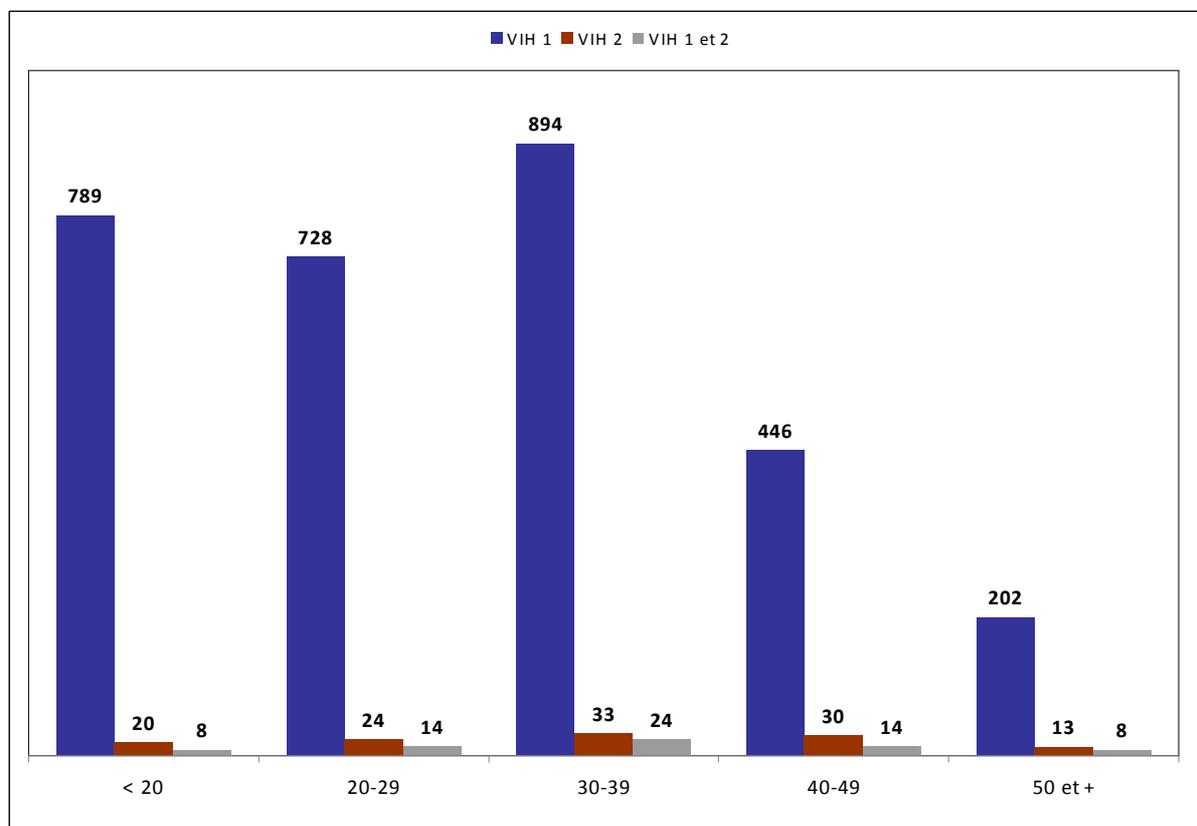
**Tableau IV : Répartition selon le statut VIH et le service référant des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

SERVICES	STATUT	DISCORDANTS		NEGATIFS		POSITIFS		TOTAL
		N	%	N	%	n	%	
HGT		4	80	4384	75,4	2556	78,7	6944
HPG		0	0	19	0,3	9	0,3	28
KATI		0	0	1	0,0	0	0,0	1
CENTRES BKO		1	20	1343	23,1	645	19,9	1989
PRIVE		0	0	27	0,5	19	0,6	46
AUTRES		0	0	44	0,8	17	0,5	62
Total		5	100	5818	100,0	3246	100,0	9070

**Autres groupes professionnels** ont été : les sans emploi, les transitaires, informaticiens, hommes de média et les cultivateurs

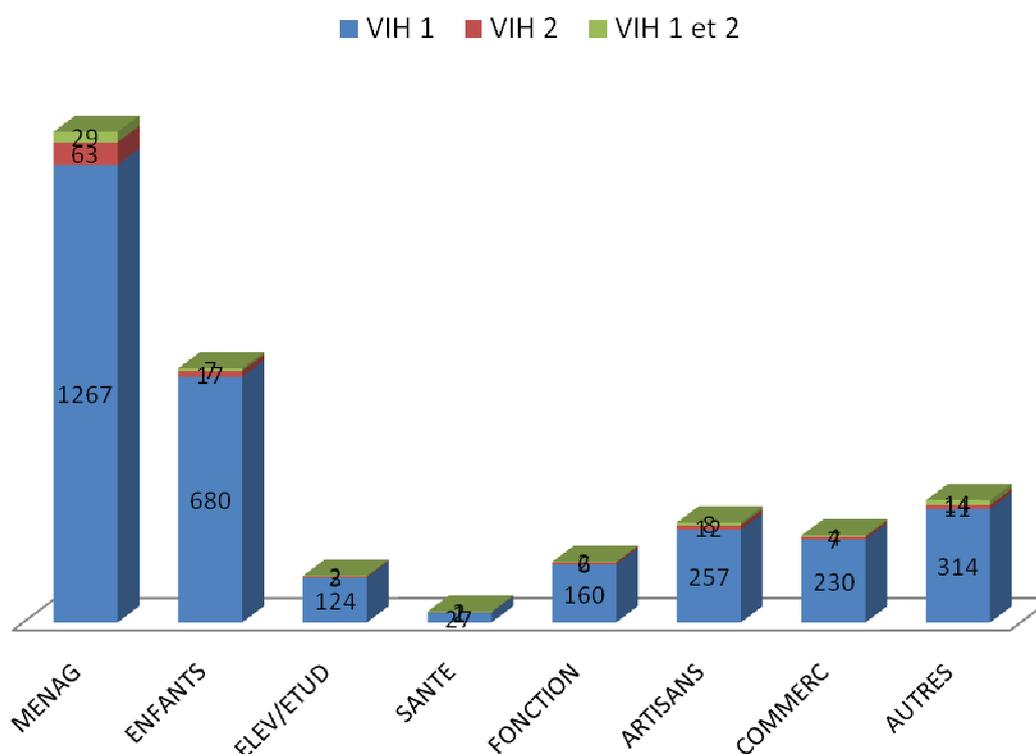
Dans notre échantillon la séropositivité est beaucoup plus fréquente chez les patients référés par les prestataires de l'Hôpital Gabriel Touré avec 78,7%

## ANALYSE DU TYPE DE VIH DES PATIENTS



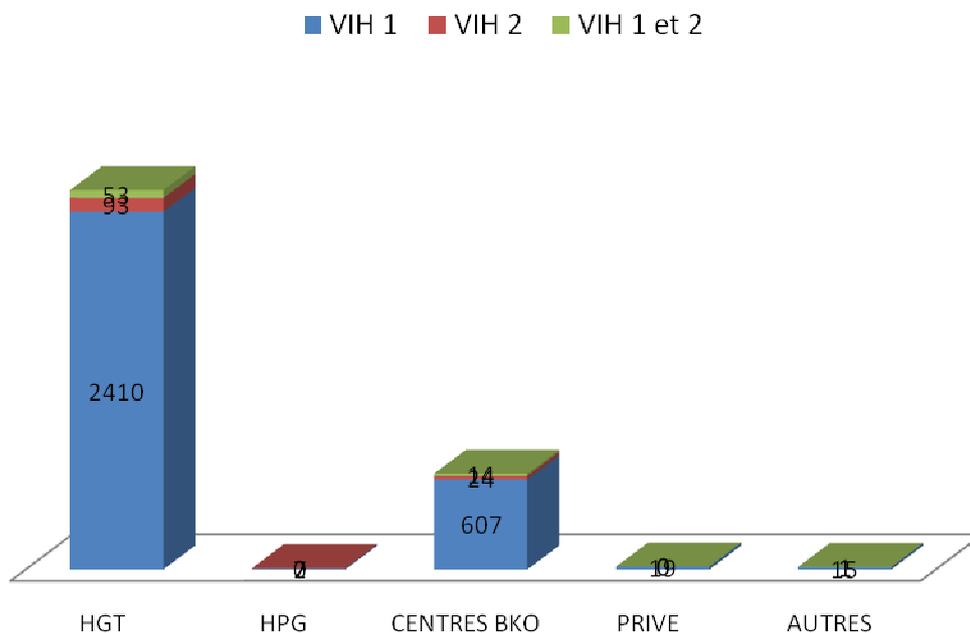
**Figure 23 : Répartition selon le sérotype et l'âge des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

On observe une prédominance globale du VIH-1 dans toutes les tranches d'âges. Le VIH-2 a été fréquent chez les 30-39 ans et la co- infection VIH-1+VIH-2 dans cette même tranche d'âge.



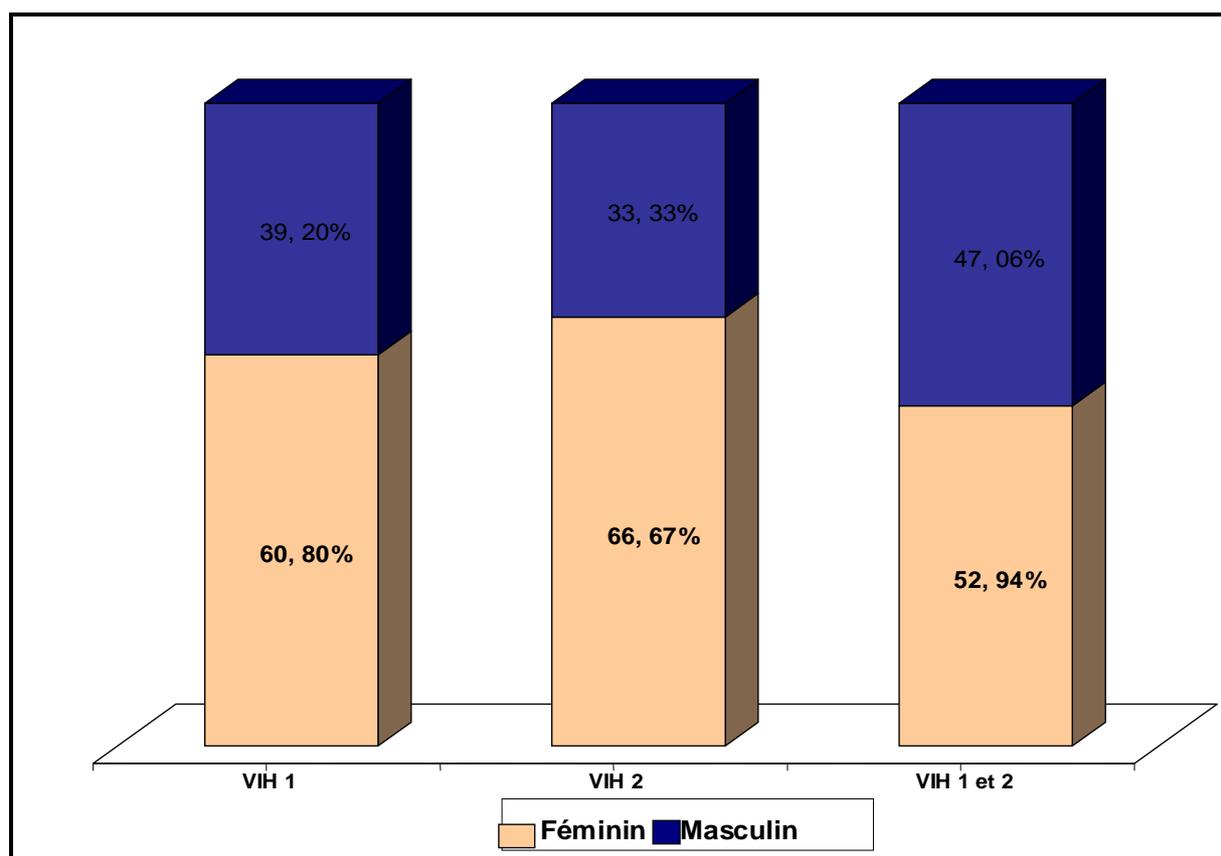
**Figure 24 : Répartition selon le sérotype et la profession des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

Dans notre échantillon, le VIH-1 a touché majoritairement les ménagères (n=1267 cas), les enfants (n=680 cas). Par rapport au VIH-2, le groupe des ménagères a été le plus touché (n=63 cas). La co- infection VIH-1+VIH-2 a été fréquente chez les ménagères (n=29 cas).



**Figure 25 : Répartition selon les sérotypes et le service référant des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

Le VIH-1 était largement prédominant chez les patients référés par les prestataires de l'Hôpital Gabriel Touré



**Figure 26 : Répartition selon le sérotype et le sexe des patients ayant effectué le test de sérologie VIH au laboratoire.**

Quel que soit le type de VIH, le sexe féminin est le plus touché avec respectivement 60,8% (n=1860 cas) pour le type 1 ; 66,7% (n=80 cas) pour le type 2, 52,94% (n=36 cas) pour la co- infection VIH-1+VIH-2

# **COMMENTAIRES ET DISCUSSION**

## 5. COMMENTAIRES ET DISCUSSION

La présente étude qui a porté sur le diagnostic biologique de l'infection à VIH chez les patients testés au laboratoire du CHU Gabriel Touré a concerné **9070** patients reçus de **janvier 2006 à décembre 2007**. L'objectif de cette étude descriptive a été atteint, car la séroprévalence et sa caractérisation par type de VIH, le profil socio démographique des patients infectés ont été déterminés et les problèmes affectant les activités de dépistage du VIH ont été identifiés au cours de la période indiquée, ceci à travers le respect rigoureux de la méthodologie adoptée.

Cette étude sur le diagnostic biologique de l'infection à VIH a été faite sur la base d'un traitement manuel, de saisies sur word, de données enregistrées dans le logiciel Excel et les variables comme l'âge, le sexe et la profession ont été croisés avec le statut sérologique des patients dépistés dans Epi info 2000 pour pouvoir atteindre nos objectifs.

Les résultats de cette étude qui a porté sur **9070** patients reçus durant la période indiquée permettent d'avoir une image relativement claire du dépistage à l'hôpital. Notre étude ne saura être extrapolée à la population générale de Bamako pour un certain nombre de raisons qui sont :

- Taille de l'échantillon n'est pas représentative de l'ensemble du District de Bamako ;
- Le laboratoire du CHU Gabriel Touré n'est pas le seul centre de dépistage du District de Bamako ;

- Le Laboratoire reçoit des malades hospitalisés, des malades venant des autres structures de santé de la ville et des volontaires.

## **Les variables**

L'étude sur le diagnostic biologique de l'infections à VIH est une action continue basée non seulement sur le dépistage volontaire mais aussi sur le dépistage dans le cadre du bilan de santé lors des consultations médicales [19, 8]. Ceci est d'autant plus important que la qualité de vie et le nombre d'années de vie gagnées pour la personne contaminée est meilleur. Sur le plan de la santé publique, la connaissance du statut sérologique a un impact positif sur les comportements à risques et réduit les frais médicaux grâce à une prise en charge plus précoce [27, 7]. Cette étude permet d'avoir une description plus précise et détaillée de la situation du VIH dans les formations sanitaires.

Sur un échantillon total de **9070** personnes dépistées, il a été enregistré **3247** cas de positivité aux tests VIH, soit une séroprévalence **35,80** %.

### **1. Caractéristiques socio- démographiques des patients**

#### **1.1. Résultat VIH et Age**

Dans notre étude, les moins de 20 ans ont été les plus représentées avec **31,1** % (n = 2823 cas), mais c'est la tranche d'âge **30-39** ans qui était la plus touchée par l'infection à VIH avec **29,3** % (n = 2053 cas). Au Gabon le PNLIS a déclaré à L'ONU SIDA que les tranches d'âge les plus atteintes étaient les **24-29** ans chez les femmes et les **30-34** chez les hommes. [15] Ce même constat a été fait en 2006, selon une étude sur le dispositif de dépistage dans les hôpitaux en France où les personnes dépistées

positifs appartenait principalement à la classe d'âge **30-39** ans (40 %), avec une forte proportion chez les 20-29 ans (35 %) [17]. Sanogo rapportait dans son enquête sero-épidémiologique sur l'infection par les VIH au CESAC que la tranche d'âge la plus touchée était celle de **15-35** ans. [23]

La séroprévalence du VIH élevée de plus en plus chez les sujets jeunes serait due principalement à une précocité des rapports sexuels non protégés.

## **1.2. Résultat et Sexe**

Dans notre étude, plus de la moitié **55,60** % (n = 5052 cas) étaient de sexe féminin contre **44,40** % (n =4048 cas) de sexe masculin (p =0,00) de même que le nombre de femmes séropositives **60,86%** est supérieur à celui des hommes **39,14** %, (p = 0,00). Cette prédominance féminine a été rapportée par certains auteurs dans beaucoup de pays à travers le monde : en Afrique, en Asie du Sud et du Sud-est, en Amérique latine et les caraïbes où près de 50 % des adultes porteurs sont des femmes [25]. L'EDSM III estimait déjà que les femmes étaient les plus touchées dans la population soit 2% des séropositifs contre 1,7% pour les hommes [20]

Cependant d'autres auteurs ont trouvé une prédominance de séropositivité masculine. L'observation de cette évolution de 2001 à 2004 par ces mêmes auteurs montre une diminution du nombre de masculin avec une stabilité chez les femmes [17]. Toutes ces études corroborent avec la tendance globale mondiale de « féminisation » de l'infection par le VIH. Cette incidence élevée du SIDA sur les femmes peut s'expliquer par la sexualité précoce,

la fréquence élevée des IST susceptibles de favoriser la transmission du SIDA, la situation sociale des femmes.

### **1.3. Résultat et Profession**

Les ménagères et les enfants avec respectivement **41,9%** et **27,9%** étaient les plus représentés. Ces observations sont proches de celles de SARIA, qui a trouvé **32,9%** pour les ménagères à l'Hôpital du Point G. [24] Dans la cohorte de l'ISAARV au Sénégal, **44%** des patients étaient sans activité rémunérée (les femmes au foyer notamment) [5] donc conforme à nos résultats. Ce taux élevé s'expliquerait par le fait que ces femmes, sans aucune activité professionnelle, deviennent vulnérables et adoptent des comportements à risque de l'infection par le VIH.

Les enfants ont représenté **27,9 %** de l'effectif total des positifs. Ils sont pour la plus part nés de mères séropositives au VIH, ce qui permet de penser à une transmission de la mère à l'enfant.

## **CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS**

## **6. CONCLUSION**

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

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

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

✓ Le sexe ratio était en faveur des femmes

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

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

## **7. RECOMMANDATIONS**

**Au terme de cette étude nous pouvons formuler les recommandations suivantes :**

### **❖ Au ministère de la santé**

- La disponibilité permanente des réactifs
- Améliorer les moyens de protection pour les techniciens qui sont souvent inadéquats
- Améliorer le plateau technique des laboratoires publics et du CHU Gabriel Touré pour leur permettre de faire régulièrement le comptage des CD4 et la quantification de la charge virale,
- La faisabilité des examens biologiques de suivi,
- Assurer la formation continue du personnel socio- sanitaire dans la prise en charge des IST,

### **❖ Au Directeur général du CHU Gabriel Touré**

- Mettre en place au sein du laboratoire les réactifs et le plateau technique nécessaire à la réalisation des tests de confirmation comme le Western Blot, les tests des hépatites virales B et C,

### **❖ A la population**

- soutenir les personnes vivant avec le VIH
- Eviter les rapports sexuels à risque ou utiliser les préservatifs
- Faire le dépistage volontaire et pré-nuptial,
- croire en l'existence du SIDA.

# ***LES REFERENCES***

## **8. REFERENCES**

**1- ASSOGRA (C L).** Inventaire et évaluation des performances des tests rapides de dépistage du VIH utilisés au Bénin. Thèse Pharmacie : Bamako, 2000, 05, 77P.

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

**3- BARTLETT (J), MOORE (A).** L'amélioration des traitements contre le VIH. Pour la science 1998; (251): 30-39.

**4- CONNORE, SPERLINGR, GELBER,** et al. « Reduction of maternal-infant Transmission of Human Immunodeficiency Virus type 1 with Zidovudine Treatment ». N-Engl J Med 1994; 331; 1175-80.

**5- ISAARV :** Initiative Sénégalaise d'Accès aux médicaments Anti-Rétroviraux. Analyses économiques, sociales, comportementales et médicales ANRS, collection science et SIDA, Paris, 2002 ; p31-39.

**6- GAUTIER- CHARPENTIER (L), VAN DE PERRE (P), SIMON (F), BRUN- VEZINET (F).** Stratégies du Diagnostic des infections VIH ; 1997 1998 p4-13.

**7- L'Invs** travaille actuellement à une étude pour la France en relations avec les équipes ayant travaillé sur les Etats-Unis.

**8- La revue de MED'AF**, édition trimestriel, n°1, juillet 2002.

**9- Laboratoire ABBOTT** Division Diagnostic 12, rue de la Couture SILIC 203 F-94518 RUNGIS Cedex.

**10- Langdorpsesteenweg 160. 3201 Langdorp-Belgium.**

**11- Ministère de la Santé du MALI**, Direction Nationale de la Santé. Programme National de Lutte contre le SIDA, Plan Stratégique National de Lutte contre le VIH/SIDA 2001-2005, page 8-9, Janvier 2001.

**12- MAIGA (T F)**. Dépistage du VIH à partir des confettis de Sang Total sur papier filtre. Thèse Pharmacie. Bamako (Mali).

**13- ONUSIDA/OMS**

**Rapport sur l'épidémie mondiale du SIDA.** 4<sup>ème</sup> rapport mondial, 2004. 7-214.

**14- OMS. Le SIDA.** Image de l'épidémie. Genève (Suisse) 1995 ; 12P.

**15- OMS/ONU/SIDA**

Epidémiologie du SIDA au Gabon. Genève, juin 2000.

**16- ONUSIDA Le point sur l'épidémie du SIDA.**

novembre 2006 2003. In [www.Unaids.org](http://www.Unaids.org). 24 novembre 2006.

**17- ORS Ile de France**, Les connaissances, attitudes, croyances et comportements face au VIH/sida aux Antilles et en Guyane en 2004, avril 2006, p. 181.

**18- ORGENICS France S.A.** 19, rue Lambrechts 92400 Courbevoie, France. 2006.

**19- PICHARD (E), GUINDO (A), GROSSETETE (G), FOFANA (Y), MAIGA (I), KOUMARE (B)**, et coll. L'infection par le VIH au Mali: Médecine Tropicale Octobre. Décembre 1998 ; Volume 48 ; Pages 345-349.

**20- POINT SUR LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DU VIH AU MALI**

Résultat du test VIH/SIDA de l'EDSM III. Déc 2001 CPS

**21- POINT SUR LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE DU VIH AU MALI**

Résultat du test VIH/SIDA de l'EDSM IV. 2005-2006. CPS

**22- Source: [www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/SIDA/1gen.h](http://www.snv.jussieu.fr/vie/dossiers/SIDA/1gen.h)**

**23- SANOGO (M)** : Enquête sero-épidémiologique sur l'infection par les VIH au CESAC de 2001 à 2003. Thèse de Pharmacie : Bamako, N°65 ; 68p.

**24- SARIA (B).** Etude Epidémiologique Clinique de L'affection à VIH /SIDA à l'Hôpital du Point G De 2000 à 2004. Thèse Médecine: Bamako, 2006 N°134; 52P.

**25- WALENSKY (RP), WEINSTEIN (MC), KIMMEL (AD), et al,**  
« Routine human immunodeficiency virus testing: an economic evaluation of current guidelines », Am J Med 2005; vol.118, p. 292-300.

## **FICHE SIGNALETIQUE**

**Nom:** TOURE  
**Prénom:** NIAME  
**Titre de la thèse:** Diagnostic Biologique de l'infection à VIH  
Par combinaison de tests rapides au  
Laboratoire du CHU Gabriel Touré

**Année :** 2007-2008

**Ville de soutenance :** Bamako

**Lieu de dépôt :** Bibliothèque de la Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odonto- stomatologie.

**Secteur d'intérêt :** **Virologie, Bactériologie.**

### **RESUME**

Notre étude a été effectuée au laboratoire du CHU Gabriel Touré de Bamako, sur un total de 9070 échantillons.

Il s'agit d'une étude rétrospective pendant la première année en 2006 et prospective pendant la deuxième année en 2007, ayant porté sur le diagnostic biologique de l'infection à VIH par combinaison de tests rapides. Au terme de cette étude nous avons trouvé **3247** cas de positivité aux tests VIH sur une population **9070** patients, soit une séroprévalence de **35,80%** parmi ceux-ci, **60,87%** de femmes et **39,13%** d'hommes.

La tranche d'âge de **30-39** a été la plus touchée et **41,9 %** étaient des ménagères.

Le type VIH-1 a prédominé avec **94,20%** de l'échantillon (n = 3959 cas) suivi du VIH-2 avec **3,70 %** (n = 120 cas) et la co-infection VIH-1+VIH-2 qui a représenté **2,10 %** (n = 68 cas).

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

**Mots clés :** **VIH, diagnostic biologique, tests rapides.**

## FACTS

Name: TOURE

First name: NIAME

Title of thesis: Biological Diagnosis of HIV infection

By combining the rapid tests

Laboratory CHU Gabriel Toure

Year: 2007-2008

City of defence: Bamako

Place of deposit: Library of the Medical Faculty of Pharmacy and Odontostomatology.

Area of interest: Virology, Bacteriology.

## SUMMARY

Our study was conducted in the laboratory of CHU Gabriel Toure in Bamako, on a total of 9070 samples.

It is a retrospective study during the first year in 2006 and outlook for the second year in 2007, which focused on biological diagnosis of HIV infection by combination of rapid tests.

At the conclusion of this study we found **3247** cases of positive HIV tests on a patient population **9070**, representing a **35.80%** seroprevalence among them, **60.87%** and 39 women, **39.13%** of men.

The tench age 30-39 was the hardest hit and 41, 9% were housewives.

The type HIV-1 has prevailed with **94.20%** of the sample (n = 3959 cases) monitoring of HIV-2 with **3.70%** (n = 120 cases) and HIV co-infection HIV-1 +HIV- 2, which represented **2.10%** (n = 68 cases).

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

**Keywords: HIV diagnosis, rapid tests.**

